



T.C.

PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**DENOVO SENTEZLENEN SUDA ÇÖZÜNEBİLİR  
FTALOSİYANİN BİLEŞİKLERİNİN PANKREAS  
TÜMÖR MODELİNDE ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**DR. SERKAN GİRAY**

DANIŞMAN

DOÇ. DR. SEVDA YILMAZ

**DENİZLİ-2024**

T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**DENOVO SENTEZLENEN SUDA ÇÖZÜNEBİLİR  
FTALOSİYANİN BİLEŞİKLERİNİN PANKREAS  
TÜMÖR MODELİNDE ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ  
DR. SERKAN GİRAY**

**DANIŞMAN  
DOÇ. DR. SEVDA YILMAZ**

Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon  
Birimi'nin 2024TIPF012 nolu projesi olarak desteklenmiştir

**DENİZLİ-2024**

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmamdaki katkılarından dolayı Prof. Dr. Burhan Kabay, Doç. Dr. Sevda Yılmaz, Prof. Dr. Nilgün Kabay, Doç. Dr. Selda Şimşek, Dr. Öğr. Üyesi Ayşen Buket Er Urgancı'ya teşekkür ederim

İhtisasım boyunca tecrübe ve bilgilerinden faydalanma fırsatı bulduğum başta anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Uğur Sungurtekin'e, Prof. Dr. Akın Özden'e, Prof. Dr. Onur Birsene, Doç. Dr. Utku Özgen'e, Doç. Dr. Hamza Çınar'a, daha önce kliniğimizde görev yapmış olan Prof. Dr. Ergün Erdem'e, Prof. Dr. Murat Özban'a, Doç. Dr. Muhammed Raşid Aykota'ya eğitimime olan katkılarından dolayı teşekkür ederim.

5 yıl boyunca gece gündüz birlikte çalıştığımız kliniğimizdeki araştırma görevlisi arkadaşlarıma teşekkürü borç bilirim. Aynı zamanda bu süreçte birlikte çalıştığımız Genel Cerrahi servis ve ameliyathane hemşire ve personellerine teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde en büyük pay sahipleri annem Gülten Giray, babam Yusuf Giray ve kardeşim Pınar Şen'e minnetle teşekkür ederim.

Her anımda yanımda olan ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili eşim Sümeyye Karagöz Giray ile en büyük güç ve ilham kaynağım biricik oğlum Ahmet Giray'a minnet ve teşekkürlerimi sunarım.



# İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR .....	iii
İÇİNDEKİLER .....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	ix
TABLOLAR DİZİNİ .....	x
ÖZET .....	xi
SUMMARY .....	xiii
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. PANKREAS EMBRİYOLOJİSİ .....	3
2.2. PANKREAS ANATOMİSİ .....	3
2.2.1. Pankreatik Kanal Anatomisi .....	3
2.2.2. Vasküler ve Lenfatik Anatomi .....	4
2.2.3. Pankreas Nöroanatomisi .....	4
2.3. PANKREAS FİZYOLOJİSİ VE HİSTOLOJİSİ .....	5
2.3.1. Ekzokrin Pankreas .....	5
2.3.2. Endokrin Pankreas .....	5
2.4. PANKREAS KANSERİ .....	6
2.4.1. Pankreas Kanseri Epidemiyolojisi .....	7
2.4.2. Pankreas Kanseri Risk Faktörleri .....	8
2.4.2. Pankreas Kanseri Türleri .....	12
2.4.3. Pankreas Kanseri Patofizyolojisi .....	12
2.4.4. Pankreas Kanserinde Genetik Değişiklikler .....	16
2.4.5. Pankreas Kanserinde Sinyal Yolakları .....	19
2.4.6. Pankreas Kanseri Tanısı .....	20
2.4.6. Pankreas Kanseri Tedavisi .....	24
2.5. TELOMER .....	27
2.5.1. Telomerazı Hedef Alan Antikanser Stratejiler .....	28
2.6. FTALOSİYANİNLER .....	34
2.6.1. Morfolin Bileşikleri .....	34
2.6.2. Klik Kimyası .....	37
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	45
3.1 HÜCRE KÜLTÜRÜ .....	45

3.2 CCK8 TESTİ .....	45
3.3 RNA İZOLASYONU.....	45
3.4 cDNA SENTEZİ.....	46
3.5 EKSPRESYON ANALİZİ .....	47
3.6. TELOMER UZUNLUK TAYİNİ .....	48
4. BULGULAR .....	49
4.1 HÜCRE CANLILIĞI ANALİZİ SONUÇLARI.....	49
4.2 HTERT EKSPRESYON SONUÇLARI .....	49
4.3 TELOMER UZUNLUK DEĞİŞİMİ .....	50
5. TARTIŞMA.....	51
6. SONUÇ .....	70
7. KAYNAKLAR .....	72

## SİMGELER VE KISALTMALAR

SMA	: Superior Mezenterik Arter
SMV	: Superior Mezenterik Ven
SPINK1	: Serin Proteaz İnhibitörü Kazal tip 1
VIP	: Vazoaktif İntestinal Peptid
PP	: Pankreatik Polipeptit
GIP	: Gastrik İnhibitör Polipeptit
GLP-1	: Glukagon Benzeri Peptit
CCK	: Kolesistokinin
BMI	: Beden kitle indeksi
NET	: Nöroendokrin tümörleri
PDAK	: Pankreas Duktal Adenokarsinom
PanIN	: Pankreatik İnterepitelyal Neoplazi
IPMN	: İnterduktal Papiller Müsinöz Neoplazi
MCN	: Müsinöz Kistik Neoplazi
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
GTP	: Guanozin Trifosfat
TGF $\beta$	: Transforme edici büyüme faktörü beta
HGF	: Hepatosit büyüme faktörü
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
MRI	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
MRCP	: Manyetik Rezonans kolanjiyopankreatografi
PET/CT	: Pozitron Emisyon Tomografisi
EUS	: Endoskopik ultrasonografi

US	: Ultrasonografi
ERCP	: Endoskopik retrograd kolanjiyopankreatografi
MDCT	: Çok Kesitli Bilgisayarlı Tomografi
IR	: İteratif rekonstrüksiyon
DWI	: Difüzyon Ağırlıklı Görüntüleme
AJCC	: Amerikan Birleşik Kanser Komitesi
TRF1/2	: Telomer Tekrar Faktörü 1/2
TERT	: Telomeraz ters transkriptaz
TERC	: Telomeraz RNA
MHC	: Majör Histokompatibilite Kompleks
PFS	: Progresyonsuz sağkalım
OS	: Genel sağkalım
TPM	: TERT promotör mutasyonları
TCAB1	: Telomeraz Cajal Body Protein 1
PM	: Pristimerin
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
JNK	: c-Jun N-terminal kinaz
DDR	: DNA hasar yanıtı
SC	: Sanguinarin Klorür
POT1	: Protection of Telomeres 1



## ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 2.1** : GLOBOCAN 2022 verilerine göre, bölgeye özgü yaş standardize edilmiş pankreas kanseri insidans oranları
- Şekil 2.2** : İnvaziv pankreatik karsinomu için üç farklı morfolojik yol modeli
- Şekil 2.3** : PanIN histolojik tipleri ve mutasyonların özeti
- Şekil 2.4** : Telomerazı hedef alan terapötik stratejiler
- Şekil 2.5** : Morfolin'in yapısı
- Şekil 2.6** : Morfolin halkası içeren bileşiklerin kimyasal
- Şekil 2.7** : Triazol izomerlerinin yapıları
- Şekil 2.8** : 1,2,4- triazol sentezi için farklı yöntemler
- Şekil 2.9** : Anti kanser olarak kullanılan triazolü ajanlar
- Şekil 2.10** : Q-p-ZnPc-I bileşiğinin sentezi
- Şekil 2.11** : Q-np-ZnPc-I bileşiğinin sentezi
- Şekil 2.12** : Q-p-ZnPc-II bileşiğinin sentezi
- Şekil 2.13** : Q-p-ZnPc-III bileşiğinin sentezi
- Şekil 2.14** : Q-np-ZnPc-III bileşiğinin sentezi
- Şekil 4.1** : Panc-1 hücre hattının AC2 farklı konsantrasyonları ile muamelesi sonrası yüzde canlı hücre değerleri

## TABLolar DİZİNİ

- Tablo 2.1** : Pankreas kanserinde en sık mutasyona uğrayan genler
- Tablo 2.2** : TNM Evrelemesi
- Tablo 2.3** : Prognostik Evreleme
- Tablo 3.1** : 20 µl Ters Transkriptaz Reaksiyonu için gerekli miktarlar
- Tablo 3.2** : cDNA Reaksiyonu Basamakları
- Tablo 3.3** : Ekspresyon Reaksiyon Karışımı
- Tablo 3.4** : Ekspresyon Reaksiyon Basamakları
- Tablo 4.1** : AC-1, AC-2, AC-3, MC-1 ve MC-2 maddeleri muamelesi sonrası Panc-1 hücre hatlarında hTERT kat değişimleri
- Tablo 4.2** : AC-1, AC-2, AC-3, MC-1 ve MC-2 maddeleri muamelesi sonrası Panc-1 hücre hatlarında telomer uzunlukları ve kontrole göre kat değişimleri

## ÖZET

### **Denovo Sentezlenen Suda Çözünebilir Ftalosiyanın Bileşiklerinin Pankreas Tümör Modelinde Etkilerinin Araştırılması**

Dr. Serkan GİRAY

Kanser tüm dünyada önemli bir sorun olup ölüm nedenleri arasında en üst sıralarda bulunmaktadır. Dünya genelinde yılda yaklaşık yirmi milyon kanser vakası ve on milyon kanser ölümü olduğu tahmin edilmektedir. Kanserler arasında morbidite ve mortalitesi en yüksek olanlardan biri pankreas kanseri olup beş yıllık survi %6 civarındadır. Tanı koyulduğu anda hastaların çoğunda metastatik ya da lokal ileri hastalık vardır. Bu nedenle, tek küratif tedavi seçeneği olan cerrahi birçok hasta için uygun değildir. Bununla birlikte cerrahi şansı olan hastalarda, cerrahi sonrasında lokal ya da uzak nüksler nedeniyle sağkalım oranları oldukça düşüktür.

Pankreas kanseri için birçok kemoterapi ajanı kullanılmaktadır, ancak bu tedavilerle istenilen sonuçlar alınamamaktadır. Bu nedenlerden dolayı yeni tedavi alternatifleri üzerine çalışmalar yoğun şekilde devam etmektedir. Birçok malignite tedavisinde denenen ve başarılı sonuçlar alınan immünoterapi yöntemleri pankreas kanserlerinde de denenmektedir. Kromozom uçlarında bulunan ve genomik stabilitede rol oynayan bir enzim olan Telomeraz aktivitesi kanser hücrelerinin ömrünün devamı için gereklidir ve pankreas kanserlerinin çoğunda telomerazın aşırı ekspresyonu mevcuttur. Telomeraz enziminin inhibisyonu, kanser hücrelerinin yok edilmesi için önemli bir tedavi hedefi olarak öne çıkmaktadır.

Aromatik yapısı ve  $\pi$ -elektronlarınca zenginliği sayesinde ftalosiyanınlar güçlü termal, kimyasal ve foto kararlılığa sahip yoğun renkli sağlam moleküllerdir. Telomerik G-Kuadrupleks DNA'ya bağlanma özellikleri sayesinde Ftalosiyanınlar kanser tedavisinde umut vadeden bir araştırma alanıdır.

Bu çalışmada suda çözünebilir özellikte olan ve G-Kuadrupleks DNA'ya bağlanma enerjileri yüksek olarak 5 farklı ftalosiyanın türevi [p-kuaternize ZnPc (AC-1), np-kuaternize ZnPc (AC-2), Q-p-ZnPc-II (AC-3), Q-p-ZnPc-III (MC-1), Q-np-ZnPc-III (MC-2)] molekülünün pankreas kanseri hücre hatlarında (Mia-PaCa-2 ve PANC-1) telomeraz inhibitörü aktivitelerinin belirlenmesi için; Telomeraz reverse

transkriptazın (hTERT) ekspresyon tayini, telomer uzunluğu ve telomeraz protein miktarı araştırılması amaçlanmıştır.

PANC-1 hücre hatları ile yapılan çalışmalarda PANC-1 hücre hattında hTERT ekspresyonu AC-1 için 1,09 kat, AC-2 için 2,75 kat, AC-3 için 2,41 kat azalırken MC-1 ve MC-2 için hTERT ekspresyonunda herhangi bir azalma tespit etmedik. Telomer uzunluk analizinde AC-1 için 0,4730 kat, AC-2 için 0,076 kat, AC-3 için 0,0169 kat, MC-1 için 0,289 kat, MC-2 için 0,560 kat azalma tespit ettik. AC-2 ve AC-3 molekülleri ile hem hTERT ekspresyon azalmasını hem de telomer uzunluğunda azalma göstermesi nedeniyle, yapılacak in vivo araştırmalar sonucunda pankreas kanseri tedavisi için aday ajanlar olabileceğini göstermiştir.

**Anahtar kelimeler:** Pankreas kanseri, Antrakinin, Ftalosiyenin, Telomer, Telomeraz inhibitörü

## SUMMARY

### **Investigation of the Effects of Denovo Synthesized Water-Soluble Phthalocyanine Compounds in a Pancreatic Tumor Model**

Dr. Serkan GİRAY

Cancer is a major global issue and ranks among the leading causes of death worldwide. It is estimated that there are approximately twenty million cancer cases and ten million cancer-related deaths each year globally. Among cancers, pancreatic cancer has one of the highest morbidity and mortality rates, with a five-year survival rate of around 6%. At the time of diagnosis, most patients present with either metastatic or locally advanced disease. Therefore, the only curative treatment option, surgery, is not suitable for many patients. Additionally, even in patients who are eligible for surgery, survival rates remain low due to local or distant recurrences after surgery.

Many chemotherapy agents are used for pancreatic cancer, but the desired results have not been achieved with these treatments. For these reasons, research into new treatment alternatives is intensively ongoing. Immunotherapy, which has been tested with successful results in the treatment of many malignancies, is also being explored for pancreatic cancers. Telomerase, an enzyme located at chromosome ends and playing a role in genomic stability, is crucial for the survival of cancer cells, and overexpression of telomerase is present in most pancreatic cancers. The inhibition of the telomerase enzyme stands out as an important therapeutic target for the elimination of cancer cells.

Due to their aromatic structure and  $\pi$ -electron richness, phthalocyanines are highly stable, intensely colored molecules with strong thermal, chemical, and photostability. Their ability to bind to telomeric G-Quadruplex DNA makes phthalocyanines a promising research area for cancer treatment.

In this study, it was aimed to determine the telomerase inhibitory activities of five different water-soluble phthalocyanine derivatives [p-quaternized ZnPc (AC-1), np-quaternized ZnPc (AC-2), Q-p-ZnPc-II (AC-3), Q-p-ZnPc-III (MC-1), Q-np-ZnPc-III (MC-2)] in pancreatic cancer cell lines (Mia-PaCa-2 and PANC-1) by investigating

the expression of Telomerase reverse transcriptase (hTERT), telomere length, and telomerase protein levels.

In studies conducted with PANC-1 cell lines, we observed that hTERT expression in the PANC-1 cell line decreased by 1.09-fold for AC-1, 2.75-fold for AC-2, and 2.41-fold for AC-3, while no decrease in hTERT expression was detected for MC-1 and MC-2. In the telomere length analysis, reductions of 0.4730-fold for AC-1, 0.076-fold for AC-2, 0.0169-fold for AC-3, 0.289-fold for MC-1, and 0.560-fold for MC-2 were identified. The AC-2 and AC-3 molecules, showing both a reduction in hTERT expression and a decrease in telomere length, suggest that they could be potential candidate agents for the treatment of pancreatic cancer, pending further in vivo research.

**Keywords:** Pancreatic cancer, Anthraquinone, Phthalocyanine, Telomer, Telomerase inhibitor

# 1. GİRİŞ

Kanser, tüm dünyada önemli bir sorun teşkil etmekte ve ölüm nedenleri arasında en üst sıralarda yer almaktadır. 2020 yılında dünya genelinde 19.292.789 kanser vakası ve 9.958.133 kanser ölümü olduğu tahmin edilmektedir. Koronavirüs hastalığı 2019 (COVID-19) salgını, sağlık kurumlarının kapanması ve COVID 19'a maruz kalma korkusu nedeniyle kanserin teşhis ve tedavisinde gecikmeler meydana gelmiştir (1).

Pankreas kanseri mortalite ve morbiditesi en yüksek kanserlerden biri olup genel olarak beş yıllık hayatta kalma oranı yaklaşık %6'dır (%2 ila %9 arasında değişmektedir) (2). Dünya Sağlık Örgütü Globocan Veri tabanına göre, 2020 yılında dünya çapında 500 bine yakın yeni pankreas kanseri vakası ve 470 bine yakın pankreas kanserine bağlı ölüm yaşandı. Tahmini yeni vaka sayısının 2020 ile 2040 arasında %70 artacağı tahmin edilmektedir (3). Etiyolojinin daha iyi anlaşılması ve risk faktörlerinin belirlenmesi bu hastalığın önlenmesi için önemlidir. Bugüne kadar pankreas kanserinin nedenleri hala yeterince bilinmemekle birlikte sigara içme, obezite, genetik, diyabet, diyet, hareketsizlik gibi bazı risk faktörleri tanımlanmıştır (2).

Pankreas duktal adenokarsinomu (PDAK), malign pankreas tümörünün en sık görülen histolojik tipidir (>%90). Ancak PDAK için toplum temelli taramaya ilişkin bir kılavuz bulunmamaktadır. Pankreas kanserinin prognozu, erken aşamalarında bile hala çoğunlukla tatmin edici değildir (4). Başvuru sırasında hastaların %50'sinde metastatik hastalık, %10 ile %15'inde cerrahiye uygun lokal hastalık vardır. Geri kalanında (%30-35) tümör-vasküler tutulumun boyutu nedeniyle lokal olarak ilerlemiş, çoğunlukla rezeke edilemeyen hastalık vardır. Bununla birlikte, küratif cerrahiden sonra bile, lokal ve uzak relapsların yüksek sıklığı nedeniyle sağkalım oranları çok düşüktür (5,6).

Lokal ileri evre hastalıklarda radyoterapi uygulanmakla birlikte, bu tedavinin etkinliği oldukça sınırlıdır. Pankreas kanserinde çok sayıda kemoterapi ajanı kullanılsa da, en etkili olanlarda bile istenilen sonuçlar elde edilememektedir. Bu nedenle, alternatif tedavi yöntemlerine yönelik araştırmalar yoğun bir şekilde devam etmektedir. Kromozomların uçlarında yer alan ve genomun stabilitesini sağlayan telomeraz enzimi, günümüzde önemli bir tedavi hedefi olarak ön plana çıkmaktadır. Kanser hücrelerinin yaşamını sürdürebilmesi için telomeraz aktivitesi gereklidir ve

pankreas kanserlerinin büyük çoğunluğunda telomeraz aşırı derecede eksprese edilmektedir ve telomerazın bloke edilmesi, kanser hücrelerinin yaşam sürelerini sınırlayabilir. Bu bulgular, telomeraz inhibisyonunun pankreas kanseri hücrelerinin ömrünü sınırlayabileceğini göstermektedir (7,8).

Çoğu kanser türü için immünoterapideki hızlı ilerlemelere rağmen, PDAK'a karşı immünoterapide ilerleme son derece zor olmuştur. Klinik çalışmalarda birçok immünoterapi araştırılmış olmasına rağmen, çok azı önemli terapötik etkinlik göstermiştir. Ayrıca birçoğunda yüksek oranlarda ciddi yan etkiler ve doz sınırlayıcı toksisiteler görülmüştür (9,10).

Aromatik yapıları ve  $\pi$ -elektron zenginlikleri ile ftalosiyaninler, yüksek termal, kimyasal ve fotostabiliteye sahip, yoğun renklere sahip dayanıklı bileşiklerdir. Telomerik G-kuadrupleks DNA'ya bağlanma yetenekleri sayesinde, ftalosiyaninler kanser tedavisi alanında gelecek vaat eden bir araştırma konusu olarak öne çıkmaktadır (11).

Bu çalışmada suda çözünebilir özellikte olan ve G-Kuadrupleks DNA'ya bağlanma enerjileri yüksek olarak 5 farklı ftalosyanin türevi [p-kuaternize ZnPc (AC-1), np-kuaternize ZnPc (AC-2), Q-p-ZnPc-II (AC-3), Q-p-ZnPc-III (MC-1), Q-np-ZnPc-III (MC-2)] molekülünün hücre hatlarında (Mia-PaCa-2 ve PANC-1) telomeraz inhibitörü aktivitelerinin belirlenmesi için; Telomeraz reverse transkriptazın (hTERT) ekspresyon tayini, telomer uzunluğu ve telomeraz protein miktarı araştırılarak pankreas kanseri için olası yeni aday telomeraz enzim inhibitörlerini göstermeyi amaçladık.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. PANKREAS EMBRİYOLOJİSİ

Pankreas gebeliğin 4.haftasında gelişmeye başlar. İlk olarak primitif duodenal endodermden dorsal ve ventral tomurcuklanma oluşur. Dorsal tomurcuk olgun pankreas başının üst kısmı, boyun, gövde ve kuyruğa dönüşür. Ventral tomurcuk ise başın alt kısmı ve uncinat prosese dönüşür. Yaklaşık gebeliğin 8.haftasında dorsal ve ventral tomurcuk kaynaşır.(12) Ventral tomurcuk kanalı Wirsung kanalını, dorsal tomurcuk kanalı ise Santorini kanalını oluşturur. İkisi ampulla water üzerinde kaynaşarak duodenuma açılırlar.(13)

### 2.2. PANKREAS ANATOMİSİ

Pankreas, 1.lomber vertebranın hemen önünde yerleşmiş baş, boyun, gövde ve kuyruk olmak üzere 4 bölümden oluşan retroperitoneal bir organdır. Baş kısmı orta hattın sağında, vena cavanın hemen önünde ve duodenumun C halkasının içinde yer alır. Unsinat proses pankreas başından çıkıp superior mezenterik venin (SMV) arkasına uzanır ve superior mezenterik artere (SMA) bitişik olarak sonlanır. Boyun SMV'nin hemen üzerindedir. Gövde ve kuyruk ise orta hattın karşısına uzanarak Gerota fasyasının önünden dalak hilusunda sonlanır. (12)

Pankreasın karında derin yerleşimli olması ve retroperitonda her yönden kapatılmış olması nedeniyle, pankreas patolojileri zor lokalize edilen hatta çoğu kez tanımlanamayan kliniğe sahiptirler. Pankreatitte ise retroperitoneal yerleşim nedeniyle ağrı genellikle sırta vuran karakteristiktir.(13)

#### 2.2.1. Pankreatik Kanal Anatomisi

Pankreasın ana kanalı olan Wirsung Kanalı pankreasın büyük çoğunluğunun drenajını sağlar ve safra kanalı ile birleşerek ortak kanalı oluştururlar. Yaklaşık olarak hastaların 1/3'ünde safra kanalı ve pankreatik kanal papillaya iki ayrı kanal olarak açılır, 1/3'ünde iki kanal papilla sonunda birleşir, 1/3'ünde birkaç mm uzunluğunda gerçek bir ortak kanal vardır. Santorini kanalı ise küçük bir pankreatik kanal olarak kalır ve bazen majör papillanın hemen proksimalinden küçük bir papilla ile duodenuma direk olarak açılır. Hastaların %30'unda ise ucu kör bir aksesuar kanal olarak kalır ve duodenuma açılmaz.(13)

### **2.2.2. Vasküler ve Lenfatik Anatomi**

Pankreas, çölyak trunkus ve SMA'dan oluşan kompleks bir arteryel ağ ile beslenir. Baş ve uncinat proses anterior ve posterior pankreatikoduodenal arterler ile beslenir. (12) Hepatik arterden köken alan gastroduodenal arter, duodenum inferior kenarında sağ gastroepiploik arter dalını verir ve ardından anterior superior pankreatikoduodenal arter olarak devam eder. SMA ise pankreas boynunun inferior kenarında inferior pankreatikoduodenal arter dalını verir. Superior ve inferior pankreatikoduodenal arterler, duodenum C halkasının mediali boyunca, pankreas başının anterior ve posteriorunda parankim içinde birleşerek, pankreas başına ve duodenuma çok sayıda dalcıklar verir. (12,13) Boyun, gövde ve kuyruk kanlanmasını splenik arteryel sistemden alır. (12)

Venöz dolaşım arteryel kan akımına benzerdir. Superior venler pankreas boynunun hemen üzerinde portal vene direk olarak açılırlar. Posterior inferior ark ise pankreas boynunun inferior kenarında inferior mezenterik vene açılır. Anterior inferior pankreatikoduodenal ven, sağ gastroepiploik ven ve middle kolik ven ile birleşip ortak venöz trunkus oluşturarak SMV'ye drene olur. (13) Kalan gövde ve kuyruk, splenik venöz sistem üzerinden drene olur. (12)

Pankreasın lenfatik drenajı oldukça yaygın ve geniştir. Lenfatik damarlar ve lenf nodları arasındaki zengin ilişki pankreas tümör hücrelerinin hızlı yayılmasına yol açar. Yaygın lenfatik drenaj pankreas etrafında yaygın lenf nodlarının ve rezeksiyon sonrasındaki nüksün önemli nedenidir. Lenf nodları, distal safra yolu, pankreatikoduodenal oluk, gövdenin alt kenarı, hepatik arter, splenik arter ve ven boyunca palpe edilebilir. Pankreas gövde ve kuyruk kesimindeki tümörler bu lenfatik yollar ile splenik ven ve dalak hilusundaki lenf nodlarına metastaz yapabilir. (13)

### **2.2.3. Pankreas Nöroanatomi**

Sinir sistemi, endokrin ve ekzokrin pankreasın stimülasyon ve inhibisyonunda anahtar rol oynar. (14) Parasempatik sistem endokrin ve ekzokrin fonksiyonları uyarır, sempatik sistem ise bu sekresyonları inhibe eder. Pankreas aynı zamanda somatostatin, vazoaaktif intestinal peptid (VIP), kalsitonin gen ilişkili peptid ve galanın gibi çeşitli aminler ve peptidlerce uyarılan nöronlar tarafından da innerve edilir. (13)

## 2.3. PANKREAS FİZYOLOJİSİ VE HİSTOLOJİSİ

Pankreas bezi, endokrin ve ekzokrin işlevlere sahip karmaşık bir bez olup %85'i asiner hücrelerden ve %10'u kompleks bir hücreler arası matris içine gömülü adacık hücrelerinden oluşur. Bezin geri kalan %3 ila %4'ü, epitelyal kanal sistemi ve kan damarlarından oluşur.(12)

### 2.3.1. Ekzokrin Pankreas

Pankreas günde yaklaşık 500-800 ml renksiz, kokusuz, alkali ve izosmotik bir sıvı salgılar. Pankreatik sıvı asiner hücre ve kanal hücrelerin sekresyonlarının bir karışımıdır. Asiner hücreler üç tip besinin (karbonhidrat, protein, yağ) sindirilmesinden sorumlu olan amilaz, proteaz ve lipaz salgırlar. (13) Proteolitik enzimler proenzimler olarak salgılanırlar. Tripsinojen, duodenal mukoza hücrelerinden üretilen enterokinaz enzimi ile aktif form olan tripsine dönüşür ve tripsin de diğer proteolitik enzimleri aktif hale getirir. Pankreasın içinde tripsinojenin aktive olması, asiner hücreler tarafından salgılanan inhibitörler ile baskılanır ki bu sistemde yetersizlik olması pankreatit nedenidir.(15) Pankreas sekretuar tripsin inhibitörü, serin proteaz inhibitörü Kazal tip 1 (SPINK1) geni tarafından kodlanır ve SPINK1 gen mutasyonu özellikle çocukluk çağı kronik pankreatit gelişimi ile ilişkilidir. (12)

### 2.3.2. Endokrin Pankreas

Yaklaşık bir milyon Langerhans adacığından oluşan normal bir yetişkin pankreasında adacıklarda glukagon salgılayan alfa hücreleri, insulin salgılayan beta hücreleri, somatostatin salgılayan delta hücreleri, ghrelin salgılayan epsilon hücreleri ve pankreatik polipeptit (PP) salgılayan PP hücreleri bulunur.(13,16)

İnsanlarda, endokrin hücrelerin yaklaşık olarak %40-60'ı insülin üreten beta hücrelerdir. Beta-hücre insülin salınımı arginin, lizin, lösin ve serbest yağ asitleri gibi plazma amino asitleri düzeylerinden etkilenir. Glukagon, GIP, GLP-1 ve CCK insülin salınımını uyarırken, somatostatin, amilin ve pankreastatin insülin salınımını inhibe eder. Kolinerjik lifler ve beta sempatik lifler insülin salınımını uyarırken, alfa sempatik lifler insülin sekresyonunu inhibe eder.(13,17) Somatostatin, pankreas ve diğer dokularda endokrin ve ekzokrin salgıları inhibe eden bir hormondur. Bu yönüyle kullanılan somatostatin analoglarının fistül çıkışını azalttığı ve enterik ve pankreatik

fistüllerin kapanma süresini hızlandırdığı gösterilmiştir.(13)PP'nin safra salgısını inhibe ettiği, safra kesesi kasılmasını engellediği ve ekzokrin pankreas salgısını azalttığı gösterilmiştir. Ancak PP'nin en önemli rolü, hepatik insülin reseptör gen ifadesinin düzenlenmesi aracılığıyla glukoz regülasyonudur.(13,14)

Son zamanlarda yapılan çalışmalar, epsilon hücreleri olarak adlandırılan ayrı bir islet hücre popülasyonundan salınan beşinci bir islet peptidi olan ghrelin'in varlığını göstermiştir.(18) Orojenik veya iştah uyarıcı bir peptit olan ghrelin ayrıca insülin etkilerini karaciğerde engeller ve incretin hormonları ve glukoz karşısında beta-hücre yanıtını inhibe eder.(13,18)

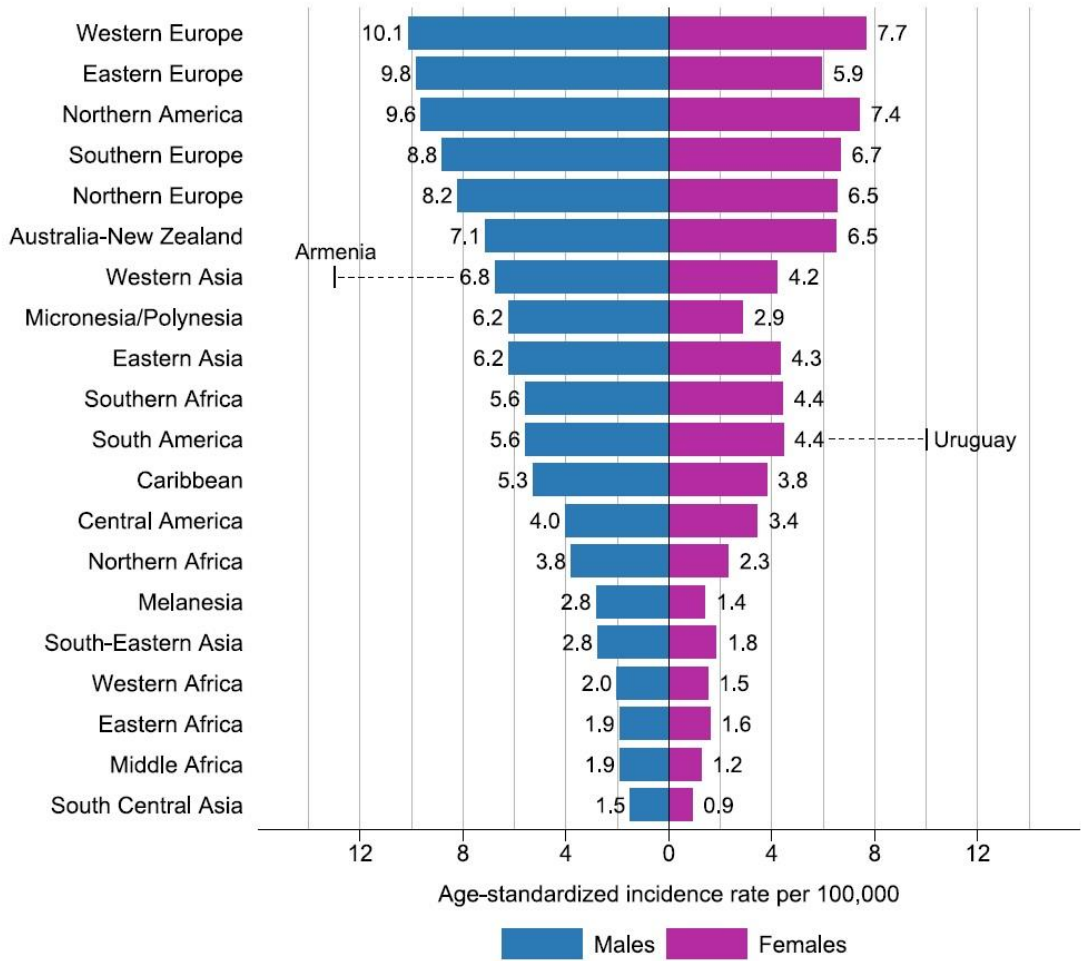
Pankreas tarafından salgılanan beş ana peptidin yanı sıra, amilin, peptid YY ve pancreastatin gibi diğer islet hücre peptidleri ile VIP, galanin ve serotonin gibi nöropeptidler de bulunmaktadır. (13,17) Pancreastatin, son zamanlarda keşfedilen pankreatik islet peptidi ürünüdür ve insülini inhibe eder, somatostatin salınımını artırır. VIP birçok dokuda bulunur ve barsak, pankreas, hipofiz, sinir sistemi ve kardiyovasküler sistem gibi birçok fonksiyonu düzenler. VIP'nin pankreasta insülin salınımını artırdığı bilinmektedir. Galanin, merkezi ve periferik sinir sisteminde bulunan bir nöropeptid olup, pankreasta da bulunur. İnsanlarda galaninin pankreatik beta hücreler üzerinde inhibe edici bir etkisi olduğu gösterilmiştir.(13,14)

## **2.4. PANKREAS KANSERİ**

Kanser, hücrelerin kontrolsüz şekilde bölünmesi ve büyümesi sonucu oluşan hastalıklardır. Normal hücrelerdeki DNA hasarı, onarım mekanizmaları tarafından düzeltilirken, kanser hücrelerinde bu mekanizmalar bozulur ve hücreler kontrolsüz bir şekilde çoğalır. Kanser tedavisinde cerrahi müdahale, radyoterapi, kemoterapi, immünoterapi ve hedefe yönelik tedaviler gibi yöntemler kullanılır. Tedavi planı, kanserin türüne, evresine ve hastanın genel sağlık durumuna bağlı olarak belirlenir. Kanser ölüm nedeni genellikle metastaz, yani kanser hücrelerinin vücudun diğer bölgelerine yayılmasıdır. Metastaz, organların normal işlevlerini yerine getirmesini engelleyebilir ve bu da hayati organların yetmezliğine yol açabilir. Erken teşhis ve uygun tedavi, kanserle mücadelede hayati öneme sahiptir.

## 2.4.1. Pankreas Kanseri Epidemiyolojisi

Pankreas kanseri insanlarda en yaygın on kanserden biridir. Dünya çapında pankreas kanseri, her yıl 459.000 yeni vakadan yaklaşık 432.250'si ölümlle sonuçlanmakta ve kanser mortalitesinde 7. sırada yer almaktadır. Amerikan Kanser Derneği'ne göre, 2019'da pankreas kanseri görülme sıklığı 53770 idi ve eşzamanlı ölüm oranı 45.750 (23.800 erkek ve 21.950 kadın) idi. Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl hem erkeklerde hem de kadınlarda kansere bağlı ölümlerin dördüncü nedenidir.(1,19)



Şekil 2.1. GLOBOCAN 2022 verilerine göre, bölgeye özgü yaş standardize edilmiş pankreas kanseri insidans oranları(3)

Pankreas kanserlerinin yaklaşık %90'ı pankreas duktal adenokarsinomlarıdır (PDAK). Birçok kanserde erken tespit ve onkolojik tedavilerle sağkalm süresi uzatılabilmişken, PDAK vakalarının büyük çoğunluğu (%80'den fazlası) ileri evre hastalıkla başvurmaktadır ve bu durum 5 yıllık sağkalm oranını yalnızca %11'e

indirmektedir. Ülkelere göre insidans oranları önemli ölçüde farklılık gösterse de, küresel eğilimler PDAK tanılarının artmakta olduğunu ve Batı ülkelerinde yakında kanserden ölümlerin ikinci önde gelen nedeni olmasının beklendiğini göstermektedir. (20)

Pankreas kanseri insidansı bölgeler ve nüfuslar arasında büyük farklılıklar göstermektedir. En yüksek oran (Çek Cumhuriyeti- 9.7) ile en düşük oran (Pakistan- 0.5) arasında yirmi kat fark vardı. Yeni vakaların yarısından fazlası (%55.5) daha gelişmiş bölgelerde kaydedildi.(2) Pankreas kanseri insidansında cinsiyetler arasında hafif bir fark ve önemli bir coğrafi dağılım farklılığı gözlemlenmiştir. Erkeklerde (100.000 kişi başına 5.5, 243.033 vaka) kadınlara göre (100.000 kişi başına 4.0, 215.885 vaka) daha yaygındır. Erkeklerde pankreas kanseri gelişme riski Orta ve Doğu Avrupa'da, özellikle Letonya ve Moldova Cumhuriyeti (15.3), Estonya (14.2) ve Macaristan'da (12.9) yüksektir. Kadınlarda pankreas kanseri insidansının en yüksek olduğu bölgeler Batı Avrupa (7.2), Kuzey Amerika (6.5) ve Kuzey Avrupa ile Avustralya/Yeni Zelanda'dır (eşit olarak 6.4). (21)

Türkiye'de pankreas kanseri insidansı erkeklerde 2002 yılında yüz binde 3,1'den; 2016 yılında 5,7 olmuştur. Kadınlarda ise 2016 yılı için yüz binde 3,6'dır. Türkiye 'de pankreas kanseri erkeklerde en sık görülen on kanserden biridir ve erkek cinsiyette tüm kanserler içindeki oranı %2,2'dir. Türkiye İstatistik Kurumu'nun (TÜİK) tarafından yayınlanan 2021 yılı ölüm sebebi istatistiklerine göre 2021 yılında pankreas kanseri sebebiyle 4920 adet ölüm vakası bildirilmiş olup bu oran tüm malign tümörler nedeniyle gerçekleşen ölümler arasında %6'dır. (22)

#### **2.4.2. Pankreas Kanseri Risk Faktörleri**

Pankreas kanserinde ortalama 5 yıllık sağkalım oranı yaklaşık %6'dır, ancak literatürde bu oran %2 ile %9 arasında değişkenlik göstermektedir(2,23). Sağkalım oranları yaş, cinsiyet, eşlik eden hastalıkların varlığı ve yaşam tarzı gibi faktörlere bağlı olarak farklılık gösterir ancak en çok etkileyen faktör, tanı anında tümörün evresidir (24). Maalesef tanı koyulduğunda hastalık genellikle ileri evrededir ve sadece %20 hastada rezektabl tümör mevcuttur. Başarılı bir rezeksiyon sonrasında ise 5 yıllık sağkalım %27 olarak bildirilmektedir (2,24).

### **2.4.2.1. Değiştirilemeyen Risk Faktörleri**

#### **Yaş**

Pankreas kanseri genellikle yaşlıların hastalığıdır. Hastaların 30 yaşından önce teşhis edilmesi son derece nadirdir ve yeni tanı alan hastaların %90'ı 55 yaşın üzerindedir, çoğunluğu ise 7. ve 8. dekattadır.(25)

#### **Cinsiyet**

Dünya genelinde pankreas kanserinin görölme sıklığı erkeklerde kadınlara göre daha yüksektir (erkeklerde yaşa göre standartlaştırılmış oran 5.5, kadınlarda ise 4.0). (25). Cinsiyetler arasındaki bu farklılığa rağmen, 15 çalışmanın sistematik bir gözden geçirmesi, üreme faktörlerinin kadınlarda pankreas kanseri ile ilişkili olmadığını göstermiştir. (26)Pankreas kanseri, erkeklerde ağır sigara içme alışkanlığı ve yüksek alkol tüketimi gibi çevresel veya mesleki risk faktörlerinin yanı sıra yaşam tarzı nedeniyle daha sık görülebilir; ancak aynı zamanda erkeklerde ve kadınlarda kanser insidansı ve mortalitesini etkileyen henüz keşfedilmemiş genetik faktörler olabileceği de mümkündür. (21)

#### **Etnik Köken**

Genel olarak, pankreas kanseri riski siyah insanlarda diğer ırklara göre önemli ölçüde daha yüksektir.(27) Irklar arasındaki pankreas kanseri insidansındaki farklılıklar, beslenme, alkol, sigara içme ve D vitamini eksikliği gibi değiştirilebilir risk faktörlerine bağlanabilir.(21) Her ırkın pankreas kanserinin insidansını etkileyebilecek genetik ve moleküler çeşitliliğe sahip olduğu ve ırksal farklılıkların tedavi sonrası sağkalım oranlarını da açıklayabileceği düşünölmektedir. Genel olarak, Asyalı hastaların, Asya olmayan hastalara göre daha iyi bir sağkalım oranına sahip olduğu görölmektedir. (28)

#### **Kan Grubu**

Pankreas kanseri riski, çeşitli büyük epidemiyolojik çalışmalarda farklı ABO kan gruplarıyla ilişkilendirilmiştir. Kan grubu O olan hastalarla karşılaştırıldığında, kan grubu A, AB veya B olan hastaların pankreas kanseri geliştirme riskinin önemli ölçüde daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bunun nedeninin farklı kan grupları arasında

glikozil transferaz spesifitesi ve gruplar arasındaki farklı inflamatuvar yanıtlar olduğu düşünülmektedir.(29)

### **Aile Öyküsü**

Pankreas kanseri, bir ailede daha önce hastalık tanısı konmuş iki veya daha fazla birinci derece akrabaya sahipse, ailevi olarak kabul edilir ve yeni vakaların %5-%10'unu oluşturur(30). Ailevi risk faktörleri bulunan hastalar, aile öyküsü olmayanlara göre pankreas kanseri geliştirme riskinde dokuz kat artış yaşarlar; bu risk üç veya daha fazla birinci derece akrabada hastalık tanısı konulmuşsa otuz iki kat daha fazla artar (31).

Genetik varyasyon veya mutasyonlar (germline mutasyonlar), pankreatik kanser riskinin artmasında önemli bir rol oynar (32). Pankreatik kanserli hastaların yaklaşık %10'unda gen varyasyonları veya değişiklikler bulunmaktadır ki bu durumun genetik yatkınlığı gösterdiği düşünülmektedir ve hastalığın gelişimine katkıda bulunabilir (33). BRCA1, BRCA2, PALB2, ATM, CDKN2A, APC, MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, PRSS1 ve STK11 gibi birçok germline mutasyon, herediter pankreatik kanser formlarında rol aldığı tespit edilmiştir (34). Pankreatik kanser aynı zamanda herediter non-polipozis kolon kanseri (Lynch sendromu), famiyal atipik multipl mole sendromu, Peutz-Jeghers sendromu, herediter meme ve over kanseri sendromu, familial adenomatöz polipozis ve Li-Fraumeni sendromu gibi famiyal kanser sendromları ile ilişkilendirilmiştir. (35,36)PALB2 (BRCA2'nin partneri ve lokalizatörü) pankreatik kanser duyarlılık geni olarak tanımlanmıştır ve familial pankreatik kanserli hastaların %3'ünde germline mutasyonlar kaydedilmiştir (37,38). Ayrıca, germline CDKN2A gen mutasyonları genellikle famiyal atipik multipl mole sendromlu ailelerde, STK11 gen mutasyonları Peutz-Jeghers sendromlu hastalarda ve PRSS1 gen mutasyonları ise herediter pankreatitli kişilerde gözlemlenmiştir (24). Ayrıca, pankreas kanseri riskinin artmasında özel bir rol oynayan kalıtsal gen mutasyonlarına sahip olan dört ana gen, KRAS, p53 ve SMAD4 bulunmaktadır(39).

### **Diabetes Mellitus**

Diyabet, pankreas kanseri için iyi bilinen bir risk faktörüdür. Stevens ve ark., yaptıkları bir meta-analizde tip 1 diyabetli hastaların pankreas kanseri riskinin, olmayanlara göre iki katı olduğunu göstermiştir (40). 36 çalışmanın verileri üzerinden



yapılan başka bir meta-analizde ise tip-2 diyabetli hastalarda pankreas kanseri riskinin arttığı gösterilmiştir(41).

#### **2.4.2.2. Değiştirilebilir Risk Faktörleri**

##### **Sigara**

Sigara içmek, pankreatik kanser için en önemli değiştirilebilir risk faktörü olarak kabul edilmektedir (25). Yapılan 82 çalışmanın meta-analizinde, sigara içenlerde kanser riskinin %74 ve daha önce sigara kullanan kişilerde ise %20 arttığı gösterilmiştir. Aynı zamanda bu çalışma sigarayı bıraktıktan sonra da riskin 10 yıl kadar devam ettiğini göstermiştir (42). Gelecekte yeni bir araştırma alanı ise elektronik sigaralardır. Elektronik sigaraların kanser önlenmesine katkı sağlayacak sigara bırakma aracı mı yoksa kanserojen potansiyeli bilinmeyen bir maruziyet mi olduğunu anlamak için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır (43).

##### **Alkol**

Literatürde bu konu hakkında karışık veriler bulunmasına rağmen en son yapılan bir meta analizde düşük ve orta düzeyde alkol tüketiminin pankreas kanseri riski ile ilişkili olmadığı, ancak yüksek alkol tüketiminin (30 gr'dan fazla) riskin %15 arttığı gösterilmiştir(44). Aynı zamanda aşırı alkol tüketimi kronik pankreatitin başlıca nedenidir ki bundan dolayı oluşan pankreas kanseri riskinden dolayı alkol de kanser riskini arttırmaktadır(45).

##### **Kronik Pankreatit**

Kronik pankreatit üzerine yapılan yedi çalışmanın sonuçlarına göre, bu hastalarda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında pankreas kanseri riski 13 kat daha yüksek olduğunu gösterilmiştir(46).

##### **Obezite**

Pankreas kanseri olan 6391 hastayı içeren bir meta analizde, normal kilolu kişilerle karşılaştırıldığında obez kişilerde pankreas kanser göreceli riski 1.19 bulunmuştur (47). Yapılan başka bir meta analizde, her 5 BMI birimi artışına karşılık pankreas kanseri riskinde %10 artış olduğu saptanmıştır (48).

## 2.4.2. Pankreas Kanseri Türleri

Diğer organlarda gelişen kanserler gibi, pankreas tümörleri de hücre tipine, yapısına ve davranışına göre sınıflandırılır(49). Ekzokrin pankreas, sindirim için gerekli enzimleri üreten kanal ve asiner hücrelerden oluşur. Endokrin pankreas ise glikoz metabolizması için gereken hormonları üreten hücreleri içerir (50).

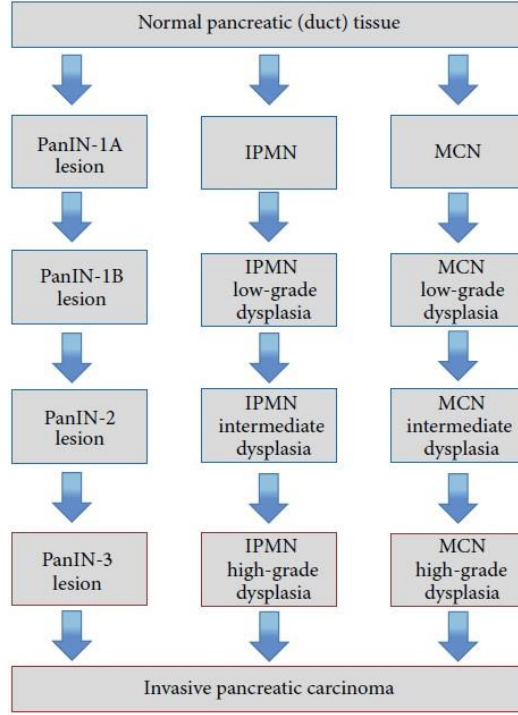
Ekzokrin pankreas kanserlerinin çoğunluğu adenokarsinomlar olup tüm pankreas kanserlerinin %90'ını oluştururlar. Bu tümörler pankreas kanalını döşeyen epitel hücrelerinde ortaya çıkar ve bez benzeri yapılar oluştururlar(51). Muköz tümörler ise pankreas kanserlerinin %10'undan azını oluşturan bir diğer ekzokrin pankreas kanseri türüdür. Bu tümörler genellikle pankreas kanal epitelinden kaynaklanmakta olup kese benzeri yapılar oluşturur ve mukus salgırlar (49).

Endokrin pankreas kanserleri daha nadirdir ve tüm pankreas kanserlerinin %5'inden azını oluşturur. Malignite yapan pankreasın nöroendokrin tümörleri (NET), adacık hücresi tümörleri olarak da bilinir (52). Bu tümörler, pankreasın adacık hücrelerinden kaynaklanır ve endokrin pankreasın işlevini bozmaktan ziyade, genellikle yüksek seviyelerde pankreas hormonları üretir (53). Fonksiyonel NET'ler içinde, insülinoma (%42), gastrinoma (%24), glukagonoma (%14), VIPoma (%10), somatostatinoma (%6) ve daha nadir olarak diğer çoklu hormon üreten neoplazmalar bulunur (54).

## 2.4.3. Pankreas Kanseri Patofizyolojisi

Son yirmi yılda, pankreatik duktal adenokarsinom (PDAK) üzerine yapılan araştırmalarda önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Bu süreçte genetik ve moleküler biyoloji, moleküler görüntüleme ve onkoloji gibi disiplinlerin sağladığı katkılar ile öncü lezyonların tanımlanması ve sınıflandırılması, daha hassas erken tanı yöntemlerinin geliştirilmesini sağlamıştır (55)Pankreas kanseri, diğer karsinomlara benzer şekilde, intraepitelyal neoplaziden invaziv kansere doğru basamaklı bir ilerleme göstermektedir (56). PDAK olan hastaların rezeksiyon materyalleri üzerinde yapılan çalışmalar, birçok hastada tümörün çevresinde ve pankreasın geri kalanında multifokal, mikroskopik pankreatik intraepitelyal neoplazmalar (PanIN) bulunduğunu

göstermiştir. Ayrıca, intra duktal papiller müsinöz neoplaziler (IPMN) ve müsinöz kistik neoplaziler (MCN) gibi kistik lezyonlar, pankreas kanseri için öncül lezyonlar olarak iyi bilinmektedir (57).



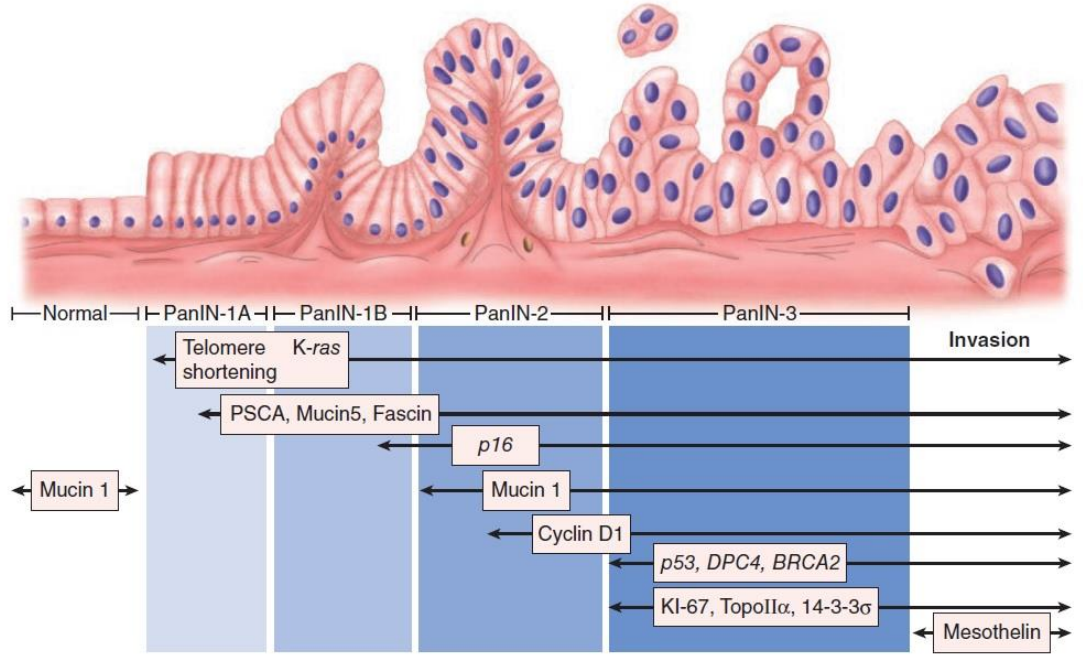
Şekil 2.2 İnvaziv pankreatik karsinomu için üç farklı morfolojik yol modeli (57)

### Pankreatik İntraepitelyal Neoplazi (PanIN)

PanIN, pankreasın küçük intralobüler kanallarında bulunan, sitolojik ve mimari anormalliklerle karakterize edilen mikroskopik epitelyal neoplazmlardır. PanIN, atipinin derecesine göre PanIN 1,2 ve 3 olarak üç sınıfa ayrılır. PanIN-1A (flat) ve PanIN-1B (papiller), minimal sitolojik ve mimari atipiyeye sahip düşük dereceli lezyonlardır. PanIN-2 lezyonları (orta dereceli PanIN), hafif ila orta dereceli sitolojik ve mimari atipi gösterir ve sık papillalar içerir. Yüksek dereceli PanIN'ler (PanIN-3), şiddetli sitolojik ve mimari atipi ile karakterizedir. PanIN-3 aynı zamanda "karsinoma in situ" olarak adlandırılır (57,58).

PanIN, Vogelstein'in kolon karsinogenezi modeline benzer şekilde, adenom-karsinom sekansı yoluyla invaziv karsinomaya yol açan mikroskopik (<5 mm) müsinöz-papiller lezyonlardır. Düşük dereceli PanIN'lerin %90'ından fazlası dahil olmak üzere neredeyse tüm PanIN'lerin KRAS gen lokusunda mutasyonlar taşıdığı,

ardından CDKN2A/p16, SMAD4 ve TP53 mutasyonlarının pankreas karsinogenezinin orta ve ileri aşamalarında meydana geldiği gösterilmiştir (55). PanIN'lerde histoloji evreleri ve mutasyonlar şekil 2.3'te görülmektedir. Üst tarafta PanIN-1A, PanIN-1B, PanIN-2 ve PanIN-3 ün histolojik evreleri; altta ise karşılıkları olan mutasyonel olayların, kRAS, p53 gibi tümör-promotör ve tümör supresör faktörlerin fenotiplerle ilişkisi gösterilmektedir (13).



Şekil 2.3. PanIN histolojik tipleri ve mutasyonların özeti (13)

### İntraduktal Papiller Müsinöz Neoplazi (IPMN)

IPMN'ler duktal epitelden kaynaklanan tümörlerdir. Papiller epitelyal proliferasyon ve müsin üretimi, ilgili kanalların kistik genişlemesine yol açarlar (59). IPMN, cerrahi serilerde en sık görülen kistik neoplazmlar olup, köken aldıkları bölgeye (ana pankreatik kanal, yan dal kanal) ve histolojik alt tiplerine bağlı olarak farklı malign potansiyel gösterirler. Bazı IPMN'ler multifokal olabilir ve bu nedenle kısmi pankreas rezeksiyonundan sonra bile eşzamanlı kistik bir lezyonun ilerleme riski vardır (60). Displazi derecesine ve ilişkili invaziv karsinomun varlığına veya yokluğuna bağlı olarak, IPMN'ler WHO tarafından düşük dereceli displazi, orta dereceli displazi, yüksek dereceli displazi ve ilişkili invaziv karsinomlu IPMN olarak sınıflandırılır. IPMN'li hastaların yaklaşık üçte biri invaziv karsinom ile ilişkilidir (61).

Histolojik ve immünohistokimyasal özelliklerine göre, bağırsak, pankreatobiliyer, onkositik ve gastrik alt tipler ayrılabilir. Histomorfolojik ve immünohistokimyasal özelliklerine göre transmembran proteini olan MUC ekspresyonu (MUC1, MUC2, MUC5AC ve MUC6) ve bağırsak belirteci CDX-2'nin analizi ile histopatolojik alt tiplerin ayırıcı tanısı yapılır (62). Bağırsak tipi IPMN, uzun sütunlu hücreler, uzamış nükleuslar ve amfofilik sitoplazma ile karakterizedir (kolonun villöz adenomuna benzer). Lezyonlar sıklıkla orta veya şiddetli displazi gösterirler. Bu villöz papiller neoplazmlar tipik olarak MUC2, MUC5AC ve CDX-2 ekspresyonu gösterir. Buna karşılık, pankreatobiliyer tipi IPMN, dallanmış papiller yapısı ile yüksek dereceli intraepitelyal neoplazmlar ile karakterizedir ve MUC1 ve MUC5AC ekspresyonunu gösterirler. Onkositik tip ise genellikle onkositik hücrelerle karışık goblet hücreleri ve müsin içeren hücreler ile karakterizedir. Bu hücrelerin çoğu, invaziv hale geldiklerinde nadir görülen onkositik karsinomlarına dönüşen yüksek dereceli hücresel atipi ve in situ karsinom modifikasyonları gösterir. Onkositik alt tip, MUC5AC, MUC6 ve MUC1 veya MUC2 ekspresyonu gösterirler. Gastrik alt tip hafif atipi gösteren oval şekilli nükleuslara ve hafif eozinofilik sitoplazmaya sahiptir. Mitozlar nadirdir ve gastrik tip lezyonların çoğu düşük dereceli lezyonlardır. Gastrik tip IPMN'ler MUC5AC ve bazen MUC6 eksprese ederler (63).

KRAS ve GNAS1 mutasyonları, erken genetik değişiklikleri temsil ederken, TP53 mutasyonları IPMN'nin adenom-karsinom sekansında invaziv kansere yol açan geç değişiklikleri temsil eder (60,64).

### **Müsinöz Kistik Neoplazi (MCN)**

Pankreas kanserinin en nadir öncül lezyonları olan MCN ağırlıklı olarak kadınlarda görülür ve tipik olarak pankreasın gövde ve kuyruk kısmında yer alırlar (65,66). IPMN'lerin aksine, MCN'ler genellikle ana pankreas kanalıyla belirgin bir bağlantı göstermez ve ana pankreas kanalında dilatasyon tipik olarak tespit edilmez. Noninvaziv MCN'li hastaların prognozu çok olumludur (beş yıllık sağkalım neredeyse %100) ve invaziv MCN için rezeksiyon yapılan hastalar için beş yıllık sağkalım oranı neredeyse %60'tır (67,68).

MCN'ler çok büyük boyutlara ulaşabilen kistik lezyonlardır. Displazi derecesine (atipi) göre noninvaziv MCN'ler düşük dereceli displazi, orta dereceli

displazi ve yüksek dereceli displazi olarak sınıflandırılır. MCN'lerin yaklaşık üçte biri invaziv hale gelir ve bu durumda genellikle duktal adenokarsinomlar oluştururlar (69).

MCN'lerin tanısal ipuçlarından biri, neoplastik epitelin altında bulunan over benzeri stromanın varlığıdır. Stroma progesteron ve östrojen reseptörlerini ekspres eder ve gerçek over stromasına benzer şekilde luteinizasyon gösterebilir. Moleküler değişiklikler net olarak gösterilememiş olsa da KRAS mutasyonları düşük dereceli displazili MCN'lerde ve ileri vakalarda artan sıklıkla tespit edilmiştir. TP53, p16 ve SMAD4/DPC4 mutasyonları ise genellikle yüksek dereceli displazi ve invaziv karsinomlarda gözlenmiştir (68).

MCN'ler düşük malignite riski taşımasına rağmen (invaziv karsinom prevalansı yaklaşık %13), her hastaya cerrahi müdahale önerilir. Özellikle, MCN'ler genç hastalarda görülür ve çoğunlukla pankreasın gövde ve kuyruk kısmında yer alır, bu nedenle rezeksiyon en uygun ve güvenilir tedavi yöntemidir (66).

#### **2.4.4. Pankreas Kanserinde Genetik Değişiklikler**

Tüm gen çalışmaları, PDAK'ın moleküler olarak heterojen bir hastalık olduğunu ve dört yaygın genetik değişiklik ile karakterize olduğunu ortaya koymuştur. Bunlar onkogenik KRAS mutasyonu ve tümör baskılayıcı genler CDKN2A, TP53 ve SMAD4'ün inaktivasyonudur. Bu değişiklikler, PDAK vakalarının çoğunda mevcut olup bununla birlikte, birçok ek gen, tümör alt gruplarında genellikle çok düşük bir frekansta ( $\leq$ %10) mutasyona uğrarlar. Bunlar arasında KRAS, TGF- $\beta$ , WNT, NOTCH ve Hedgehog sinyalleşmesi ile S-fazına giriş, aksonal rehberlik, kromatin yeniden şekillenmesi, DNA onarımı ve RNA işlenmesi bulunmaktadır. Bu çeşitli genetik olarak değiştirilmiş yollar arasındaki etkileşimlerin PDAK progresyonuna nasıl katkıda bulunduğunu anlamak, hastalığı tedavi etmek için daha selektif ve etkili terapötik modalitelerin geliştirilmesinde önemli bir hedefdir (70).

#### **Onkogenler**

Pankreas kanserlerinde en sık mutasyona uğrayan onkogen olan KRAS pankreas kanserlerinin %95'inden fazlasında mutasyona uğrar. KRAS geni, 12. kromozomun p kolu üzerinde yer alır ve membrana bağlı bir guanozin trifosfat (GTP) bağlayıcı protein kodlar. Bu GTP bağlayıcı protein, hücre çoğalması, hücre hayatta

kalma, hareketlilik ve iskelet sistemi yeniden şekillenmesi gibi çeşitli hücresel işlevleri yönetir. KRAS genindeki aktif edici mutasyonlar, Kras proteininin düzenlenmiş GTPaz aktivitesini ortadan kaldırır ve bu da sürekli sinyalleşme ile sonuçlanır. KRAS genindeki mutasyonlar, en erken pankreatik intraepitelyal neoplazi (PanIN) lezyonlarında gözlemlenir ve pankreatik tümör oluşumunun en erken genetik olaylarından biri olarak kabul edilir (71). BRAF gen mutasyonları, KRAS mutasyonu taşımayan pankreas kanserlerinin %5'inde gözlemlenmekte olup bu kanserler genellikle mikrosatellit instabildir. Benzer şekilde, AKT2 genindeki amplifikasyonlar, pankreas kanserlerinin %10 ila %20'sinde görülür. C-MYC, KRAS ve GATA6 gibi diğer onkogenlerin amplifikasyonları ise daha az sıklıkla görülür (72).

### **Tümör Supresör Genler**

Tümör baskılayıcı genler, hücre proliferasyonuna karşı etkili olan proteinleri kodlar. Bu proteinler arasında sinyal inhibitörleri, negatif transkripsiyon faktörleri, apoptoz aktivatörleri veya DNA onarım sistemlerinin üyeleri bulunur. Genetik değişiklikler sonucu, bu genlerin normal işlevi azalabilir veya tamamen ortadan kalkabilir. Tümör baskılayıcı genlerdeki mutasyonlar resesif karakterdedir; dolayısıyla hücre, her iki allel de etkilendiğinde bu işlevleri kaybeder. En yaygın durumda, başlangıçta bir allel mutasyona uğrarken, diğeri sonradan mutasyona uğrar veya tamamen kaybolur. Tümör baskılayıcı deaktive edilmesinin ayrı bir mekanizması ise hipermetilasyondur. Pankreas kanserinde sıkça etkilenen tümör baskılayıcılar arasında TP53, APC, SMAD4 ve TP16 bulunur (73).

Tümör baskılayıcı genler, onkojenik sürücü mutasyonların varlığında hücre döngüsünü durdurma, apoptoz indüksiyonu yoluyla hücre proliferasyonunu sınırlar. Bu nedenle, bu genlerin işlevsel inaktivasyonu tümör oluşumu için gereklidir. Bunların en yaygın üçü CDKN2A, TP53 ve SMAD4/DPC4'tür. Bu genlerin inaktivasyonu, çok aşamalı karsinogenez modeliyle uyumlu olarak onkojenik KRAS mutasyonunun ortaya çıkmasını takiben sıralı bir şekilde gerçekleşir (70).

CDKN2A, hücre döngüsünün S fazına girişini engellemekten sorumlu olan bir siklin bağımlı kinaz inhibitörü olan p16/INK4A proteinini kodlar. Bu gen, PDAK'de en erken ve en sık değişikliğe uğrayan tümör supresör genidir. CDKN2A

inaktivasyonu, PDAC gelişiminden önce, genellikle orta derecede ilerlemiş PanIN'lerde tespit edilir (70).

PDAK'deki diğer önemli bir tümör supresor gen ise TP53'tür. TP53, transkripsiyon faktörü p53'ü kodlar. Tümörlerin yaklaşık %75'inde bu genin fonksiyon kaybı gözlemlenir. p53'ün inaktivasyonu, genellikle CDKN2A kaybını takiben ileri PanIN'lerde gözlemlenir (74).

Bir diğer tümör supresor gen kromozom 18q.84 üzerindeki SMAD4'tür. SMAD4 geninin protein ürünü olan Smad4 Transforme edici büyüme faktörü beta (TGF $\beta$ ) hücre sinyal yolunda işlev görür. SMAD4 fonksiyonunun kaybı sonucu SMAD4'e bağımlı TGF- $\beta$  yolunu ortadan kalkar ve düzensiz hücresel proliferasyona meydana gelir. Pankreas kanserindeki SMAD4 mutasyonları daha yaygın olarak metastatik hastalık ve dolayısıyla kötü prognoz ile ilişkilidir (75,76).

PDAK'de fonksiyonunu kaybeden birçok koruyucu gen bulunmaktadır, bunlar arasında BRCA1, BRCA2, hMLH1 ve hMSH2 bulunur. LKB1 gibi, bu tümör supresor genlerin inaktivasyonu germline veya somatik mutasyon sonucu meydana gelebilir ve daha çok diğer malignitelerle ilişkilidir (77).



Pankreas kanserinde en sık mutasyona uğrayan genler, görülme sıklıkları ve kullandıkları sinyal yolları Tablo 2.1’de özetlenmiştir (73).

Gen Sembolleri	Protein Adı	Mutasyon Sıklığı (%)	Tipi	Ana Sinyal Yolu veya Sistem
KRAS	K-ras	58	Proto-onkogen	Ras/Raf/MAPK
TP53	Tümör proteini p53	37	Tümör baskılayıcı	Apoptoz, Hücre döngüsü kontrolü
CDKN2A	Tümör proteini p16 (INK4A)	29	Tümör baskılayıcı	Hücre döngüsü kontrolü
CTNNB1	$\beta$ -katenin	24	Proto-onkogen	Wnt
SMAD4	DPC4	22	Tümör baskılayıcı	TNFBeta/SMAD
APC	Apc	16	Tümör baskılayıcı	Wnt
PIK3CA	Fosfoinositid 3-kinaz	5	Proto-onkogen	PTEN/PI3K/AKT

**Tablo 2.1:** Pankreas kanserinde en sık mutasyona uğrayan genler (73)

## 2.4.5. Pankreas Kanserinde Sinyal Yolları

### c-MET/HGF Sinyal Yolu

c-MET/HGF (hepatosit büyüme faktörü) sinyal yolu, pankreas kanserinin erken progresyonunda anahtar bir faktördür. Bu yol anjiyogenez ve hücre ayrışması (yayılma ve metastaz) yoluyla invaziv büyümeden sorumludur. c-MET, embriyonik gelişim ve yara iyileşmesinde birincil fonksiyonu olan bir HGF reseptörünü kodlayan bir proto-onkogendir. Normal insan ekzokrin pankreasında c-MET mRNA'sı çok düşük seviyelerde bulunmasına rağmen, pankreas kanserlerinin çoğunda ve pankreatitli epitelyal hücrelerde yukarı upregulasyona uğrar. HGF, c-MET'in birincil ligandıdır. c-MET/HGF etkileşimi sonrasında, Ras, fosfoinositid 3-kinaz (PI3K), Janus kinaz (JAK)/sinel dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü (STAT) ve  $\beta$ -katenin (Wnt) yolları da dahil olmak üzere birkaç farklı sinyal yolu aktif hale gelir (75).

### **Ras/Raf/MAPK Yolu**

Ras/Raf/mitojen ile aktive edilen protein kinaz (MAPK) yolu, kanserde en çok incelenen ve en iyi tanımlanmış sinyal yollarından biridir. Bu yol, hücre büyümesi, farklılaşması ve hayatta kalma gibi çeşitli hücreyel süreçleri düzenler. Aktive olmuş Ras, Raf kinazını bağlar ve aktive eder, bu da sırasıyla MEK ve ERK kinazlarını aktive eder. Aktive edilmiş ERK, çekirdeğe girer ve burada çeşitli hedef genlerin ekspresyonunu düzenler, bu da hücre proliferasyonu ve hayatta kalma sinyallerine yol açar. Ras/Raf/MAPK yolunun aşırı aktivasyonu, birçok kanser türünde gözlemlenir ve pankreas kanserinde de önemli bir rol oynar (78).

### **PTEN/PI3K/AKT Yolu**

PTEN/PI3K/AKT, AKT onkogeninin hücre membranı üzerindeki lokalizasyonu ile düzenlenen önemli bir sinyal yoludur. AKT'nin membran lokalizasyonunda yer alan iki önemli protein ailesi PI3K ve PTEN fosfatazlarıdır. PI3K, fosfoinositler olarak bilinen belirli membran bağlı lipitleri fosforilleyebilir. Pankreas kanserinde AKT1, hücre döngüsünün durmasını aşarak, apoptozu engelleyerek ve anjiyogenezi teşvik ederek hücre hayatta kalmasını sürdüren bir onkogen olarak hareket eder. PTEN, PI3K'ya karşı etkili olan bir fosfatazdır. PIP3'ü tekrar PIP2 ve PIP'e dönüştürerek zar lokalizasyonunu bozarak ve AKT aktivitesini azaltarak tümör baskılama yeteneğine sahiptir (79).

### **JAK/STAT Yolu**

JAK/STAT sinyal yolu, sitokin reseptörlerinden hücre çekirdeğine kimyasal sinyallerin iletilmesiyle DNA transkripsiyonunun düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Aktive edilmiş STAT dimerleri, çekirdek içinde DNA transkripsiyonunu başlatır. JAK/STAT sinyalinin inhibisyonunun çeşitli insan kanserlerinde apoptozu indüklediği bilinmektedir ve bu nedenle potansiyel yeni ilaç adayları için birincil odak noktasıdır (73).

## **2.4.6. Pankreas Kanseri Tanısı**

### **Klinik Bulgu ve Semptomlar**

Pankreas kanserinin başlangıç belirtileri genellikle müphem ve nonspesifiktir. Pankreas kanserlerinin %90'dan fazlası duktal adenokarsinomlar olup hastaların çoğu

lokal ilerlemiş (unrezektabl) veya metastatik hastalıkla başvurur. En yaygın 3 belirti olan iştah azalması, hazımsızlık ve bağırsak alışkanlığında değişikliktir. Tümörlerin çoğu (yaklaşık yüzde 70) pankreas başında oluşur ve sıklıkla safra tıkanıklığı ile kendini gösterir. Bu durum koyu idrar, sarılık, iştah kaybı, yorgunluk, kilo kaybı ve ekzokrin pankreas yetersizliği gibi belirtilere yol açar. Buna karşılık, pankreas gövdesi ve kuyruğunda yer alan kanserler, karın ağrısı, sırt ağrısı ve kaşeksiye bağlı belirtiler (iştah kaybı, kilo kaybı, yorgunluk) gibi daha nonspesifik belirtilerle kendini gösterir. Yeni başlangıçlı veya mevcut diyabetin kötüleşmesi PDAK'nin bir işareti olabilir ve değerlendirilmesi gereklidir. Nadir durumlarda, akut pankreatit PDAK'nin birincil belirtisi olabilir ve yeni tanı almış PDAK hastalarının yaklaşık yüzde 3'ünde görülür (5).

### **Teşhis Yöntemleri ve Görüntüleme Teknikleri**

Pankreas kanseri genellikle erken evrede çok az semptom gösterir ve sigara içme ve aile öyküsü dışında pek az spesifik, iyi bilinen risk faktörü vardır; bu da uygun tarama ve erken tanıyı oldukça zorlaştırır. Pankreas kanserinde erken tespit ve uygun cerrahi adayların seçimi için devam eden bir çaba vardır. Ayrıca, günümüzde mevcut pankreas görüntülemesi, pankreas odaklı lezyonların karakterizasyonu, başlangıç evrelemesi, cerrahi ve terapötik planlama ve çeşitli görüntüleme modalitelerini kullanarak tedavi yanıtının değerlendirilmesinde kilit bir role sahiptir. Bu modaliteler arasında ultrasonografi (US), bilgisayarlı tomografi (BT), manyetik rezonans görüntüleme (MRI), pozitron emisyon tomografisi (PET) ve endoskopik ultrasonografi (EUS) bulunur (80).

Pankreas BT anjiyografisi, toraks ve pelvis BT ile birlikte, vasküler anatomiye ve hastalığın evresini değerlendirmek için kullanılabilir ve tanı sırasında önerilir. Tümör ile lokal kan damarları (superior mezenterik ve portal venler ile çölyak, hepatik ve superior mezenterik arterler) arasındaki temas derecesi en uygun başlangıç tedavisini tanımlamak için önemlidir. Sınırdaki temas, tümörün kan damarına 180° veya daha az temas etmesi anlamına gelirken, çevreleme 180°'den fazla tümör-damar temasını ifade eder. PDAK metastazlarının yaygın bölgeleri karaciğer (%90), lenf nodları (%25), akciğer (%25), periton (%20) ve kemikler (%10-15)dir. MRI ve MR kolanjiyopankreatografi (MRCP), belirsiz karaciğer lezyonlarının metastaz olup olmadığını belirlemeye ve BT'de zayıf karakterize edilebilecek kanserleri tespit

etmeye yardımcı olabilir. Florodeoksiglukoz kullanılan PET/CT, tümördeki glukoz metabolizmasını değerlendirerek pankreastaki benign ve malign lezyonları ayırt etmeye yardımcı olan fonksiyonel bir görüntüleme aracıdır; ancak, uzaysal çözünürlük eksikliği vardır ve enfeksiyon veya inflamasyondan kaynaklanan glukoz alımını da tespit edebildiğinden yorumlama zorlaşabilir. PET/CT rutin evreleme aracı olarak kabul edilmemektedir (81).

Endoskopik ultrasonografi (EUS), pankreas kitlesini doğrudan göstermek, kesin sitolojik veya histolojik tanı sağlamak, tümör-damar ilişkisini tanımlamak, bölgesel lenf nodlarını değerlendirmek ve tam rezeksiyon olasılığını değerlendirmek için kullanılır. EUS rehberliğinde yapılan ince iğne biyopsisi (ince iğne aspirasyonu yerine tercih edilir), histolojik tanı elde etmek ve moleküler testler için materyal sağlamak amacıyla kullanılır. Obstrükte safra yollarının görüntülenmesi için endoskopik retrograd kolanjiyopankreatografi (ERCP) kullanılır ve ERCP hem tanı hem de palyasyon için kullanılabilir. Dekompresyon çoğunlukla metalik safra stenti yerleştirilerek sağlanır (82).

Serum karbonhidrat antijen 19-9 (CA 19-9), PDAC için iyi bilinen bir biyomarkerdir ve tedavi yanıtını izlemek için kullanışlıdır. CA 19-9, rutin tarama için yeterince duyarlı veya spesifik olmasa da, tarama aracı olarak değeri yeniden gözden geçirilmektedir. Diğer araştırma aşamasındaki kan bazlı biyomarkerler, serbest hücre DNA'sı, eksozomlar ve dolaşımdaki tümör hücreleri, tedavi yanıtını izlemek ve tedavi direncini değerlendirmek için de faydalı olabilir (82,83).

Bunların dışında pankreas görüntülenmesi için geliştirilen yeni teknikler de mevcuttur. MDCT (Çok Kesitli Bilgisayarlı Tomografi), pankreas kanseri görüntülenmesinde tercih edilen yöntemdir, ancak 2 cm'den küçük veya izoattenuë tümörlerin tespiti hâlâ zordur. Dual-energy veya düşük tüp voltaj teknikleri, bu tür tümörlerin tespiti için kontrast-gürültü oranını artırarak yardımcı olabilir. İteratif rekonstrüksiyon (IR) algoritmaları, BT görüntülenmesinde gürültü azaltma ve düşük radyasyon dozlarıyla yüksek tanısal kalite sağlama potansiyeline sahiptir. Bu teknikler, yüksek çözünürlükte pankreas BT görüntülenmesi için kullanılabilir. Dinamik kontrastlı MR görüntüleme ve DWI (Difüzyon Ağırlıklı Görüntüleme), pankreas kanserinin tanı ve tedavi izlemesi için kullanışlıdır. Gadoksetik asit ile zenginleştirilmiş karaciğer MR, karaciğer metastazlarının tespitinde en etkili yöntemlerden biridir ve BT'den daha

yüksek duyarlılığa sahiptir. Entegre PET ve MR (Hibrit PET/MR), ileri pankreas kanserli hastalarda evreleme değerlendirmesi ve tedavi yanıtının izlenmesi için üstün tanısal performans sağlayabilir (80).

### Pankreas Kanseri Evreleme

Pankreas kanserlerinin evrelendirilmesinde, Amerikan Birleşik Kanser Komitesi (AJCC) evreleme sistemi kullanılmaktadır. Bunlar TNM ve Prognostik evreleme olup Tablo 2.2 ve Tablo 2.3’de gösterilmektedir.

Primer Tümör	
TX	Primer tümör değerlendirilemez
T0	Primer tümör kanıtı yok
Tis	Karsinoma in situ (PanIN–III sınıflandırmasını da içerir)
T1	En büyük boyutu 2 cm veya daha küçük olan tümör
T1a	Tümör en büyük boyutu 0,5 cm veya daha az
T1b	Tümör 0,5 cm'den büyük ve en büyük boyutu 1 cm'den küçük
T1c	Tümör 1 cm'den büyük ancak en büyük boyutu 2 cm'den fazla değil
T2	Tümör 2 cm'den büyük ama en büyük boyutu 4 cm'den fazla değil
T3	Tümör ve en büyük boyutu 4 cm'den fazla
T4	Tümör çölyak ekseni, superiormezenenterik arter ve/veya ortak hepatik arteri içerir
Bölgesel Lenf Düğümleri	
NX	Bölgesel lenf düğümleri değerlendirilemez
N0	Bölgesel lenf nodu metastazı yok
N1	1 ila 3 bölgesel lenf düğümünde metastazlar
N2	4 veya daha fazla bölgesel lenf düğümünde metastaz
Uzak Metastaz	
M0	Uzak metastaz yok
M1	Uzak metastaz

Tablo 2.2. TNM Evrelemesi (84)

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

Tablo 2.3. Prognostik Evreleme (84)

#### 2.4.6. Pankreas Kanseri Tedavisi

Pankreas kanserinde potansiyel kür sağlayan tek tedavi yöntemi cerrahi rezeksiyondur. Adjuvan kemoterapinin eklenmesiyle sağkalım oranlarının iyileştiği gösterilmiştir. Neoadjuvan kemoradyoterapi uygulaması ile sağkalımda daha da iyileşme gösteren sonuçlar mevcuttur (25). Bu hastalığın multidisipliner tedavisi, tanı anındaki kanser evresine (rezektabl, sınırda, lokal ileri ve metastatik hastalık) bağlıdır ve cerrahi, kemoterapi, kemoradyoterapi ve destekleyici tedavi yöntemleri hastalığın ve hastanın durumuna göre uygulanır (6).

##### Cerrahi Tedavi

Pankreas kanserinin rezeksiyonu için pankreatikoduodenektomi (Whipple prosedürü), distal veya total pankreatektomi, tümörün anatomik konumuna bağlı olarak cerrahi seçeneklerdir (25). Cerrahi rezeksiyonun amacı, mikroskopik olarak negatif marjlarla (R0) tümörün tamamen çıkarılmasıdır, çünkü bu, R1 rezeksiyonlarına kıyasla sağkalımı önemli ölçüde artırır (85). Son yayınlara göre, pankreatikoduodenektomiden sonra R0 rezeksiyonu, >1 mm'lik temiz bir marj olarak tanımlanmalıdır (86).

Pankreas başında adenokarsinom bulunan hastalarda pankreatikoduodenektomi önerilen cerrahi tekniktir ve SMA'nın anterior, lateral ve posterior sınırlarında adventisya kadar iskeletizasyonu standart yaklaşımdır (87). 15'ten fazla lenf düğümünün diseksiyonu önerilir ve standart lenfadenektomi,

suprapiloric (5), infrapiloric (6), ortak hepatik arter boyunca (8a), safra ve sistik kanallar boyunca (12b ve 12c), pankreas başının arka yüzeyinde (13a, 13b), superior mezenterik arterin başlangıcında (14a), SMA'nın sağ tarafında (14b) ve pankreas başının ön yüzeyinde (17a ve 17b) bulunan lenf nodlarını içerir. Daha agresif cerrahi, yani geniş kapsamlı lenfadenektomi, uzun dönem sağkalımı artırmaz ve önerilmez (88).

Sol pankreasta (gövde veya kuyruk) adenokarsinom bulunan hastalarda splenektomi ile distal pankreatektomi önerilir. Bölgesel lenfadenektomi, gastrosplenik lenf düğümlerini ve sol çölyak trunkus kenarından SMA'ya kadar olanları içerir. Lenfadenektomi, 9, 10, 11 ve 18 numaralı lenf düğümleri seviyelerini içermelidir (89).

Diğer alanlarda olduğu gibi, pankreas cerrahisi için minimal invaziv tekniklere ilgi artmıştır. Laparoskopik distal pankreatektomi, tarif edilen ilk minimal invaziv pankreas rezeksiyonudur. Bir meta-analiz, laparoskopik ve açık distal pankreatektomi arasında benzer morbidite ve mortalite bulmuş, minimal invaziv grupta kanama ve hastanede kalış süresinin azaldığını göstermiştir (90). Robotik tekniklerin Whipple prosedürünü iyileştirmek için kullanılmasına yönelik girişimler de olmuştur. Açık pankreatektomi ile karşılaştırıldığında, bir meta-analiz robotik grubun daha düşük komplikasyon oranı ve rezeksiyon sınırında daha az tümör olduğunu bulmuştur. Ancak, bu çalışmalardaki randomizasyon eksikliği, seçim yanlılığına yol açmaktadır. Robotik cerrahi ayrıca önemli bir maliyet gerektirmektedir (91).

### **Medikal Tedavi**

PDAK cerrahi olarak çıkarıldıktan sonra önerilen adjuvan kemoterapi, yüksek fonksiyonel durumu olan bireyler için modifiye FOLFIRINOX (fluorouracil, oksaliptatin, irinotekan, leykovorin) veya daha düşük fonksiyonel durumu olan bireyler için gemcitabin ve kapesitabin ya da sadece gemcitabin içermektedir (92). Adjuvan tedavi olarak radyoterapinin rolü tartışmalıdır. Eski çalışmalar, PDAC için adjuvan radyoterapiyi desteklememektedir çünkü genel sağkalım avantajı gösterilmemiştir (93).

Neoadjuvan tedavi, yani preoperatif tedavi, okült metastatik hastalığı ortadan kaldıracak ve sistemik tedaviye uygun hasta sayısını artırabilir. Bu, önemli bir oranda

hastanın operasyonel morbidite nedeniyle adjuvan tedavi alamadığı düşünüldüğünde önemlidir. Yapılan çalışmalarda FOLFIRINOX tedavisi ile ameliyat öncesinde olası bir evre düşüşü sağlayarak negatif cerrahi sınır ile rezeksiyonu kolaylaştırdığı gösterilmiştir (94).

Lokalize PDAK'da radyoterapinin rolü belirsizliğini korumakta ve devam eden araştırmalarda değerlendirilmektedir. Neoadjuvan kemoradyoterapi, yapılan bir çalışmada faz 3 denemesinde potansiyel yarar göstermiştir. Başka bir çalışmada ise genel sağkalım avantajı gözlemlenmiştir. Stereotaktik radyoterapinin neoadjuvan modifiye FOLFIRINOX'a eklenmesi medyan genel sağkalımı iyileştirmemiştir (95,96). Güncel kılavuzlar, lokal ileri pankreas kanseri durumlarında neoadjuvan kemoterapiyi radyoterapi ile veya radyoterapisiz bir seçenek olarak desteklemektedir (97).

Rezeke edilebilir PDAK'de neoadjuvan tedavinin yararı değerlendirilme aşamasındadır. Neoadjuvan tedavinin potansiyel sınırlamaları arasında çoğu hastada büyük bir tümör yanıtının olmaması yer almaktadır. Yetersiz tümör yanıtı, tümörün ilerlemesini kolaylaştırabilir ve tümörün tamamen çıkarılma fırsatını ortadan kaldıracaktır. Ayrıca neoadjuvan tedavi, multidisipliner tedavi planlamasına ek karmaşıklık getirir (94).

Lokal ileri pankreas kanseri, tanı anında inoperabl bir hastalıktır ve hastaların yaklaşık %80'inde neoadjuvan tedaviye yeterli yanıt alınamamakta ve cerrahi rezeksiyon için uygun hale gelmemektedir. Hastalık kontrolünü sağlamak amacıyla, başlangıç tedavisi genellikle modifiye FOLFIRINOX veya paklitaksel ve gemcitabin gibi kemoterapi rejimlerini içerir (5).

Metastatik pankreas kanserinde çoklu sitotoksik rejimler, herhangi bir tedavi almayan hastalara göre sağkalımı iyileştirmiştir. Mevcut standart ilk basamak rejimler, metastatik hastalığı olan hastalar için gemcitabin ve paklitaksel veya modifiye FOLFIRINOX'u içermektedir (5).

Multidisipliner bir ekip tarafından sağlanan destekleyici bakım, PDAK'un terapötik yönetimiyle entegre edilmelidir; böylece yaşam süresi, yaşam kalitesi ve semptom kontrolü maksimize edilir. Özellikle beslenme, ağrı yönetimi, trombozların



yönetimi, psikososyal ihtiyaçlar ve ileri bakım planlaması gibi konular en önemli değerlendirmeler arasında yer almaktadır (98).

## 2.5. TELOMER

Telomerler, kromozomların uçlarında bulunan kısa ardışık tekrar eden DNA dizileridir. Telomerler, çift sarmallı TTAGGG DNA'sı içeren kısa dizilerdir. Telomerler, kromozom uçlarını bozunmadan ve füzyondan koruyarak "kapak" işlevi görürler. Bir grup telomerle ilişkili protein, bu koruyucu işlevi yerine getirir; bunlar topluca shelterin proteinleri olarak adlandırılır ve telomer tekrar faktörü 1 (TRF1), telomer tekrar faktörü 2 (TRF2), telomerin korunması 1 (POT1), baskılayıcı/aktifleyici protein 1 (RAP1), TRF1 ve TRF2 ile etkileşen nükleer protein 2 (TIN2) ve TINT1/PTOP/PIP1 protein (TPP1) içerir (99). Bu yapılar, kromozomları kontrolsüz bozulmadan koruyarak genomik bütünlüğü sağlar ve telomerlerin çift sarmallı kırık tamir bölgeleri olarak uygunsuz işlenmesine yol açabilecek DNA hasar yanıtının hatalı aktivasyonunu önler (100).

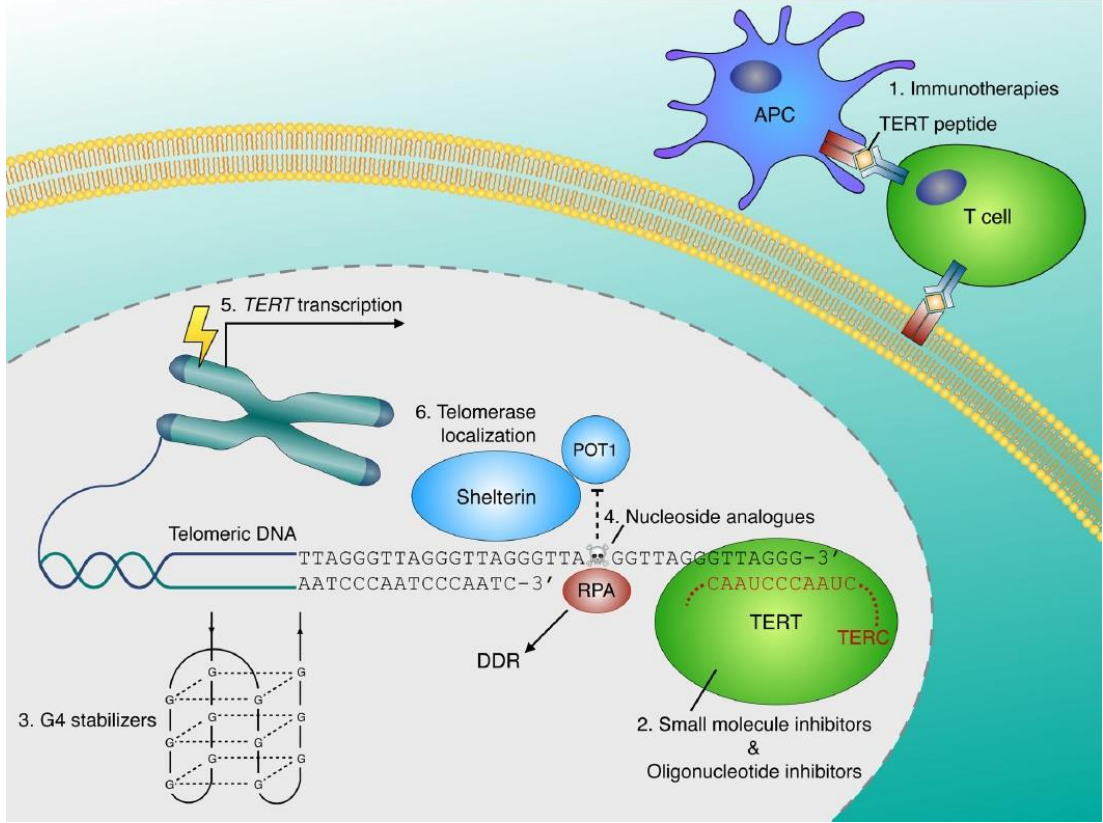
Telomeraz, telomer uzunluğunu korumaktan sorumlu bir ribonükleoproteindir. Telomerazın çekirdeği iki bileşenden oluşur: Katalitik telomeraz ters transkriptaz (TERT) ve telomeraz RNA (TERC) (99). Telomer kısalması, telomeraz ribonükleoprotein kompleksi tarafından TERT katalitik aktivitesi yoluyla 3' çıkıntısını uzatarak dengelenebilir. TERT, tek sarmallı TTAGGG tekrarlarını sentezlemek için bir RNA şablonu (TERC) kullanır (101). Gelişim sırasında TERT ifadesi susturulur, TERC ve diğer telomeraz bileşenleri ise sürekli olarak eksprese edilir. Sonuç olarak, somatik insan hücrelerinde telomeraz aktivitesi için genellikle sınırlayıcı faktör olarak TERT seviyeleri rol oynar, ancak bazı kanserlerde ve kök hücrelerde TERC sınırlayıcı olabilir. TERC seviyelerinin serviks, over, baş ve boyun, ve akciğer kanserleri gibi belirli kanser türlerinde upregüle olduğu bulunmuş ve bu da potansiyel bir anti-tümör hedefi sunmaktadır (102). TERT ekspresyonunun susturulması, her hücre bölünmesiyle birlikte kademeli telomer kısalmasına neden olur. Sonuç olarak, kritik telomer aşınması bir DNA hasar yanıtını tetikler ve bu da hücre döngüsünü durdurarak replikatif yaşlanmaya veya apoptoza yol açar; bu süreç p53 veya Rb tümör baskılayıcı yolları aracılığıyla gerçekleşir (103).

Kanserlerin büyük çoğunluğu TERT ekspresyonunu artırarak ve dolayısıyla telomeraz aktivitesini yükselterek replikatif yaşlanmayı aşar; telomeraz aktivitesi kanserlerin yaklaşık %90'ında rapor edilmiştir. Ancak, bu, telomeraz reaktivasyonunun kanserlerdeki yaygınlığını tam olarak yansıtmayabilir, çünkü minimal TERT ekspresyonu telomerlerin korunması için yeterli olabilir (100).

Yüksek telomeraz ekspresyonu ve aktivitesi, kanser hücrelerinde yaygın olarak gözlemlenirken, çok az sayıda, örneğin hematopoietik, epidermal ve gastrointestinal hücrelerde düşük telomeraz seviyeleri bulunur. Bu durum, telomerazı terapötik olarak hedefleme çabalarını önemli ölçüde artırmıştır (99).

### **2.5.1. Telomerazı Hedef Alan Antikanser Stratejiler**

Telomerazın kanser hücrelerindeki rolünü hedef alarak tedavi edici potansiyel taşıyan yöntemler geliştirilmiştir. Bunlar TERT tümörle ilişkili antijenlerini tanıyan immünoterapiler, telomeraza doğrudan bağlanarak telomer uzamasını baskılayan küçük molekül inhibitörleri, telomeraza bağlanan ve telomer uzamasını engelleyen oligonükleotidler, telomerazın işlevini bozarak telomer uzunluğunu kontrol eden G-Kuadrupleks stabilizasyonu yöntemleri, TERT geninin ekspresyonunu engellemeye yönelik stratejiler, Yeni uzatılmış telomerlere entegre olarak telomer disfonksiyonuna yol açan nukleozid analoglarının kullanımı yöntemleridir. Bu yöntemler Şekil 2.4'te özetlenmiştir (100).



Şekil 2.4. Telomerazı hedef alan terapötik stratejiler:

1. İmmünoterapiler – Peptid veya DNA aşılı, telomerazı eksprese eden kanser hücrelerine karşı immün yanıtları uyuracak immunojenik TERT epitopları sağlar. Adaptif hücre transfer terapileri, telomeraz-spesifik sitotoksik T-hücrelerinin infüzyonunu içerir.
2. Doğrudan telomeraz inhibitörleri – Küçük moleküller, TERT'e bağlanabilir ve katalitik aktivitesini inhibe ederek telomerlerin kademeli olarak kısalmasına neden olabilir. Alternatif olarak, TERC şablon bölgesine komplementer olan oligonükleotidler rekabetçi telomeraz inhibitörleri olarak hareket edebilir.
3. G-kadrupeks (G4) stabilizatörleri – Telomerik G-kadrupeks DNA'sının çözülmesini engelleyerek telomeraz fonksiyonunu bozar.
4. Nükleozid analoglarının yeni sentezlenmiş telomerlere dahil edilmesi – POT1 bağlanmasını bozar, telomer disfonksiyonu yaratır ve bu da DNA hasar yanıtı ve hücre ölümüne yol açar.
5. TERT gen ekspresyonunun hedeflenmesi – TERT promotor mutasyonları (TPM'ler), kanserde TERT ekspresyonunu yeniden aktive eden ETS transkripsiyon faktörleri için yeni bağlanma bölgeleri oluşturur. Mutant TERT promotorunun düzenlenmesini hedeflemek, ortaya çıkan bir yaklaşımdır.
6. Telomeraz lokalizasyonunun bozulması – TCAB1 ve shelterin alt birimleri tarafından aracılığıyla telomerazın çekilmesinin engellenmesi, telomer disfonksiyonuna yol açar (100).

## İmmünoterapiler

Telomerazı hedef alan immünoterapilerin geliştirilmesi, telomerazın geniş şekilde ifade edilen bir tümörle ilişkili antijen olarak tanımlanmasıyla başlamıştır. Kanser hücreleri tarafından üretilen endojen TERT peptidleri, majör histokompatibilite kompleks (MHC) sınıf I veya II molekülleri tarafından tanınabilir ve adaptif immün yanıtları tetikleyebilir. Telomeraz ilişkili immünoterapiler arasında

aşular, adaptif hücre transferi ve tartışmalı olarak onkolitik viroterapi bulunmaktadır (100).

Terapötik TERT bazlı aşular, yüksek oranda kanser hastasında spesifik T-hücre yanıtlarını aracı olarak kullanabilir. Örneğin, TERT peptid aşısı UV1, bir faz I/IIa denemesi sırasında metastatik hormon-naif prostat kanseri olan hastaların %86'sında immün yanıt oluşturmuştur. Ancak, TERT aşularına karşı immün yanıtlar, hastalığın ilerlemesini kontrol etmek için yetersiz kalmıştır. Dört aşı faz II denemelerine geçmiştir ve bunlardan biri TERT aşısı (GV1001) faz III'e yükseltilmiştir. GV1001'in ileri evre pankreas kanseri hastalarında yapılan faz III denemesi, kemoterapiye kıyasla herhangi bir sağkalım avantajı göstermemiştir. Aşuların aksine, immün kontrol noktası inhibitörleri, hastaların bir alt grubunda güçlü anti-tümör immün yanıtlar ortaya çıkararak birçok kanserde hasta sonuçlarını dramatik şekilde iyileştirmiştir (104,105).

### **Oligonükleotid İnhibitörleri**

Telomerazın kanser hedefi olarak uzun bir geçmişi vardır ancak doğrudan telomeraz inhibitörü olarak sadece imetelstat klinik denemelere geçmiştir. Imetelstat, TERC şablon bölgesini tamamlayan ve telomeraz aktivitesini rekabetçi bir şekilde inhibe eden lipidlenmiş 13-mer tiyo-fosforamidat oligonükleotididir. Imetelstat, DNA hasar yanıtını aktive ederek ve hücre ölümüne yol açarak kademeli telomer aşınmasını destekler (106). Solid tümörleri olan hastalar üzerindeki klinik denemelerde, trombositopeni ve nötrojeni gibi doz sınırlayıcı hematolojik yan etkiler ortaya çıkmıştır. Ayrıca, ileri evre küçük hücre dışı akciğer kanseri hastalarında yapılan faz II denemesinde, progresyonsuz sağkalım (PFS) veya genel sağkalım (OS) açısından bir iyileşme gözlemlenmemiştir, ancak kısa telomerlere sahip hastalarda iyileşme eğilimi gözlemlenmiştir. Bu sonuçlara dayanarak, imetelstat miyeloproliferatif bozukluklar için yeniden kullanıma alınmıştır (107,108).

### **Küçük Moleküllü İnhibitörler**

Oligonükleotid ve immünoterapötik yaklaşımlar telomeraz hedeflemede klinik gelişimde en fazla ilerleme kaydeden moleküller olup BIBR1532 gibi küçük molekül inhibitörleri ile umut verici prelinik sonuçlar ortaya koyulmuştur. BIBR1532, kanser hücrelerinde progresif telomer kısalması ve uzun süreli tedavi sonrası replikatif yaşlanma sağlayan bir telomeraz inhibitörüdür. BIBR1532'nin klinik

uygulanabilirliğini sınırlayan kötü farmakokinetik özelliklerine rağmen, BIBR1532 bağlanma bölgesinin çözülmesi, daha etkili ve biyoyararlanımı yüksek telomeraz inhibitörlerinin oluşturulabilmesine yardımcı olabilir (109).

### **G-Kuadrupleks Stabilizatörleri**

G-Kuadrupleks yapılar, dört guanin bazının hidrojen bağları ve kation koordinasyonu aracılığıyla stabilize edilmiş, düzlemsel ve istiflenmiş tetradları içeren ikincil nükleik asit yapılarına verilen isimdir. Bu G-Kuadrupleks yapılar, guanin açısından zengin DNA veya RNA dizilerinde, özellikle telomerlerde oluşabilir. Bu yapılar, dört guanin bazının kare şeklinde düzlemsel bir düzenlemede hidrojen bağları ile birbirine bağlandığı guanin tetrad yığınlarını içerir (110).

İnsan telomer DNA'sı, kromozomların uçlarında G-zengin iplikçiklerin 3' ucunda bir genişleme ile 5'-TTAGGG-3' dizisinin ardışık tekrarlarından oluşur. Telomer uzunluğunun her hücre bölünmesiyle kısalması, normal somatik hücrelerin proliferatif potansiyelini sınırlar. Aksine, insan tümör hücrelerinin %80–85'inde, fonksiyonel telomeraz telomer DNA'sını uzatarak ölümsüz hücre büyümesine yol açar. Telomerik G-Kuadrupleks gruplar, telomer uzamasından önce DNA helikazları tarafından çözülür. İnsan telomer G-kuadrupleksi, telomerazın bir substrat olarak işlev görmesini engellediği için telomeraz aktivitesini inhibe eder; bu nedenle, G-kuadrupleksin indüksiyonu veya stabilizasyonu yoluyla telomeraz aktivitesini inhibe eden G-kuadrupleks bağlayıcılarının geliştirilmesi büyük bir ilgi alanı haline gelmiştir. G-kuadruplekse bağlanan ligandların spesifik olması gerekmektedir çünkü genomik DNA'daki dsDNA'ya herhangi bir özgül olmayan bağlanma yan etkilere yol açabilir (111). Tek sarmallı telomerik DNA'nın dörtlü bir yapı oluşturması, telomeraz enziminin inhibe edilmesine yol açarak apoptoz yolları aracılığıyla hücre ölümünü etkiler. Telomerazın ekspresyon düzeyleri, kanserin ilerlemesi ve metastatik durumlarla ilişkilidir ve kanser hücrelerinin büyümesini düzenleme potansiyeli olduğu gösterilmiştir. Literatürde, G-Kuadrupleksleri stabilize eden küçük moleküller arasında alkaloidler, flavonoidler, porfirinler, antrakınonlar ve antrasiklinler gibi bileşikler değerlendirilmektedir (112).

G-Kuadrupleks stabilizatörleri, ön klinik çalışmalar sırasında antikanser etkiler göstermiştir, ancak klinik geliştirme süreçleri sınırlı kalmıştır. Örneğin, telomestatin

adlı G-Kuadrupleks stabilizatörü, lösemi ksenograft modellerinde telomeraz aktivitesini ve tümör büyümesini inhibe etmiştir. Ancak, bu tür bileşiklerin emilimi genellikle sınırlıdır. Gelecekte umut vaat eden bir diğer örnek olan BRACO-19, bir rahim kanseri hücre dizisinde (UXF1138L) telomerlerin belirgin şekilde kısaldığını göstermiştir (113).

G-kuadrupleks stabilizasyonu, genom kararsızlığını artırır ve G-kuadrupleks stabilizasyonunun sitotoksik etkisi, DNA hasarı biriken hücrelerde artar. Bu durum, tümörün mutasyon yükünün G-kuadrupleks ligand tedavisinin sonucunu etkileyip etkilemediği sorusunu gündeme getirir. G-kuadrupleks ile uzun tedavi sürecinde G-kuadrupleks oluşumunun nasıl değiştiği ve bunun tümör nüksünü destekleyip desteklemediği gibi sorunlar mevcuttur. G-kuadrupleks manzarasının tedavi sırasında değişip değişmediği ve bunun, tümör nüksünü destekleyen genom kararsızlığına katkıda bulunup bulunmadığı sorusu önemlidir (110).

### **Nükleosid Analogları**

Telomeraz katalitik aktivitesini hedefleyen nükleosid analogları, telomerlerin kademeli olarak kısalmasını sağlar ve bu da DNA hasar yanıtını tetikleyerek hücre yaşlanmasına ve ölümüne yol açar. Ancak, uzun süreli telomeraz inhibisyonu hematolojik toksisiteler oluşturabilir ve bazı kanser hücreleri, telomer kısalmasını aşacak alternatif mekanizmalar geliştirebilir (100).

6-tio-2'-deoksiguanozin (6-thio-dG) ve 5-fluoro-2'-deoksiuridin (5-FdU) gibi nükleosid analogları, telomeraz eksprese eden hücrelerde hızla telomer disfonksiyonu ve hücre ölümüne neden olur. Bu ajanlar, shelterin kompleksinin telomerik DNA'ya bağlanmasını engeller ve DNA hasar yanıtını aktive eden “kapaksızlaştırıcı ajanlar” olarak işlev görürler. Bu telomer kapaksızlaştırıcı ajanlar, normal hücrelere minimal zarar verirken, telomeraz eksprese eden kanser hücrelerinin büyümesini engeller ve fare ksenograftlarında tümör küçülmesine neden olur. Sonuç olarak, telomer kapaksızlaştırıcı ajanlar, telomer uzunluğu heterojenliğinden bağımsız olarak kanser tedavisinde potansiyel bir strateji sunar ve bu ajanların toksisiteleri sınırlıdır. Ancak, nükleosid analoglarının telomer kapaksızlaştırma mekanizmalarının daha fazla araştırılması gerekmektedir (114,115).

## **TERT Gen Ekspresyonunu Hedefleme**

TERT ekspresyonu, zengin bir promotör tarafından düzenlenir ve çoğu kanserde telomeraz yeniden eksprese edilerek hücrelerin ölümsüzlüğü sağlanır. Kanserlerin %15-25'inde TERT promotör mutasyonları (TPM), telomerazı yeniden aktive eder. TPM'lerin kazanılmasının farklılaşmış bir hücrede telomerazı aktive etmek için yeterli olduğu gösterilmemiştir ve yeniden aktivasyonun MAPK yolundaki eşzamanlı mutasyonlar gibi diğer gereksinimleri olabilir (116). TPM'ler tümör evriminde erken ortaya çıkar; örneğin, melanomda, TPM'ler iyi huylu bir nevustan (aktif MAPK sinyalleme ile) malign melanomaya geçişte ortaya çıkar (117). hTERT ekspresyonu ve telomeraz aktivitesi, PDA'da belirgin şekilde yüksek telomeraz aktivitesi gösteren pankreas kanserlerinde artmıştır. PDA'da aktif telomerazın yüksek insidansı, telomerazı hedeflemenin bu hastalığın tedavisi için umut verici bir strateji olduğunu göstermektedir (118).

## **Telomerazın Lokalizasyonu ve Katalizinin Düzenlenmesi**

Telomeraz holoenzim kompleksi, telomerazın nükleer taşınmasını düzenleyen ve TERC CR4/5 RNA bölgesinin konformasyonunu kontrol ederek telomeraz aktivitesini teşvik eden bir RNA iskelet proteini olan Telomeraz Cajal Body Protein 1 (TCAB1)'i içerir. TCAB1 kaybı, telomerazın hücre çekirdeğindeki yerleşimini bozarak telomer uzamasını engeller. Ayrıca, TCAB1'in eksikliği ksenograft tümörlerin büyümesini baskılar, bu da TCAB1'in olası bir antikanser hedefi olabileceğini düşündürür (100,119).

Shelterin kompleksi, telomeraz aktivitesini düzenleyen ve 3' telomerik uzantıyı izole ederek kromozom uçlarını DNA hasar yanıtı (DDR) sürecine girmesini engelleyen altı alt birimden (TRF1, TRF2, POT1, RAP1, TIN2 ve TPP1) oluşur. Shelterin bileşenlerinin genetik olarak yok edilmesi, telomerlerin korunamaması nedeniyle telomer fonksiyon bozukluğuna yol açar. Shelterin bileşenlerini hedef almak telomer fonksiyon bozukluğunu tetiklese de, bu etkilerin telomeraz eksprese eden kanser hücreleri için ne kadar spesifik olacağı belirsizdir (120).

## 2.6. FTALOSİYANİNLER

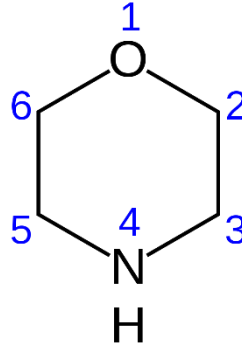
Ftalosiyeninler, dört izoindol grubunun azot atomlarıyla bağlandığı, 16 üye içeren ve delokalize 18  $\pi$  elektron sistemine sahip, iki boyutlu makrosiklik bileşiklerdir. Bu bileşikler, merkezdeki hidrojen atomları yerine çeşitli metal, yarı metal ve ametal atomlarının yerleştirilmesiyle "metallo-ftalosiyeninler" olarak adlandırılır ve "MPc" kısaltmasıyla sembolize edilir. Burada "M" harfi, kullanılan metali temsil eder; örneğin, çinko ftalosiyenin "ZnPc" olarak tanımlanır. Ayrıca, ftalosiyenin halkasında 16 potansiyel süstitüsyon yeri bulunur. Bu yerlerden 2, 3, 9, 10, 16, 17, 23 ve 24 numaralı konumlar çevresel (periferel) olarak adlandırılırken, 1, 4, 8, 11, 15, 18, 22 ve 25 numaralı konumlar çevresel olmayan (nonperiferel) olarak nitelendirilir (121).

Antrakininon türevleri, yaklaşık elli yıldır antikanser tedavisinde kullanılmaktadır. Ftalosiyeninler, aromatik yapıları ve geniş  $\pi$ -elektron sistemleri sayesinde, kimyasal, termal ve fotografik stabiliteye sahip yoğun renkli ve sağlam moleküllerdir. Antrakininonların telomerik G-Kuadrupleks DNA ile etkileşimleri, kanser tedavisinde umut verici bir araştırma alanı olarak öne çıkmaktadır. Bu moleküller, DNA ile etkileşime girme kapasiteleri nedeniyle büyük bir öneme sahiptir. Doksorubisin, bu antikanser ajanları arasında en bilinen örnektir. Doksorubisinin 2000'den fazla analogu sentezlenmiştir ve bu analoglar, G-Kuadrupleks DNA segmentlerine bağlanabilme ve interkalasyon yapabilme özellikleri göstermektedir (122).

### 2.6.1. Morfolin Bileşikleri

Morfolin, altı üyeli heterosiklik bir bileşiktir. Tetrahidro-1,4- oksazin yapısına ve  $O(CH_2CH_2)_2NH$  kimyasal formülüne sahip organik bir kimyasal bileşik olan bu heterosiklik yapı hem amin hem de eter fonksiyonel gruplara sahiptir. (Şekil 2.5). Morfolin, 1935 yılında ABD'de ticari olarak temin edilmiş, farmakolojik ve endüstriyel uygulamadaki geniş uygulama alanı nedeniyle popüler bir heterosiklik çekirdek haline gelmiştir (123).





**Şekil 2. 5:** Morfolin'in yapısı

### **Morfolin'in Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri**

Morfolin higroskopik, zayıf bazik yapıya sahip yağlı ve uçucu bir sıvıdır. Karakteristik bir amin kokusu ile birlikte; erime noktası  $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ , kaynama noktası  $129\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'dir. Metanol, etanol, aseton, eterler ve alkol gibi birçok organik çözücüyle ve su ile karışabilir, ancak alkali çözücülerde sınırlı çözünürlüğe sahiptir. Isıtıldığında toksik azot oksitlere ayrılmakta ve güçlü oksitleyicilerle şiddetli reaksiyona girerek yangın tehlikesine neden olmaktadır (124).

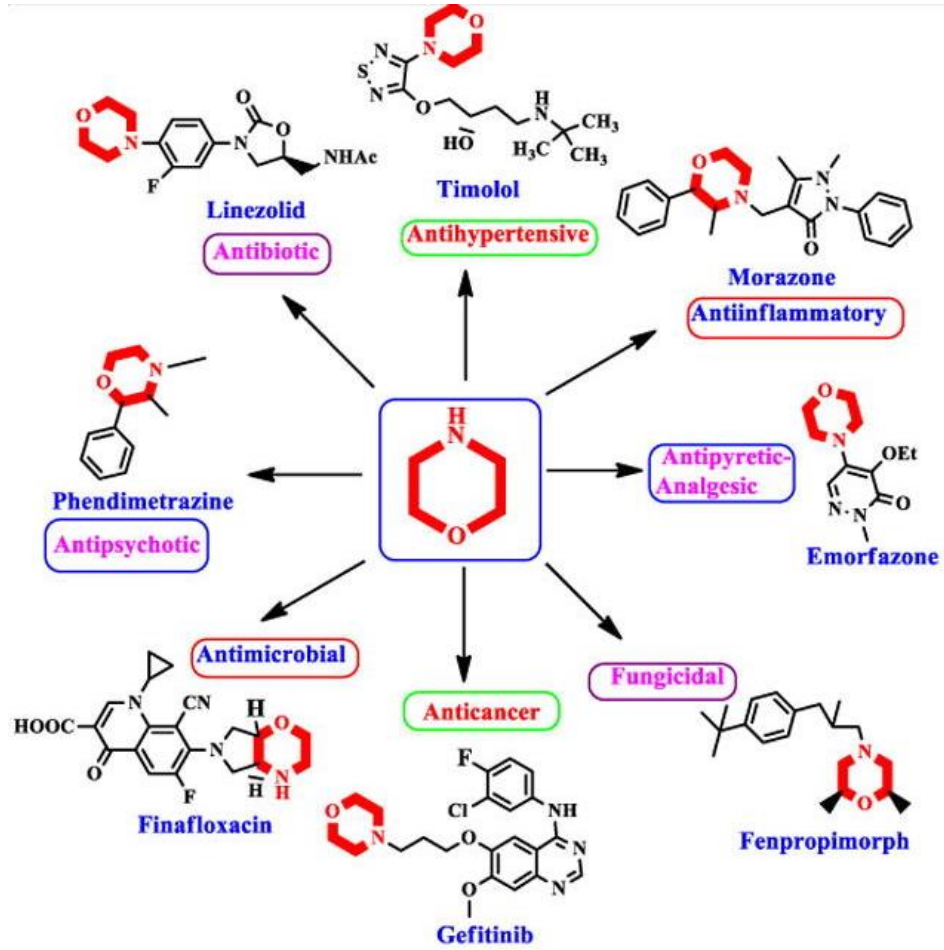
Morfolin, hidrojen ile indirgeyici bir şekilde dietilen glikolün amonyaklanması, dietanolamin'in güçlü bir asit (oleum) ile dehidrasyonu ve bis (2-kloroetil) eterin fazla amonyak ile ısıtılması yoluyla hazırlanabilmektedir. Bisiklo amino eterin yanı sıra ikincil bir amin olarak bilinmektedir. 1,4-dioksanda yer alan oksijen atomununun, azot atomu ile yer değiştirdiği formdur.

### **Morfolin'li Bileşiklerin Kullanım Alanları**

Morfolin türevi bileşikler, çeşitli hastalıkların tedavisinde önemli bir rol oynamaktadır. Morfolin türevleri yaygın olarak analjezikler, anti-enflamatuar, antikanser, antidepresan, HIV-proteaz inhibitörleri, antimikrobiyal, anti-viral ajanlar vb. olarak kullanılmaktadır. Endüstriyel uygulamalarda ise katalizör, korozyon önleyici, ayırıcı madde, optik parlaticılar, kauçuk kimyasalları, balmumu emülgatörü ve yüzey aktif maddeler olarak görev yapmaktadır. (Şekil 2.6) (125).

Büyük enzim ve hormonal inhibitör havuzunun morfolin halkasına sahip olduğu bildirilmektedir. Yani seçici norepinefrin inhibitörü, insan epidermal büyüme

faktörü reseptörü kinaz inhibitörü, glukozidaze inhibitörü, P38 MAP kinaz inhibitörü, fosfoinositidin-3-kinaz inhibitörü, FLT3 kinaz inhibitörü, üreaz inhibitörü, sistein proteaz inhibitörü, dopamin reseptör inhibitörü, seçici SV2 reseptör inhibitörü 5-lipooxygenase inhibitörü, A431, HS27, HT29, KV, K562 insan kanser hücresi büyümesini baskılayıcı inhibitörü vb (126–128).



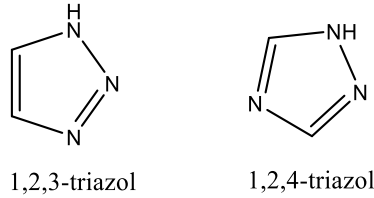
Şekil 2.6: Morfolin halkası içeren bileşiklerin kimyasal yapıları (125).

Farklı bir etki mekanizmasına sahip yeni morfolin türevlerinin geliştirilmesi gerekmektedir. Çeşitli morfolin türevlerinin antikanser aktivitesi, araştırmacılar tarafından geniş çapta araştırılmıştır. Ayrıca, morfolin grupları, kanser ilacı geliştirmede kanser seçici gruplar olarak yer almaktadır. Morfolin kısımları ile substitüe edilmiş birkaç ftalosiyanın rapor edilmiştir. PDT ile aynı ilkelere dayanan fotodinamik antimikrobiyal kemoterapi için bir fotoduyarlaştırıcı olarak morfolin grupları taşıyan MPC'nin etkinliği hakkında bir dizi araştırmalar mevcuttur (129,130).

## 2.6.2. Klik Kimyası

Bilimsel son gelişmelere uygun biyolojik işlev arayışı, bir dizi ilaç gibi moleküllerin sentezini hızlandırmak gibi nedenlerle Sharpless ve arkadaşları tarafından önerilmiştir. “Klik Kimyası” terimi 2001 yılında Kolb, Finn ve Sharpless tarafından, heteroatomlar yoluyla küçük birimlerin bir araya getirilmesi sonucu kompleks maddelerin üretilmesi olarak tanımlanmıştır. “Klik” reaksiyonunda, kolayca bulunabilen reaktiflerin kullanılması, basit reaksiyon koşulları gerektirmesi, çözücü kullanılmaması veya çevreye zararlı olmayan çözücülerin kullanılması, zararlı yan ürünler oluşturmaması, yüksek verimli, kristallendirme gibi kromatografik olmayan yöntemlerle bileşiklerin saflaştırılabilir olması önemli özellikleridir (131,132).

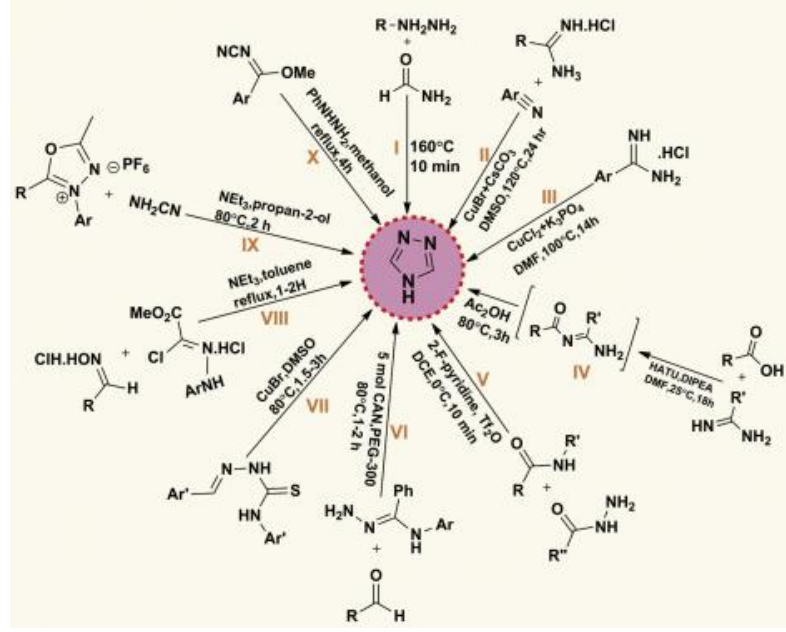
Klik reaksiyonu sonucu oluşan triazol halkası, azoller sınıfının bir üyesidir, üç tane azot atomu içeren beş halkalı,  $C_2H_3N_3$  kapalı formülüne sahip heterosiklik bileşiklerin en çok bilinenlerindedir. Birbiri ile izomer olan 1,2,3- ve 1,2,4- olmak üzere iki tane triazol halkası vardır, bu halkaların yapıları Şekil 2.7’de gösterilmiştir. Bu bileşiklerin sentezleri için farklı yöntemler geliştirilerek, biyolojik aktiviteleri incelenmiştir (133).



**Şekil 2.7:** Triazol izomerlerinin yapıları

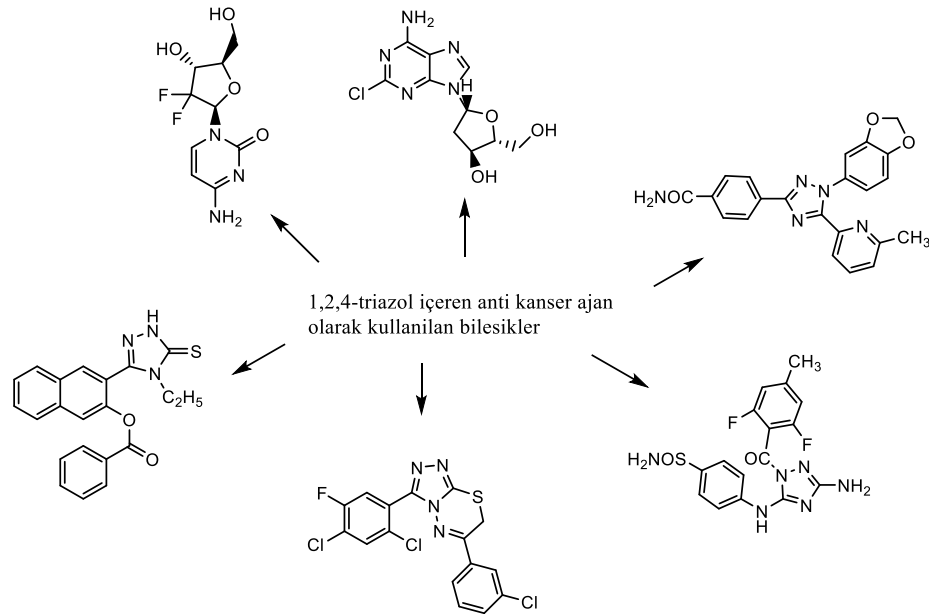
1,2,3-triazol izomerinin sentezi için, Huisgen reaksiyonuna göre bakır katalizli (CuAAC) veya rutenyum katalizli (RuAAC) olarak azid-alkin siklokatılması gerçekleştirilir.

1,2,4-triazol izomerinin sentezi için birçok yöntem geliştirilmiştir. Şekil 2.8’de 1,2,4-triazolün sentezi için farklı yöntemler verilmiştir (134,135).



Şekil 2.8: 1,2,4- triazol sentezi için farklı yöntemler (134)

1,2,3- ve 1,2,4,- triazollerin anti tümör, anti inflamatuvar, anti HIV, anti tüberküloz, anti fungal, anti mikrobiyal ve anti oksidan gibi farklı farmakoljik ve klinik uygulamaları çalışılmıştır. Şekil 2.9’da gösterilen bileşikler antikanser ajan olarak kullanılmaktadır. Günümüzde triazol halkasına sahip pek çok bileşik ilaç etken maddesi olarak kullanılmakta, çalışmalar devam etmektedir.



Şekil 2.9: Anti kanser olarak kullanılan triazollü ajanlar

## Triazol Halkası İçeren Ticari İlaçlar

Günümüzde ilaç etken maddesi olarak kullanılan triazol halkasına sahip birçok bileşik vardır. Nitrofuriltriazoller idrar yolu antibakteriyel aktiviteye sahip olup  $\alpha$ -amino- $\alpha$ -fenil-o-tolil-1,2,4-triazoller antiepileptik etki gösteren maddelerdir. 1,2,4-triazol türevleri, antifungal ve antiviral gibi önemli farmakolojik aktivitelere sahiptirler. Flukonazol, itrakonazol, ravukonazol, vorikonazol, posakonazol mantar önleyici ilaç örnekleridir. Farklı 1,2,4-triazol türevlerinin, insektisitler, antikonvülzanlar, antidepresanlar, antiinflamatuvar ve bitki büyüme düzenleyici olarak etkiler gösterdiği rapor edilmiştir. Meme kanserini önleyebilen oldukça etkili aromataz inhibitörlerinin, vorozol, letrozol, anastrozol gibi triazol gruplara sahip bileşiklerde olduğu belirlenmiştir.

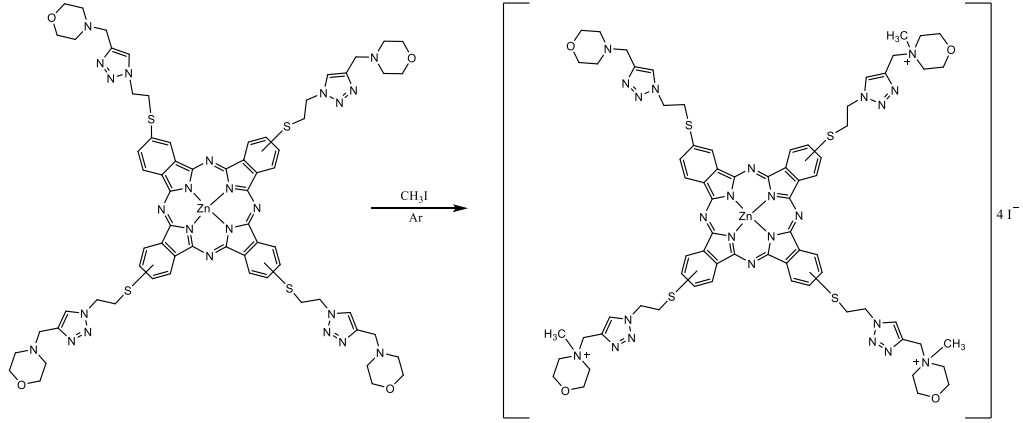
Kükürt süstitüeli 1,2,4-triazol türevleri antibakteriyel, antifungal, antitüberküler, antimikrobakteriyel, antikanser, diüretik ve hipoglisemik özelliklere sahiptir.

Ribavirin, DNA ve RNA virüslerine karşı antiviral aktivite gösterir. İnsan T lenfositlerine anti HIV özellik gösterir. İzopropiliden ribavirin, birkaç virüsün inhibitörünü gerçekleştirir. Maraviroc, HIV enfeksiyonu tedavisinde antiretroviral bir ilaçtır. Deferasirox, kronik anemiler için tasarlanmış bir ilaçtır (133).

Bizim çalışmamızda da Pamukkale Üniversitesi Biyomedikal Mühendisliği ve Teknoloji Fakültesi'nde sentezlenen, suda çözünebilir özellikte olan ve G-Kuadrupleks DNA'ya bağlanma enerjileri yüksek olarak tespit edilen 5 farklı ftalosyanin türevi (p-kuaternize ZnPc, np-kuartenize ZnPc, p-iyonik sıvı, Q-p-ZnPc, Q-np-ZnPc) molekülünün pankreas kanseri hücre hatlarında etkinlikleri araştırılmıştır. Bu moleküllere sırasıyla AC-1, AC-2, AC-3, MC-1, MC-2 isimleri verilmiştir.

## AC-1 (Q-p-ZnPc-I) Bileşiminin Sentezi

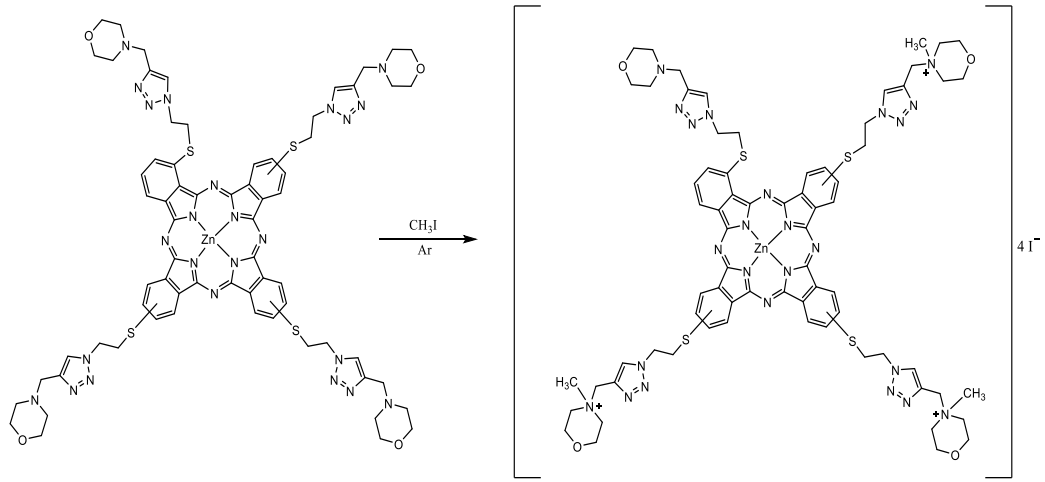
**p-ZnPc-I** bileşiminin (0,0243 mmol; 0,036 g) kloroform (5 ml) içerisindeki çözeltisine metilyodür (5 ml) eklenerek 5 gün argon atmosferinde, oda sıcaklığında karıştırıldı. Süre sonunda oluşan katılar süzülerek sırasıyla kloroform, etil alkol, etil asetat ve aseton ile yıkandı. Yeşil renkli katı **Q-p-ZnPc-I** bileşiği vakumlu etüvde kurutuldu. Verim 0,04 g (%80,25). (136)



Şekil 2.10 : Q-p-ZnPc-I bileşiminin sentezi

## AC-2 (Q-*np*-ZnPc-I) Bileşiminin Sentezi

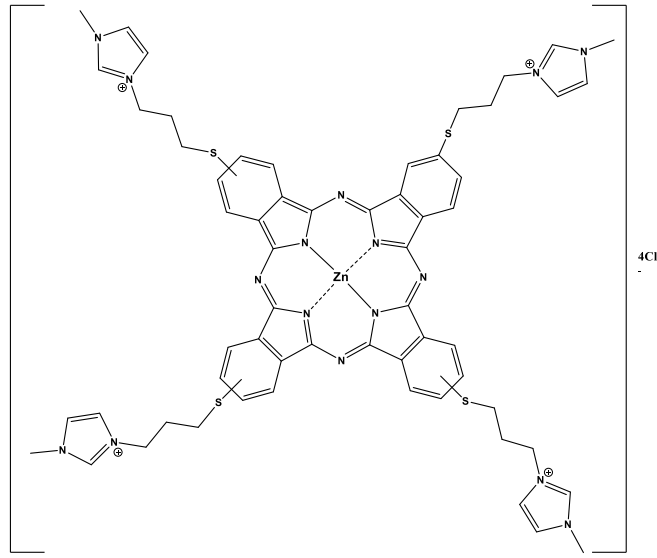
*np*-ZnPc-I bileşiminin (0,11 mmol; 0,16 g) kloroform (24 ml) içerisindeki çözeltisine metiliyodür (12 ml) eklenerek 5 gün argon atmosferinde ve oda sıcaklığında karıştırıldı. Süre sonunda oluşan katılar gooch krozeden süzülerek sırasıyla kloroform, etil alkol, etil asetat ve aseton ile yıkandı ve yeşil renkli **Q-*np*-ZnPc-I** bileşiği elde edildi. Verim 0,205 g (%91). (136)



Şekil 2.11 : Q-*np*-ZnPc-I bileşiminin sentezi

### AC-3 (Q-p-ZnPc-II) Bileşiminin Sentezi

Bir Schlenk tüpüne (0,51 mmol; 0,162 g) 3-(3-((3,4-dicyanophenyl)thio)propyl)-1-methyl-1H-imidazol-3-ium klorür bileşiği, (0,18 mmol; 0,033 g)  $Zn(CH_3COO)_2$ , 3 ml kuru n-pentanol ve 6damla DBU damlatılarak degaz edildi. Karışım 155 °C'ye ısıtıldı ve argon atmosferinde 24 saat bu sıcaklıkta karıştırıldı. Sürenin sonunda oda sıcaklığına soğutuldu ve ohekzan ile seyreltildi. Oluşan yeşil katı gooch krozedden süzüldü, hekzan ve aseton ile yıkanarak kurutuldu.

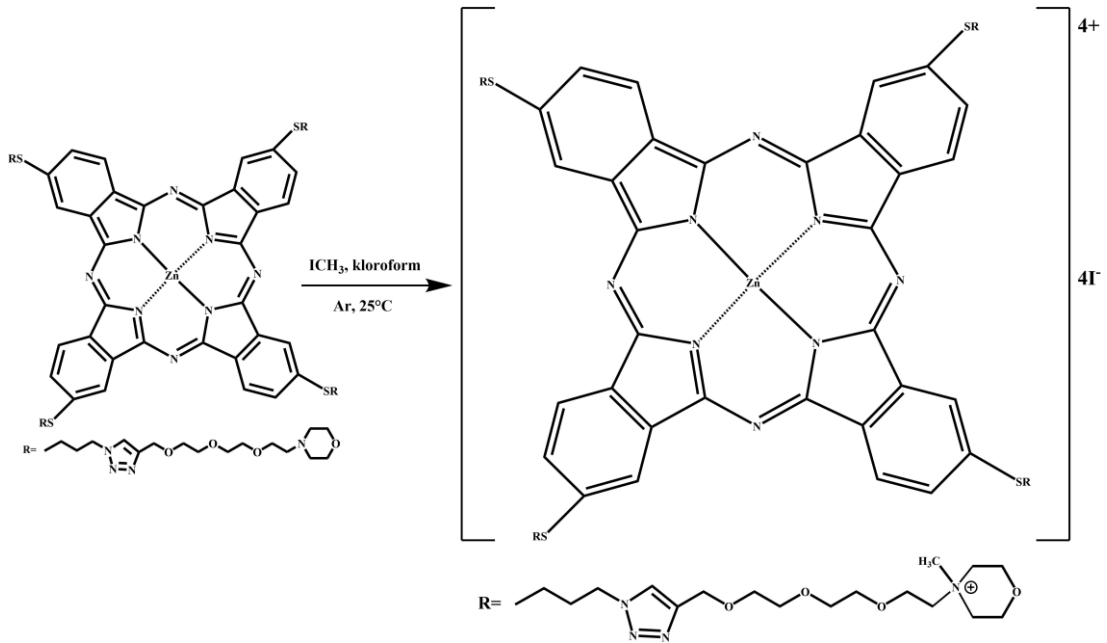


Şekil 2.12 : Q-p-ZnPc-II bileşiminin sentezi



### MC-1 (Q-p-ZnPc-III) Bileşiminin Sentezi

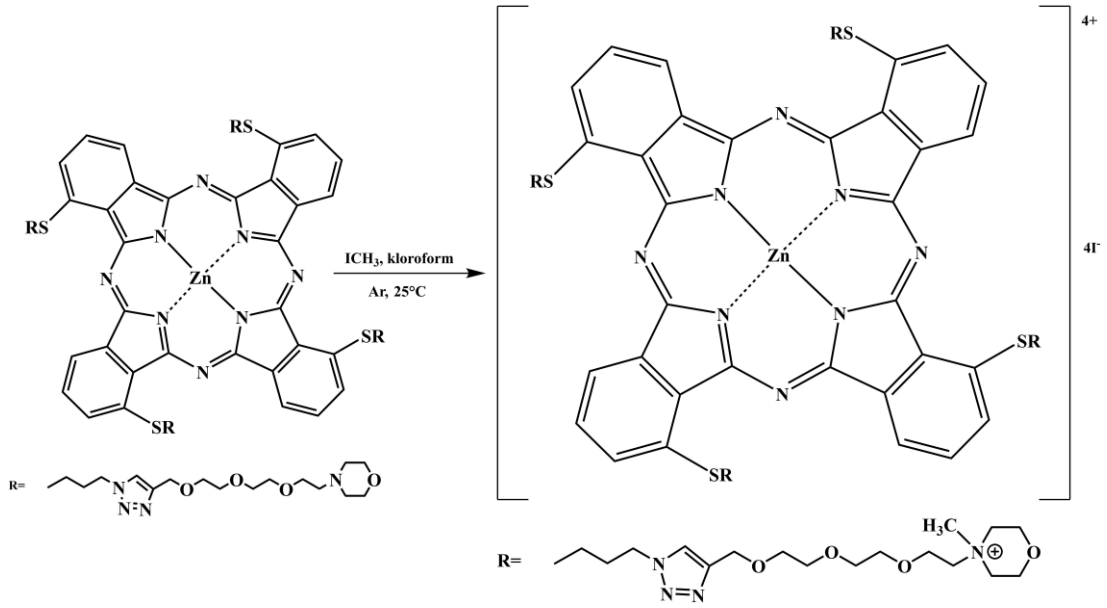
*p*-ZnPc-III bileşiminin (0.07 g; 0.034 mmol) kloroform (5 mL) içerisindeki çözeltisine iyodometan (4 mL; 63.6 mmol) eklenerek argon atmosferinde iki gece karıştırıldı. İki gecenin ardından kuaternize ftalosiyanın bileşiminin tamamen çöktüğü gözlemlendi. Oluşan yeni bileşik gooch krozeden süzülerek sırasıyla kloroform, aseton, etanol, etil asetat ve dietileter ile yıkandı. Vakumlu etüvde iyice kurutuldu. Q-*p*-ZnPc-III bileşiği suda sonsuz çözünür olarak elde edildi. Verim 0.061 g (%68.2). Erime noktası > 300 °C. (137)



Şekil 2.13 : Q-*p*-ZnPc-III bileşiminin sentezi

## MC-2 (Q-*np*-ZnPc-III) Bileşiğinin Sentezi

*np*-ZnPc-III bileşiğinin (0.13 g; 0.063 mmol) kloroform (10 mL) içerisindeki çözeltisine iyodometan (7.41 mL, 117.82 mmol) eklenerek argon atmosferinde bir gece karıştırıldı ve yeşil katının tamamen çöktüğü gözlemlendi. Oluşan katı gooch krozeden süzöldükten sonra sırasıyla kloroform, aseton, etanol, etil asetat ve dietil eter ile yıkandı. Kuaternize non-periferel çinko ftalosiyenin bileşiğı (Q-*np*-ZnPc-III) suda sonsuz çözüñür olarak elde edildi. Erime noktası > 300 °C. (137)



Şekil 2.14 : Q-*np*-ZnPc-III bileşiğinin sentezi

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1 HÜCRE KÜLTÜRÜ

Mia-PaCa-2 ve PANC-1 hücre kültürü için DMEM- yüksek glikoz (Gibco) besiyeri, %10 FBS (Gibco) ve %1 penisilin-streptomisin (Gibco) ile hazırladı ve hücreler 37°C'de, %5 CO2 ve %95 nemli hava içeren ortamda kültüre edildi. Hücreler %80 yoğunluğa ulaştığında pasajlama işlemi gerçekleştirildi. Mia-PaCa-2 hücreleri istenilen yoğunluğa ulaşmadığı ve çoğaltılamadığı için deneylere PANC-1 hücre hattı ile devam edildi.

#### 3.2 CCK8 TESTİ

Yeni sentezlenen suda çözünen maddeler AC1, AC2, AC3, MC1 ve MC2 ana stok 1mM konsantrasyonda besiyeri ile çözüldü ve farklı konsantrasyonlarda (50µM-1000 µM) hücrelerin muamelesi sonrası 24-48 ve 72 saat noktalarında hücre canlılığı açısından 3 tekrarlı olarak analizi gerçekleştirildi.

96-kuyucuklu platelere her kuyuda 10000 hücre ekildikten 24 saat sonra seri dilüsyon şeklinde 50-1000µM doz aralığında besiyeri içinde çözünen maddelere maruz kalan PANC-1 hücrelerinin canlılığı CCK8 testi (Abbkine, USA) ile incelendi. Etkilerin kantitatif hesaplamaları reaktiflere maruz kalmış kuyucuklardaki hücrelerin negatif kontrole göre canlılığını oranlayarak, in vitro doz titrasyon eğrisinden nonlineer regresyon yöntemi ile IC<sub>50</sub> konsantrasyonları hesaplanarak değerlendirildi.

Hücrelerin işaretlenmesi için;

- \* Besiyeri uzaklaştırıldı ve 100 µl taze besiyeri ile değiştirildi,
- \* 10 µL CCK8 stok solüsyonunu her kuyuya eklenecek. Negatif kontrol olarak sadece 100 µL medium içeren kuyuya 10 µL CCK8 stok solüsyonu eklendi,
- \* 37°C'de 4 saat inkübasyona bırakıldı,
- \* 450nm de absorbans ölçümü gerçekleştirildi.

#### 3.3 RNA İZOLASYONU

Total RNA izolasyonu için PANC-1 hücre hattında 5 madde uygulaması ve 1 adet kontrol grubu olmak üzere 6 farklı grup olarak kültüre edildi. Her hücre hattı için

6-well platelere her kuyucuğa 100.000 hücre ekildi ve 24 saat sonrasında her 3 kuyu 555µM AC-1, AC-2, AC-3, MC-1 ve MC-2 muameleleri ve kontrol grubu için standart besiyeri muamelesi ile gerçekleştirildi.

Uygun besiyerleri ile PANC-1 hücre hattı için 72 saat süreli inkübasyon sonrası flasklardan ticari kit (GeneALL – Hybrid-R Mini Kit, Korea) yardımı ile RNA izolasyonlar gerçekleştirildi.

Hücreler 1 ml RiboEx™ ile kaldırılıp 1,5 ml'lik eppendorflara aktarıldı. Oda sıcaklığında (15-25° C'de) 5 dakika bekletildikten sonra 12000 g 4°C de 10 dakika santrifüj edildi ve süpernatant 1,5 ml yeni eppendorfa aktarıldı. 1 ml RiboEx™ için 200 µl kloroform eklenip 15 saniye karıştırılıp 2 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. 12000 g 4°C de 15 dakika santrifüj edildi. Süpernatant yeni eppendorfa alındı. 1 ml Buffer RB1 eklenerek iyice karıştırıldı. Karışımdan 700 µl alınıp Hybrid-R spin kolonlarına aktarıldı. Oda sıcaklığında 10000 g de 30 saniye santrifüj yapıldı. Süpernatant atıldı ve Hybrid-R mini spin kolonu yeni tüpe aktarıldı. 500 µl Buffer SW1 eklendi. Oda sıcaklığında 10000 g de 30 saniye santrifüj yapıldı. Süpernatant atıldı ve Hybrid-R mini spin kolonu yeni tüpe aktarıldı. 500 µl Buffer RNW eklendi. Oda sıcaklığında 10000 g de 30 saniye santrifüj yapıldı. Süpernatant atıldı ve Hybrid-R mini spin kolonu yeni tüpe aktarıldı. Oda sıcaklığında 10000 g de 1 dakika santrifüj yapıldı. Süpernatant atıldı ve 1,5 ml'lik yeni eppendorf tüplere aktarıldı. Tüplerin merkezine 50-100 µl Nuclease-free water eklenip 1 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Oda sıcaklığında 10000 g de 1 dakika santrifüj yapıldı. Kolonda bulunan total RNA 1,5 ml'lik yeni eppendorfa toplandı. RNA'ların konsantrasyon ve saflık tayinleri Nanodrop cihazı ile gerçekleştirildi.

### **3.4 cDNA SENTEZİ**

hTERT ekspresyon analizi için cDNA dönüşümü gerçekleştirildi (Biorad cDNA Synthesis Kit).

20 µl cDNA Reaksiyonu	Miktar
10X Reaction Buffer	2 µl
dNTP mix (2.5 mM each)	1 µl
Random hexamer (50 µM)	2 µl
Reverse Transcriptase (200 U/µl)	1 µl
RNase Inhibitor	0.5 µl
RNase free Water	3.5 µl
RNA Template	10 µl

**Tablo 3.1.** 20 µl Ters Transkriptaz Reaksiyonu için gerekli miktarlar

cDNA Reaksiyonu Basamakları	Sıcaklık (°C)	Zaman	Döngü
1.Basamak	25	10 Dakika	1
2.Basamak	37	120 Dakika	1
3.Basamak	85	5 Dakika	1
4.Basamak	4	∞	1

**Tablo 3.2.** cDNA Reaksiyonu Basamakları

### 3.5 EKSPRESYON ANALİZİ

hTERT ekspresyonu özgün primer ve Biorad MasterMix ile Real-Time PCR gerçekleştirildi.

20 µl PCR Reaksiyonu	Miktar
A.B.T.™ 2X PCR MasterMix	10 µl
Forward Primer (10 µM)*	0.2 - 2 µl
Reverse Primer (10 µM)*	0.2 - 2 µl
Template	1 - 5 µl
RNase-Free Distilled Water	20 µl tamamlanır

**Tablo 3.3.** Ekspresyon Reaksiyon Karışımı

hTERT primer dizileri

Forward Primer: GCCGATTGTGAACATGGACTACG

Reverse Primer: GCTCGTAGTTGAGCACGCTGAA

PCR Reaksiyon Basamakları	Sıcaklık(°C)	Zaman	Döngü
İlk Denatürasyon	95	300 Saniye	1
Denatürasyon	95	10-60 Saniye	25-40
Anneal	58	10-60 Saniye	25-40
Uzatma	72	60 Saniye	25-40

**Tablo 3.4.** Ekspresyon Reaksiyon Basamakları

Normalizasyon  $\beta$ -aktin ekspresyonu ile yapıldı. Ekspresyon değişimleri  $2^{-\Delta\Delta CT}$  metodu ile belirlendi.

### 3.6. TELOMER UZUNLUK TAYİNİ

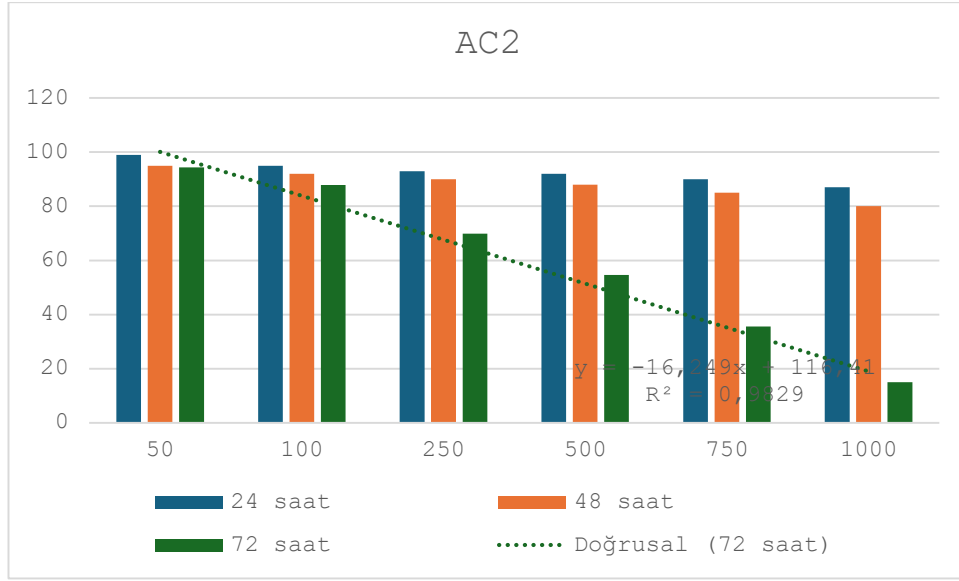
Telomer uzunluk tayini için PANC-1 hücre hattında 5 madde uygulaması ve 1 adet kontrol grubu olmak üzere 6 farklı grup olarak kültüre edildi. Her hücre hattı için 6-well platelere her kuyucuğa 100.000 hücre ekildi ve 24 saat sonrasında her 3 kuyu 555 $\mu$ M AC-1, AC-2, AC-3, MC-1 ve MC-2 muameleleri ve kontrol grubu için standart besiyeri muamelesi ile gerçekleştirildi. Uygun besiyerleri ile Panc-1 hücre hattı için 72 saat süreli inkübasyon sonrası flasklardan ticari kit (Magen – HiPure Tissue DNA Mini Kit, China) yardımı ile DNA izolasyonları gerçekleştirildi.

DNA izolasyonu sonrası ScienCell, Absolute Human Telomere Length Quantification qPCR Assay Kit (USA) ile telomer uzunluk analizi kit protokolüne uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

## 4. BULGULAR

### 4.1 HÜCRE CANLILIĞI ANALİZİ SONUÇLARI

Panc-1 hücre hattı farklı konsantrasyonlarda AC2 muamelesi sonrasında IC<sub>50</sub> değerleri 72 saatte 555µM olarak Şekil 4.1 de gösterilen değerler üzerinden hesaplanmıştır.



**Şekil 4.1:** Panc-1 hücre hattının AC2 farklı konsantrasyonları ile muamelesi sonrası yüzde canlı hücre değerleri

Diğer madde uygulamalarında IC<sub>50</sub> dozu bulunamamış olup karşılaştırmak için bütün maddeler AC2'nin IC<sub>50</sub> dozu üzerinden uygulanarak çalışmalara devam edilmiştir.

### 4.2 HTERT EKSPRESYON SONUÇLARI

Ekspresyon sonuçlarına göre Panc-1 hücre hattında 72 saatte bütün maddelerin muamelesi sonrasında hTERT ekspresyonu AC2 ve AC3 ile -2,41 ve -2,75 kat azalırken diğer uygulamalarda anlamlı bir değişiklik olmamıştır (Tablo 4.1).

	Panc-1				
	AC1	AC2	AC3	MC1	MC2
hTERT	-1,09	-2,75	-2,41	1.18	1,41

**Tablo 4.1** AC-1, AC-2, AC-3, MC-1 ve MC-2 maddeleri muamelesi sonrası Panc-1 hücre hatlarında hTERT kat değişimleri

### 4.3 TELOMER UZUNLUK DEĞİŞİMİ

Telomer uzunluk analizine göre PANC-1 hücre hatlarında AC2 ve AC3 muamelesi sonrası ekspresyon ile uyumlu olarak telomer uzunlukları anlamlı olarak azalmıştır.

	Panc-1				
	AC1	AC2	AC3	MC1	MC2
Telomer uzunluk kat değişimi	0,4730	0,0076	0,0169	0,289	0,5680
Telomer uzunluğu	581,79±42,57 kb	9,348±0,68 kb	21,471±1,52 kb	355,47±26,01 kb	698,64±51,12 kb

**Tablo 4.2** AC-1, AC-2, AC-3, MC-1 ve MC-2 maddeleri muamelesi sonrası Panc-1 hücre hatlarında telomer uzunlukları ve kontrole göre kat değişimleri



## 5. TARTIŞMA

Pankreas kanseri yapılan bütün çalışmalara rağmen halen mortalitesi en yüksek kanserlerden biri olup tedavi yöntemleri, birçok farklı modaliteye rağmen sınırlıdır. Temelinde kontrolsüz hücre büyümesi olan kanser için hücre büyümesini sınırlandıran yöntemler araştırmacıların ilgisini çekmektedir. Tümör hücrelerini daha etkili bir şekilde hedef alan, büyümesini engelleyen ve bu sayede tümör nükslerinin de önüne geçebilecek yeni ilaçlara ihtiyaç olduğu aşikardır. Kontrolsüz hücre büyümesi için gerekli olan telomeraz enzimini inhibe edebilecek yöntemler bu açıdan kıymetli görülmekte ve son zamanlarda araştırılmaya devam edilmektedir.

Biz bu çalışmada üniversitemiz bünyesinde yeni sentezlenen ve G-Kuadrupleks DNA'ya bağlanma enerjileri moleküler docking analizlerinde yüksek olarak tespit edilen 5 farklı ftalosyanin türevi bileşiğin pankreas kanseri hücre hatlarında hTERT ekspresyon tayini ve telomer uzunluğunda yaptıkları kısalmayı göstererek olası yeni aday telomeraz enzim inhibitörlerinin gösterilmesini amaçladık. Sentezlenen bu moleküllerin suda çözünebilir özellikte olmasının ileri araştırmalarda özellikle de in vivo planlanacak araştırmalarda önemli bir avantaj sağlayacağını düşünmekteyiz.

Çalışmamızın en önemli özelliği mevcut moleküllerin özgün oluşu ve daha önce üzerinde herhangi bir çalışma yapılmamış olmasıdır. Aynı zamanda moleküllerin suda çözünebilir olması ileri çalışmalar için heyecan uyandırmaktadır. Bu nedenle bu çalışma suda çözünebilir olan ve antrakinon yan zincir taşıyan ftalosiyenin bileşiklerinin insan pankreas kanseri hücre hattında sitotoksik aktivitesi olduğunu ve telomer uzunluğunda kısalmaya neden olarak kanser hücrelerinin büyümesini sınırlayabilecek özellikte olduğunu gösteren ilk çalışmadır.

Çalışmamızda pankreas kanseri hücre hattı olarak Mia-PaCa-2 ve PANC- 1 hücre hatlarını kullanmayı amaçladık ancak Mia-PaCa-2 hücreleri istenilen yoğunluğa ulaşmadığı ve çoğaltılamadığı için deneylere PANC-1 hücre hattı ile devam ettik. Halen Mia-PaCa-2 hücre hatlarını çoğaltma çalışmalarımız ve ileri düzey araştırmalarımız devam etmektedir. PANC-1, metastaz göstermiş bir hastadan türetilmiştir, ancak MIA PaCa-2'nin türetildiği hastanın metastatik durumu belirsizdir. Bu iki hücre hattının invaziv testleri farklı araştırma grupları tarafından yapılan

çalışmalarda konsensus ve sağlam sonuçlar üretmemektedir. Ancak, tümörijenite testinde, MIA PaCa-2 tümörleri, SCID (Şiddetli kombine immün yetmezliği) farelerine eşit dozda tümör hücreleri intraperitoneal olarak enjekte edildiğinde PANC-1'den daha büyüktür. Ayrıca, morfolojik ve genetik özellikleri de iyi çalışılmıştır, bu da bu hücre hatlarının pankreas kanseri araştırmaları için in vitro ideal araçlar olduğunu önermektedir (138).

Gradiz ve arkadaşları, PANC-1 ve MIA-PaCa-2 hücre hatlarını inceleyerek invazyon potansiyellerini çeşitli parametrelerle değerlendirdiler. CD44 ve CD326 yüzey markerları, hücrelerin invazyon potansiyelini artıran faktörler olarak belirlendi. MIA PaCa-2 hücrelerinde CD44++ ve CD44+ alt popülasyonları, bu hücrelerin yüksek invazyon potansiyeline işaret edebilir. Her iki hücre hattında da KRAS ve TP53 mutasyonları tespit edildi. Ancak, PANC-1 hücre hattında TP53'te iki missense mutasyon (p.P72R ve p.R273H) ve KRAS'ta heterozigot missense mutasyonu (p.G12D) bulunması, PANC-1'in daha agresif ve invaziv özellikler taşımasını açıklayabilir. Nöroendokrin markerlar arasında MIA PaCa-2'de synaptophysin ve chromogranin A, PANC-1'de ise sadece chromogranin A ifade edildi. MIA PaCa-2'de iki, PANC-1'de ise üç hücre popülasyonu mevcut. PANC-1'in pleomorfik yapısı, bu hücrelerin çevresel koşullara uyum sağlayarak daha invaziv olabileceğini düşündürebilir. Sonuç olarak, PANC-1 hücre hattı, genetik mutasyon profili ve morfolojik çeşitliliği nedeniyle daha invaziv özellikler taşıyabilir (138).

Başka bir çalışmada, MIA PaCa-2 ve PANC-1 hücre hatları arasında farklı şekilde ifade edilen 18 miRNA (13 upregüle ve 5 downregüle edilen) doğrulanmıştır. Bu miRNA'ların, diğer bazı tümörlerin gelişiminde de rol oynadığı bulunmuştur. PDAK'ların (Pankreas Duktal Adenokarsinom) kanserli ve kansersiz dokuları karşılaştırıldığında, miR-31-5p ve miR-100-5p upregüle edilmiştir ve bu miRNA'lar proliferasyonu, invazyonu ve göçü artırma veya proliferasyonu inhibe etme ve sisplatine duyarlılığı artırma işlevlerine sahiptir. Bu çalışma, PDAK hücre hatları PANC-1 ve MIA-PaCa-2 arasında farklı ifade edilen miRNA'lara odaklanarak, PDAK'un moleküler patolojisini ve bu hücre hatlarının hasta bireysel farklılıklarını yansıtmaya olasılığını daha iyi anlamayı amaçlamıştır (139).

Bu çalışmalar doğrultusunda biz de kendi çalışmamızı kurgularken sentez edilen moleküller için PANC-1 ve MIA-PaCa-2 hücre hatlarını kullanmayı planladık.

Ancak MIA-PaCa-2 hücre hattının çoğaltılmasında oluşan ve tekrar eden teknik problemlerden dolayı çalışmamız için yeterli materyale ulaşamadık ve PANC-1 hücre hattı ile moleküler çalışmalarımızı gerçekleştirdik. MIA-PaCa-2 hücre hatları ile çalışmalarımız devam etmekte olup ileri araştırmalarda çalışmalarımızı devam ettirmeyi planlamaktayız.

Guanin açısından zengin DNA dizileri, dört iplikçikli, geleneksel olmayan ikincil yapılar olan G-kuadrupleksler oluşturabilir. G-kuadrupleksler başlangıçta yapısal bir merak olarak düşünülmüş olsa da, son kanıtlar, bunların transkripsiyon, replikasyon, genom stabilitesi ve epigenetik düzenleme gibi temel genom işlevlerinde yer aldığını ve kanser biyolojisi ile çeşitli bağlantıları olduğunu göstermektedir. Bu gelişmeler, G-kuadrupleks mekanizmalarını ve buna bağlı terapötik müdahale fırsatlarını araştıran çalışmaları teşvik etmiştir (140).

Çalışmamızda yeni sentezlenen ve moleküler docking analizlerinde G-Kuadrupleks DNA'ya bağlanma enerjileri yüksek olan AC-1, AC-2, AC-3, MC-1, MC-2 için hTERT ekspresyon analizi ve telomer uzunluk analizlerini gerçekleştirdik. PANC-1 hücre hattında hTERT ekspresyonu AC-1 için 1,09 kat, AC-2 için 2,75 kat, AC-3 için 2,41 kat azalırken MC-1 ve MC-2 için hTERT ekspresyonunda herhangi bir azalma tespit etmedik. Telomer uzunluk analizinde AC-1 için 0,4730 kat, AC-2 için 0,076 kat, AC-3 için 0,0169 kat, MC-1 için 0,289 kat, MC-2 için 0,560 kat azalma tespit ettik. Bu veriler değerlendirildiğinde hTERT ekspresyonunda AC-2 ve AC-3 molekülleri için anlamlı azalma tespit ettik. Telomer uzunluk analizi değerlendirildiğinde ise AC-2 molekülü telomer uzunluğunu %99,2 kısaltırken AC-3 molekülü %98,3 kısaltmıştır. Bu anlamda özellikle bu iki molekül sonraki araştırmalar için umut vadetmektedir.

2006 yılında yapılan bir çalışmada, antisens fosforotiyoat oligodeoksinükleotitlerin pankreas kanseri hücresi hattında (Bxpc-3) telomeraz aktivitesi ve hücre çoğalmasını inhibe edici etkileri incelenmiştir. Telomeraz aktivitesinin yüksek olduğu malign dokularla, düşük olduğu non-malign dokular arasında bir korelasyon bulunmuştur. Antisens fosforotiyoat oligodeoksinükleotitlerin 10 µM konsantrasyonunda telomeraz aktivitesini %60 oranında azalttığı gösterilmiştir. Telomeraz inhibisyonu, hücre büyümesinde azalma ile güçlü bir korelasyon göstermektedir. Ayrıca, aynı çalışmada Ans-hTERT'nin Bxpc-3 hücrelerinde doz ve

zamana bağılı olarak büyümei inhibe ettiği, bu inhibisyonun hücre döngüsünün G0/G1 fazında birikme ile ilişkili olduğu bulunmuştur. G0/G1 fazındaki hücre oranı %2.70'ten %14.69'a yükselirken, S fazındaki hücre oranı %72.7'den %51.0'a düşmüştür. Ayrıca, G1 fazından önce sub-G1 evresinde bir apoptoz zirvesi gözlemlenmiştir. Bu bulgular, Ans-hTERT oligodeoksinükleotidlerinin hTERT gen ekspresyonunu etkili bir şekilde baskıladığını, telomeraz aktivitesini azalttığını ve apoptozu tetiklediğini göstermektedir. Ans-hTERT oligodeoksinükleotidlerinin antitümör etkisi, hızlı apoptoz indüksiyonu ve uzun vadede telomeraz aktivitesinin inhibisyonu ile telomerik DNA'nın kısalması sonucu hücre ölümüne yol açarak gerçekleşebilir. Bu bulgular, Ans-hTERT oligodeoksinükleotidlerinin telomeraz aktivitesini hedef alarak kanser tedavisinde etkili olabileceğini ve hücre büyümesini inhibe edebileceğini göstermektedir (141).

2015 yılında Deeb ve arkadaşları, pristimerin (PM) adlı bileşiğin pankreas kanseri hücrelerinde telomeraz enzimini nasıl etkilediğini inceledi. PM, hücre çoğalmasını inhibe etmiş, hücre döngüsünü G1 fazında durdurmuş ve apoptozu (programlı hücre ölümünü) indüklemiştir. PM, telomeraz enziminin hTERT mRNA ve protein seviyelerini azaltmış ve telomeraz aktivitesini önemli ölçüde düşürmüştür. hTERT'in aşırı ekspresyonu, hücreleri PM'nin etkilerine karşı dirençli hale getirirken, hTERT'in susturulması PM'ye daha duyarlı hale getirmiştir. PM, hTERT gen ifadesini düzenleyen transkripsiyon faktörlerini ve hTERT proteinini post-translasyonel olarak düzenleyen Akt kinazını inhibe etmiştir. Bu çalışma, PM'nin telomerazı hedefleyerek anti-tümör etki gösterdiğini ve telomerazın PM'nin terapötik etkilerinde önemli bir moleküler hedef olabileceğini göstermiştir (118).

Wang ve ark yaptıkları çalışmaya paralel şekilde bizim çalışmamızda da özellikle AC-2 ve AC-3 ile sitotoksite artışı gösterilmiş ve hTERT ekspresyonunu azaltarak telomeraz enzim inhibisyonu yaptığı gösterilmiştir. Aynı zamanda AC-2 ve AC-3 molekülü Deeb ve ark çalışmalarındaki gibi telomeraz enzim inhibisyonu yapmaktadır. Pankreas kanserinde de hücre büyümesi, dolayısıyla kanser progresyonu telomeraz aktivitesi ile doğru orantılı olup hTERT ekspresyonu azalması ve telomeraz inhibisyonu, AC-2 ve AC-3 molekülü için pankreas kanserinde olası bir terapötik ajan olabileceğini düşündürmektedir. Ancak çalışmamızda kullandığımız moleküllerin

hücre döngüsünü hangi fazda durdurduğu ile ilgili ileri araştırmalar yapılması gerekmektedir.

Xu ve ark 2000 yılında yaptıkları çalışmada p53 tümör baskılayıcı proteininin, insan hücre dizilerinde hTERT mRNA ekspresyonunu baskıladığını gösterdiler. Aktif yabani tip (wt) p53'ün indüksiyonu, BL41 Burkitt lenfoma ve MCF-7 meme karsinomu hücrelerinde hTERT mRNA seviyelerinde hızlı bir azalmaya neden oldu. Wt p53, hTERT promotöründeki Sp1 bağlanma bölgelerine doğrudan bağlanarak, Sp1'in hTERT gen transkripsiyonunu aktive etmesini engelledi. Sonuç olarak, p53'ün hTERT/telomeraz ekspresyonunu baskılaması, p53-aracılı tümör baskılama mekanizmalarından biri olarak değerlendirilmektedir. Bu, p53 ve telomeraz/hTERT arasındaki kritik bağlantıyı ortaya koymuştur (142).

Li ve arkadaşları, 2020 yılında yeni sentezlenen antrakinin türevlerinin kolon kanseri hücrelerinin proliferasyonunu nasıl inhibe ettiğini inceledi. Bu türevler, reaktif oksijen türleri (ROS) ve JNK yolunu aktive ederek hücre ölümüne neden olmuştur. Yüksek ROS seviyeleri oksidatif strese yol açarak DNA hasarı ve hücre fonksiyon bozukluğu yaratmıştır. Bileşikler, kolon kanseri hücrelerinde seçici olarak etkili olup, normal hücreler üzerindeki düşük toksisitesi sayesinde potansiyel bir terapötik ajan olarak değerlendirilmektedir (143).

Çalışmamızda kullanılan moleküller, G-kuadrupleks DNA'ya bağlanarak hTERT ekspresyonunu azaltmıştır. Bu moleküller, Li ve arkadaşlarının kolon kanserinde apoptoza yol açtığını gösterdikleri antrakinin türevi bileşiklerle benzerlik göstermektedir. Bizim çalışmamızda kullanılan bu moleküller, pankreas kanseri hücrelerinde sitotoksik aktivite sergilemiştir. Ancak, çalışmamızda kullandığımız moleküllerin hTERT ekspresyonuna etki mekanizması ile ilgili daha fazla araştırılma yapılması gerekmektedir.

Telomestatin ve diğer G-Kuadrupleks ligandları, G-Kuadrupleks'lerin biyolojik önemini araştırmak için güçlü araçlar ve yenilikçi antikanser moleküler tıp için umut verici adaylardır. Bazı kanser hücreleri G-Kuadrupleks ligandlarına aşırı duyarlı iken, diğerleri bu bileşenlere dirençli olabilir. Etki mekanizmasını ve öngörücü biyomarkerleri daha iyi anlamak, ilaç geliştirmeyi hızlandıracaktır (144).

Tauchi ve arkadaşlarının 2006 yılında yaptığı çalışmada, telomeraz aktivitesinin farmakolojik ve genetik müdahalelerle inhibe edilmesinin, telomer kısalmasına ve bunun sonucunda hücre yaşlanması veya apoptoza yol açabileceği gösterilmiştir. Araştırmada, "telomestatin" adlı bir bileşiğin U937 akut lösemi hücrelerinde telomer kısalmasına ve apoptoza neden olduğu bulunmuştur. Telomestatin tedavisinin, hücre içi sinyal yolağı olan p38 MAP kinaz aktivasyonunu artırarak apoptoza katkıda bulunduğu saptanmıştır. Ayrıca, telomestatin'in normal hücreler üzerinde minimal etki gösterdiği, dolayısıyla kanser hücrelerine özgü yüksek antitümör aktiviteye sahip olduğu vurgulanmıştır. Aynı çalışmada, telomestatin'in ALT-pozitif (alternatif telomer uzaması) hücreler üzerindeki etkisinin ise minimal seviyede olduğu belirtilmiştir. Buna karşın, TMPyP4 adlı bileşiğin intermoleküler G-kuadrupleks yapıların oluşumunu kolaylaştırarak ALT-pozitif hücrelerin proliferasyonunu baskıladığı görülmüştür. Araştırmacılar, bu farkın G-kuadrupleks yapılara olan spesifiteden kaynaklandığını bildirmişlerdir (145).

Mu-Yong Kim ve arkadaşlarının 2003 yılında yaptıkları çalışmada, sitotoksik olmayan konsantrasyonlarda telomestatin'in telomeraz-pozitif hücrelerin proliferasyonunu birkaç hafta içinde baskıladığı tespit edilmiştir. Buna karşılık, intermoleküler G-kuadrupleks yapıların oluşumunu teşvik eden TMPyP4 adlı bileşiğin, hem alternatif telomer uzaması (ALT)-pozitif hücrelerin hem de telomeraz-pozitif hücrelerin proliferasyonunu baskıladığı gözlemlenmiştir. Ayrıca, TMPyP4'ün deniz kestanesi embriyolarında anafaz köprüleri oluşturduğu, ancak telomestatin'in bu etkiyi göstermediği rapor edilmiştir. Bu bulgular, telomestatin'in intramoleküler G-kuadrupleks yapılarla, TMPyP4'ün ise intermoleküler G-kuadrupleks yapılarla olan seçiciliğinin, farklı biyolojik etkilerle ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca, bu seçicilik, telomeraz inhibisyonu ve hızlandırılmış telomer kısalması ile anafaz köprülerinin oluşumu arasındaki farklı etkileri açıklamaktadır (146).

Temime-Smaali ve ark 2009 yılında yaptıkları çalışmanın sonuçları G-kuadrupleks ligandı telomestatinin, ALT hücrelerinde APB'lerin (ALT ile ilişkili PML cisimleri) bozulması ve Topo III/BLM/TRF2 kompleksinin azalması ile ilişkilendirilen telomer disfonksiyonuna yol açtığını göstermektedir. Bu durum, alternatif telomer bakım mekanizmasına sahip tümör hücrelerinde G-kuadrupleks ligandlarının potansiyel terapötik olarak ilgi çekici olduğunu vurgulamaktadır (147).

Çalışmamızda kullandığımız moleküllerin, G-kuadrupleks yapılarla etkileşime girerek telomerazı inhibe ettiğini ve telomer uzunluğunda anlamlı bir kısalma sağladığını tespit ettik. Bu moleküller, hTERT ekspresyonunu azaltarak etkilerini göstermektedir. Telomeraz pozitif hücrelerde alternatif telomer uzamasını (ALT) baskıladığını daha net bir şekilde ortaya koymak için ise ek çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca, anlamlı sonuçlar elde ettiğimiz bu moleküllerin, G-kuadrupleks yapılar üzerinde kanser hücrelerine özgü seçiciliğini ve normal hücrelerle olan farklarını gösterecek yeni araştırmalara gereksinim vardır.

Huang ve arkadaşlarının 2008 yılındaki çalışmasında, insan telomerik dizilim tarafından oluşturulan G-kuadrupleks DNA yapısını stabilize eden ve telomeraz aktivitesini güçlü bir şekilde inhibe eden karbazol türevleri tasarlanmış ve sentezlenmiştir. Bu türevlerden BMVC (3,6-bis(1-metil-4-vinilpiridinyum)karbazol diiyodür), G-kuadrupleks erime sıcaklığını 13°C artırmış ve telomeraz aktivitesini baskılayarak hücrelerde senesans oluşumuna neden olmuştur. BMVC ile tedavi edilen H1299 hücrelerinde telomerler, normal insan hücrelerindeki 50-200 nükleotidlik kısalmaya kıyasla çok daha hızlı şekilde, yaklaşık 420 nükleotid kadar kısalmıştır. Ayrıca, bu hücreler koloni oluşturma ve migrasyon gibi tümör özelliklerini kaybetmiştir. Sonuç olarak, BMVC, hızlandırılmış telomer kısalması ve tümör baskılanması potansiyeline sahip yeni bir G-kuadrupleks stabilizatörü olarak tanımlanmıştır (148).

Çalışmamızda kullandığımız AC-2 ve AC-3 molekülü benzer şekilde G-kuadrupleks yapıları stabilize eden antrakınon yan zinciri taşıyan moleküldür ve pankreas hücre kültüründe anlamlı telomer kısalması sağlamıştır. Telomeraz aktivitesini güçlü şekilde inhibe eden AC-2 ve AC-3 moleküllerinin kanserli hücreler ve normal insan hücreleri arasındaki etki farklarının tespit edilerek olası yeni aday ilaç olarak değerlendirilmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Chiappori ve arkadaşlarının 2015 yılında ileri evre küçük hücreli dışı akciğer kanseri hastalarında, telomeraz inhibitörü imetelstat'ın idame tedavisi olarak etkinliğini değerlendirdiği randomize faz II çalışmada 116 hasta yer almıştır. Hastalar 2:1 oranında imetelstat veya gözlem grubuna randomize edilmiştir. Ana sonlanım noktası olan progresyonsuz sağkalım açısından iki grup arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (imetelstat için 2.76 ay, kontrol için 2.57 ay, p=0.446). Genel

sağkalımda ise imetelstat lehine bir trend görülmüş, ancak istatistiksel olarak anlamlılık elde edilememiştir (14.3 ay ve 11.5 ay, p=0.129). Telomer uzunluğu analizi, kısa telomerlere sahip tümörlü hastalarda imetelstat ile progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalımda iyileşme eğilimi olduğunu göstermiştir. Sonuç olarak, imetelstat idame tedavisi birincil sonlanım noktasını karşılamamış, ancak kısa telomerlere sahip tümörlü hastalarda potansiyel bir fayda göstermiştir. Yazarlar, telomer uzunluğunun gelecekte prediktif bir biyobelirteç olarak araştırılması gerektiğini vurgulamıştır (149).

Amelia ve arkadaşlarının 2006 yılında yaptığı başka bir çalışmada, imetelstatın in vivo meme kanseri metastaz modelinde antitümör özellikleri gösterilmiştir. Bu model, meme kanserinin klinikteki ilerlemesini (birincil tümörün çıkarılması ve ardından akciğer metastazları) taklit eder. Çalışmada, imetelstatın çeşitli meme kanseri hücre hatlarında telomeraz aktivitesi, telomer bakımı ve hücre büyümesi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Sonuçlar, imetelstatın tüm meme kanseri alt gruplarında telomerazı etkili bir şekilde inhibe ettiğini ve bu durumun imetelstatı evrensel bir antitelomeraz ajanı olarak desteklediğini göstermiştir. Uzun süreli telomeraz inhibisyonu, in vitro ortamda telomerlerin belirgin şekilde kışalmasına ve meme kanseri hücre hatlarında replikatif ve tümörjenik kapasitenin azalmasına neden olmuştur. Çalışmada, normal süt bezleri epitel hücreleri ve endotelial hücrelerde önemli bir değişiklik gözlenmemiştir. Ayrıca, memeden alınan xenograft tümörün ardından farelere imetelstat uygulanması, 4 hafta içinde akciğer metastazlarında belirgin bir azalma sağlamıştır. Telomeraz inhibitörlerinin normal hücreler üzerindeki etkilerinin daha ayrıntılı incelenmesi, bu ajanların kanser tedavisindeki klinik potansiyelini daha iyi anlamak açısından kritik öneme sahiptir (150).

Damm ve arkadaşları, 2001 yılında telomeraz enzimine bağlanarak aktivitesini inhibe eden non-nükleosidik inhibitörler BIBR1532 {2-[(E)-3-naftalen-2-il-but-2-enoylamino]-benzoik asit} ve BIBR1591 {5-morfolin-4-il-2-[(E)-3-naftalen-2-il-but-2-enoylamino]-benzoik asit} adlı bileşiklerle çalışmışlardır. Bu bileşikler, in vitro ortamda telomeraz aktivitesini doz bağımlı bir şekilde inhibe etmiştir. BIBR1532'nin seçiciliği, çeşitli DNA ve RNA polimerazlar üzerinde test edilmiş ve telomeraz dışındaki enzimlerin inhibe edilmediği bulunmuştur. Aynı çalışmada, BIBR1532 ve BIBR1591 ile uzun süre tedavi edilen akciğer karsinom hücrelerinde sürekli telomer kışalması gözlemlenmiştir. Tedavi durdurulduğunda ise hücreler normal büyüme



hızına geri dönmüş, ancak telomer uzunluğunda spontan bir uzama veya telomeraz bağımsız büyüme gözlemlenmemiştir. Sonuç olarak, BIBR1532 ve BIBR1591 gibi non-nükleosidik telomeraz inhibitörleri, telomeraz aktivitesini güçlü ve seçici bir şekilde inhibe ederek kanser hücrelerinde telomer kısalmasına, hücre proliferasyonunun durmasına ve senesans belirtilerinin ortaya çıkmasına yol açmıştır. Bu bulgular, telomeraz inhibitörlerinin yeni kanser tedavi yöntemleri olarak kullanılabilceğini göstermektedir (151).

Çalışmamızda kullanılan AC-2 ve AC-3 molekülleri, G-kuadrupleks DNA'ya bağlanarak telomeraz enzimini inhibe etmektedir. Ancak, bu moleküllerin farklı kanser hücrelerinde nasıl etki gösterdiğini gözlemlmek ve kanser hücrelerine olan spesifitesini değerlendirmek için ek çalışmalara ihtiyaç vardır. AC-2 ve AC-3, in vitro ortamda anlamlı derecede telomer kısalması sağlamıştır, ancak telomer uzunluğu ile molekül etkinliği arasındaki ilişki çalışmamızda ele alınmamıştır. Bu nedenle, bu ilişkiyi değerlendirebilmek için ileri araştırmalar gerekmektedir. Çalışmamız in vitro ortamda yapıldığı için sağkalım ve klinik etki gibi veriler değerlendirilememiştir. Gao ve arkadaşlarının 2020 yılında yaptıkları çalışmada, BMPQ-1 adlı yeni bir kinolin türevli ligand keşfedilmiştir. Bu ligand, monomerik G-kuadruplekslere kıyasla insan telomerik G-kuadrupleks multimerlerine daha yüksek seçicilikle bağlanmış ve telomerlerde G-kuadrupleks DNA oluşumunu, buna bağlı DNA hasar yanıtını tetiklemiştir. BMPQ-1, tümör hücrelerinin çoğalmasını IC50 değeri ~1.0 µM olacak şekilde azaltmış ve fare modellerinde tümör büyüme oranını yarıya indirmiştir (152). Bu doğrultuda, çalışmamızda kullanılan ve G-kuadrupleks yapısını stabilize eden moleküllerin in vivo araştırmalarla daha kapsamlı bir şekilde incelenmesi gerektiğini düşünüyoruz.

Salvative ve ekibi, 2007 yılında yaptıkları çalışmada, telomer dizilerindeki G-kuadrupleks DNA'ya bağlanarak mikromolar altı konsantrasyonlarda telomeraz aktivitesini inhibe eden RHPS4 adlı pentasiklik akridinin antitümör etkilerini araştırmıştır. Çalışmada, maksimum tolere edilebilir doz olan 15 mg/kg kullanılarak, RHPS4'ün M14 melanom, PC3 prostat, H460 akciğer, CG5 meme ve HT29 kolon karsinom hücreleri üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Başlangıçta telomerazı inhibe etmek için tasarlanan G-kuadrupleks ligandlarının, RHPS4 ile kanser hücrelerinde telomer hasarına yol açarak antitümör etki gösterdiği bulunmuştur.

RHPS4, telomerlerde güçlü bir DNA hasar yanıtı ve POT1 proteininin uzaklaştırılmasıyla ilişkilendirilmiş, ancak telomer uzunluğunda belirgin bir değişiklik olmamıştır. İlginç bir şekilde, RHPS4 normal hücrelerde telomer hasarı yaratmamış, yalnızca kanser hücrelerinde etkili olmuştur. Bunun telomer yapısındaki farklılıklardan kaynaklanabileceği belirtilmiştir. Ayrıca, RHPS4'ün normal hematolojik bileşenlere zarar vermediği ve tümör hücrelerinde etkili olduğu gözlemlenmiştir. Yüksek terapötik indeks, telomerik kromatinin bozulması yoluyla spesifik antitümör etkiler sağladığını göstermektedir. Sonuç olarak, RHPS4'ün kombinasyon tedavilerinde potansiyel bir antikanser ajan olarak değerlendirilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır (153).

RHPS4, pentasiklik akridin yüm metosülfat tuzu olarak, guanin açısından zengin telomerik 3' ucun tek zincirli G-kuadrupleks yapısına katlanmasını teşvik eder. Bu yapının stabilizasyonu, telomerazın telomere bağlanmasını engelleyerek katalitik ve koruyucu işlevlerini baskılar. Phatak ve ekibinin 2007 yılında yaptığı çalışmada, kısa telomerlere sahip endometrium karsinomu hücrelerinde (UXF1138L) RHPS4'ün telomerin koruyucu etkisini nasıl ortadan kaldırdığı incelenmiştir. RHPS4'ün, telomerazın katalitik alt birimi olan hTERT'nin çekirdekten çıkarılmasına, telomer kaynaklı DNA hasar sinyallerinin tetiklenmesine ve kromozom füzyonlarına neden olduğu bulunmuştur. Ayrıca, RHPS4'ün, yumuşak agarda koloniler halinde büyüyen kanser hücrelerine, monolayer olarak büyüyen hücrelerden daha etkili olduğu gözlemlenmiştir. UXF1138L xenografları, RHPS4 ile tedavi edildiğinde azalmış klonojenik kapasite, nükleer hTERT ekspresyonunda düşüş ve mitotik anormalliklerde artış göstermiştir. RHPS4'ün tek başına in vivo kullanımı sınırlı etkinlik sağlasa da, mitotik iğ zehri Taxol ile kombinasyonu, tümör küçülmesi ve telomer disfonksiyonunu artırmıştır (154).

Benzer şekilde, çalışmamızda kullandığımız moleküller de, Salvative ve arkadaşlarının çalışmalarındaki RHPS4 molekülü gibi, telomer dizilerindeki G-Kuadrupleks DNA yapısını stabilize ederek sitotoksik etki göstermektedir. AC-2 ve AC-3 moleküllerinin daha ileri çalışmalarda hem farklı tümör modellerindeki etkilerinin incelenmesi hem de normal hematolojik bileşenlere zarar verip vermediğinin tespit edilerek spesifik antitümör özelliklerinin değerlendirilmesi gerektiğini düşünüyoruz. Ayrıca, bu moleküller hTERT ekspresyonunu azaltma

açısından RHPS4 ile benzerlik göstermekte olup, Phatak ve arkadaşlarının çalışmasına paralel olarak in vivo kullanımda ve kombinasyon tedavilerinde etkinliklerinin araştırılması gerektiği kanaatindeyiz.

Pentasiliklik akrinin bileşiği RHPS4 (3,11-difluoro-6,8,13-trimethyl-8H-quinol[4,3,2-kl]acridinium methosulfate), en etkili ve seçici G4 stabilizatörlerinden biri olarak kabul edilmekte olup, 2015 yılında Berardinelli ve ekibi tarafından incelenmiştir. RHPS4, telomerleri destabilize ederek kanser hücrelerinde proliferasyonu inhibe eder. Çalışmada, RHPS4'ün astrositoma (III/IV derece, Dünya Sağlık Örgütü) hücre hatlarındaki etkisi ve hücreleri iyonlaştırıcı radyasyona karşı hassaslaştırma rolü araştırılmıştır. Astrositoma hücreleri, normal fibroblastlara göre RHPS4'e daha yüksek duyarlılık göstermiştir. RHPS4, astrositoma hücrelerinde telomer disfonksiyonuna neden olmuş ve DNA hasar yanıtını artırmıştır. RHPS4 ve X-ışını kombinasyonu sinerjik etki göstererek G2 fazı blokajı ve azalmış proliferasyon sağlamıştır. Ayrıca, telomer disfonksiyonu ile radyosensitizasyon arasında güçlü bir ilişki tespit edilmiştir. Sonuç olarak, RHPS4'ün astrositoma hücrelerini iyonlaştırıcı radyasyonlara karşı daha duyarlı hale getirdiği ve bu kombinasyonun radyoterapi sonuçlarını iyileştirme potansiyeline sahip olduğu belirlenmiştir (155).

Çalışmamızda, AC-2 ve AC-3 moleküllerinin pankreas kanseri hücre kültüründe hTERT ekspresyonunu azaltarak telomeraz inhibisyonu sağladığını gösterdik. Bu moleküllerin ileri aşamalarda kombine tedavilerde kullanılabilmesi için daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğunu düşünüyoruz.

Çoğu insan tümörü, telomeraz ekspresyonuna sahip olmanın yanı sıra çok kısa telomerlere de sahiptir. Buna karşın, normal dokularda telomeraz aktivitesi ya yoktur ya da çok düşük seviyelerdedir ve telomerler daha uzundur. Bu ilişki, telomeraz aktivasyonu ile kısa telomerler arasındaki bağı göstererek, telomeraz inhibisyonunu kanser tedavisinde değerli bir hedef haline getirmektedir. Ayrıca, telomeraz inhibitörlerinin etki mekanizmasının normal kök hücreler üzerinde minimal yan etkilere yol açması beklenmektedir (156).

Guterres ve arkadaşları, hTERT aktivitesinin inhibisyonuna dayalı tedavilerin her hücre bölünmesinde telomerlerde kademeli bir kısalmaya neden olduğunu ve bu nedenle tedavi süresinin uzun olabileceğini belirtmişlerdir. Bu durum, telomeraz

inhibitörlerinin birinci basamak tedavi olarak kullanımını sınırlayabilir ve dirençli klonların gelişimine yol açabilir. Ayrıca bu tedaviler, telomeraz ekspresyonu olan kök hücrelerde yan etkilere neden olabilir. Düşük telomeraz aktivitesinin kısa telomerleri koruma kapasitesi, güçlü inhibitörlerin gerekliliğini ortaya koymaktadır. Yine de, telomerazın evrenselliği ve kanser hücrelerine özgü replikatif ölümsüzlük sağlaması, onu etkili bir kanser hedefi yapmaktadır (100).

Çalışmamızda hTERT ekspresyonunda azalma göstermiş olmamıza rağmen, canlı dokulardaki etkilerin ve yan etkilerin belirlenmesi için *in vivo* çalışmaların yapılması gerektiğini düşünüyoruz. Ayrıca, kısa telomer uzunluğuna sahip hücrelerdeki etki dozlarının da araştırılması gerekmektedir. Guterres ve arkadaşlarının çalışmalarında belirttikleri gibi, hematopoetik kök hücreler gibi kök hücrelerde oluşabilecek advers etkilerin değerlendirilmesi önemlidir. Çalışmamızda kullandığımız moleküllerin suda çözünebilir olması, intravenöz uygulama açısından önemli olup tarafımızca yakın gelecekte planlanmakta olan *in vivo* çalışmalar için kıymetli olacaktır.

Telomeraz aktivitesinin ve telomerlerin normal hücrelerde de bulunması, bu hedefe yönelik tedavilerin normal dokularda yan etkilere yol açabileceği endişesini doğurmaktadır. Rha ve arkadaşları, telomer ve telomeraz ile etkileşen ajanların insan tümör ve normal hücre hatları üzerindeki etkilerini değerlendirerek bu ajanların potansiyel yan etkilerini incelemiştir. G-kuadrupleks ile etkileşen porfirinler (TMPyP4, TMPyP2) ve zidovudin (AZT) toksisitesi, hücre sayma yöntemiyle test edilmiştir. Normal insan hücre hatları (fibroblastlar, yetişkin keratinositler, ince bağırsak ve kolon mukozal epitel hücreleri) ile insan tümör hücre hatları (meme, nöroblastom, serviks, pankreas, kolon ve prostat kanseri) üzerinde yapılan testlerde, AZT'nin her iki hücre tipinde de düşük seviyede sitotoksik etki gösterdiği (IC<sub>50</sub> >200 µM) saptanmıştır. TMPyP2 ve TMPyP4'ün IC<sub>50</sub> değerleri ise normal hücrelerde sırasıyla 2.9-48.3 µM ve 1.7-15.5 µM, tümör hücrelerinde ise 11.4-53 µM ve 9.0-28.2 µM arasında değişmiştir. Sonuç olarak, TMPyP4'ün hem tümör hem de normal hücrelerde benzer sitotoksikite gösterdiği, bu ajanın normal dokular üzerine de etkisinin olabileceğini ortaya koymaktadır (157).

Çalışmamızda kullandığımız moleküller, Rha ve arkadaşlarının çalışmasında olduğu gibi G-kuadrupleks yapıları stabilize eden özellik göstermektedir. Rha ve ekibi,

kanser hücrelerinin yanı sıra normal dokular olan keratinosit ve fibroblastlarda da sitotoksiteyi değerlendirmiştir. Bizim çalışmamızda, pankreas kanseri hücre hatlarında yüksek sitotoksite gösteren bu moleküllerin, normal sağlıklı insan hücrelerindeki etkilerinin incelenmesi için ileri düzey çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Burger ve arkadaşları, 3,6,9-trisüstitüe akridin bileşiği BRACO-19'un telomeraz fonksiyonu üzerindeki etkilerini hem in vitro hem de in vivo olarak göstermiştir. BRACO-19'un biyolojik aktivitesi, çok kısa telomerlere (2.7 kb) sahip insan endometrium kanseri hücre hattı UXF1138L'de incelenmiştir. İn vitro çalışmalar, 24 saat sonra nükleer insan telomeraz ters transkriptaz (hTERT) ekspresyonunun belirgin şekilde azaldığını, 15 gün sonra hücre yaşlanma ve büyümenin tamamen durduğunu, ayrıca telomerlerin yaklaşık 0.4 kb kadar kısaldığını göstermiştir. İn vivo olarak ise BRACO-19, UXF1138L hücrelerinden elde edilen xenograft modelinde erken evre tümörlere karşı tek başına yüksek aktivite göstermiş ve 2 mg/kg i.p. dozunda %96 oranında büyüme inhibisyonu sağlamıştır. Ayrıca kısmi tümör regresyonları gözlenmiştir ( $P < 0.018$ ) (158).

Gunaratnam ve arkadaşları ise BRACO-19'un G-kuadrupleks yapılarını stabilize etmek amacıyla geliştirildiğini ve bu bileşiğin kanser hücre hatlarında kısa ve uzun vadeli büyümeyi durdurma etkileri gösterdiğini belirtmişlerdir. Bununla birlikte, normal hücre hatlarında BRACO-19'un etkisinin çok daha az belirgin olduğu gözlemlenmiştir. BRACO-19'un hücre etkilerinin, 3' telomer uçlarının kapak yapısını bozarak telomer kısalmasına neden olduğu ve bu etkinin özellikle kısa telomerlere sahip hücrelerde daha belirgin olduğu sonucuna varılmıştır (159).

Çalışmamızda kullanılan AC-2 ve AC-3 molekülleri, PANC-1 hücre hattında hTERT ekspresyonunda sırasıyla 2,75 ve 2,41 kat azalma sağladı. Ayrıca, bu moleküller telomer uzunluğunda sırasıyla 0,0076 ve 0,169 kat kısalma gösterdi. Verilerimiz, Burger ve arkadaşlarının çalışmalarıyla paralellik göstermekte olup, in vitro olarak elde edilen bu anlamlı sonuçların in vivo hayvan modellerinde de doğrulanması için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu düşünüyoruz. Ayrıca, Gunaratnam ve arkadaşlarının çalışmalarında gösterildiği gibi, AC-2 ve AC-3 moleküllerinin farklı telomer uzunluklarına sahip hücreler üzerindeki etkinliklerinin de daha detaylı araştırılması gerekmektedir.

Drygin ve arkadaşları, 2009 yılında yaptıkları çalışmada CX-3543 adlı küçük molekülü bir nükleolus hedefleme ajanını değerlendirmişlerdir. CX-3543, nükleolustaki nükleolin/DNA G-kuadrupleks komplekslerini seçici olarak bozarak RNA Polimeraz I transkripsiyonunu inhibe etmektedir. Çalışma, CX-3543'ün mekanizma açısından oldukça seçici olduğunu ve rRNA sentezini baskımlarken DNA, protein sentezi veya RNA Polimeraz II ile yönlendirilen onkogen transkripsiyonuna herhangi bir etkide bulunmadığını göstermiştir. Ayrıca CX-3543, Topoizomeraz I/II işlevini de inhibe etmemektedir. Ön bulgular, CX-3543'ün çoklu ilaç direnç pompalarının bir substratı olmadığını ve in vivo yanıtların kalıcı olduğunu ortaya koymaktadır. Bu da CX-3543'ün direnç geliştirme riskinin düşük olduğunu ve klinik ortamda diğer antikanser ilaçlardan farklılaşan bir özellik sunduğunu düşündürmektedir. CX-3543, solid tümörlere sahip hastalarda farklı dozlama rejimleri ile iki ayrı faz I klinik denemeyi tamamlamış olup, rodentlerde yapılan biyodistribüsyon çalışmaları ilacın karcinoid ve nöroendokrin tümörlerle ilişkili neural crest kökenli dokularda biriktiğini göstermiştir. Bu bulgular sonucunda CX-3543, karcinoid/nöroendokrin tümörleri olan hastalar için faz II klinik denemeye alınmıştır (160).

Çalışmamızda kullandığımız moleküller de G-Kuadrupleks yapıları stabilize ederek etki göstermektedir. Literatürde yer alan BRACO-19 molekülünün AC-2 ve AC-3 moleküllerinin tersine DNA yerine daha çok RNA sentezini inhibe etme eğilimi gösterdiği düşünüldüğünde G-kuadrupleks yapılarına etki eden moleküllerin birbirine alternatif olabileceği fikri düşünülmektedir. Aynı zamanda AC-2 ve AC-3 molekülleri ile CX-3543 molekülüne benzer şekilde in vivo şartlarda ilaç direnci çalışmaları yapılması gerektiğini düşünüyoruz.

Ohnmacht ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, dört zincire bağlı bir naftalendiimid türevi olan MM41'in, MIA PaCa-2 pankreas kanseri ksenograft modelinde anlamlı in vivo antitümör aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Haftada iki kez 15 mg/kg dozunda intravenöz uygulanan MM41, tümör taşıyan hayvanların bir grubunda tümör büyümesini yaklaşık %80 oranında azaltmış ve iki hayvan 279 gün boyunca tümörsüz hayatta kalmıştır. MM41'in hücre çekirdeklerine hızla taşındığı ve tümörde biriktiği gözlemlenmiştir.

MM41, BCL-2 ve k-RAS genlerinin promotor bölgelerinde bulunan G-kuadruplekslerle güçlü bir etkileşim göstermektedir. Bu genler, birçok insan pankreas kanserinde anormal şekilde düzenlenmiştir. MM41 ile tedavi edilen hayvanların tümörlerinde BCL-2 seviyeleri, kontrol grubuna göre yaklaşık %40 azalmıştır; bu da BCL-2'nin MM41 için önemli bir hedef olduğunu desteklemektedir. Sonuç olarak, belirli kanserlerdeki upregulasyon bozukluğunu düzenleyen G-kuadrupleks yapıları, MM41 gibi bileşikler için seçici hedefler olabilir (161).

Çalışmamızda kullandığımız moleküller de G-kuadruplekslerle etkileşime girmekte olup biz hücre hattı olarak MIA PaCa-2 ile benzer özellikte olan PANC-1 hücre hattı ile deneylerimizi gerçekleştirdik. Moleküllerimizin etkilerini MIA PaCa-2 hücre hatları ile yapacağımız deneylerle konfirme etmeyi planlamaktayız. Daha sonrasında ise ileri araştırma modellerinde in vivo çalışmalar yapılması ve spesifitesi açısından araştırılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Küçük moleküllerle G-kuadrupleksleri hedeflemek, seçici kanser tedavisi için yenilikçi bir yöntem olarak önerilmiştir. Bu, kanser hücrelerinde normal hücrelere kıyasla artan G-kuadrupleks bolluğunu ve onkogenlerde G-kuadrupleks yapıların zenginliğini ortaya koyan yakın tarihli G4-ChIP-seq ve G4-IF çalışmalarıyla desteklenmiştir (162).

Marchetti ve arkadaşlarının 2018 yılında yaptıkları çalışmada, G-kuadrupleks bağlayıcı trisübstitüe naftalen diimid bileşiği olan 2,7-bis(3-morfolinopropil)-4-((2-(pirolidin-1-il)etil)amino)benzo[lmn][3,8]fenantralin-1,3,6,8(2H,7H)-tetron (CM03) kullanılmıştır. Bu bileşik, bilgisayar modellemesiyle tasarlanmış olup, pankreatik duktal adenokarsinoma (PDAK) hücre hatlarında güçlü bir hücre büyüme inhibitörü olarak antikanser aktivite gösterir ve yaygın olarak kullanılan gemcitabin'e kıyasla daha üstün bir profile sahiptir. MM41 adlı G-kuadrupleks ligandının, PDAK ksenograft modelinde tümör hacmini yaklaşık %80 oranında azalttığı gösterilmiş olsa da, yüksek moleküler ağırlığı ve dört pozitif yükü nedeniyle optimal bir ilaç adayı değildir. CM03 ise, MM41 ile aynı etkinliği göstermesinin yanında, normal fibroblastlara karşı daha düşük sitotoksitesi olup kanser hücrelerine daha yüksek seçicilik sağlar.

Çalışmada, MIA PaCa-2 pankreas tümör modelinde, fareler üzerinde haftada iki kez 10 ve 15 mg/kg CM03 dozu 4 hafta boyunca uygulanmış, ayrıca MM41 ve gemcitabin ile tedavi edilen iki ayrı grup kontrol edilmiştir. CM03'ün doz bağımlı antitümör etkisi gözlenmiş, en iyi sonuçlar 15 mg/kg CM03 uygulanan grupta elde edilmiştir. Tüm gruplarda anlamlı tümör büyüme inhibisyonu ( $p < 0.001$ ) kaydedilmiş ve hiçbir olumsuz etki gözlemlenmemiştir. Histopatolojik analizler, hayati organlarda herhangi bir hasar olmadığını göstermiştir. CM03'ün, tedavi sonrasında dahi tümör büyümesini engelleyen etkisinin devam ettiği tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, CM03'ün G-kuadrupleks yapılarına spesifik bağlanarak PDAK hücrelerinde gen ekspresyon yollarını etkileyen güçlü bir inhibitör olduğu gösterilmiş ve kanser tedavisinde umut verici bir strateji olarak öne çıkmıştır (163).

G-kuadrupleks stabilizasyonu sağlayarak etkinlik gösteren moleküllerin yeni ilaç çalışmaları için umut vaat ettiği görülmekte olup çalışmamızda kullandığımız AC-2 ve AC-3 molekülleri, doza bağlı olarak hTERT ekspresyonunu azaltması ve telomer uzunluğunda kısalma sağlaması açısından istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar vermiştir. AC-2 ve AC-3 moleküllerinin in vitro şartlarda gösterdikleri sitotoksikite ve telomer uzunluğu kısalması, bu moleküllerin pankreas kanseri tedavisinde potansiyel olarak etkili olabileceğini düşündürmektedir. İn vitro çalışmaların sonuçlarını destekleyecek in vivo araştırmaların yapılması, bu moleküllerin tümör hacmi üzerindeki etkileri ve toksisitelerinin değerlendirilmesi açısından büyük önem taşımaktadır.

2018 yılında Zeng ve arkadaşları, 5-FdU (5-fluoro-2'-deoxyuridine) tedavisinin telomeraz pozitif pankreas kanseri MIA-PaCa2 ve akciğer adenokarsinomu A549 hücrelerinde doz bağımlı şekilde hücre ölümüne yol açtığını göstermiştir. Çalışma, telomeraz aktivitesini bir "Truva atı" olarak kullanarak, toksik ve yabancı nükleotidlerin seçici olarak telomer fonksiyon bozukluğu ve daha hızlı hücre ölümü indüklemesini öneren alternatif bir stratejiyi desteklemektedir. İlk bulgular, florlanmış pirimidin analoglarından 5-FdUTP'nin telomeraz aracılığıyla ssDNA'nın etkili bir substratı olduğunu göstermiştir. İlginç bir şekilde, 5-FdU tedavisi, telomeraz bağımlı şekilde 3 gün içinde belirgin bir hücre ölümüne yol açmaktadır. Bu sonuçlar, telomerazın 5-FdU'yu telomerlere yanlış yerleştirdiğini ve klinik olarak uygun konsantrasyonlarda insan kanser hücrelerinin hızlı bir şekilde ölümüne neden olduğunu önermektedir (164).



Yan ve arkadaşları 2020 yılında yaptıkları çalışmada, Sanguinarin klorür (SC) ve brezilil (Braz) ürünlerinin etkilerini incelediler. SC, çeşitli kanser hücrelerinde hTERT ekspresyonu ve telomeraz aktivitesi üzerinde belirgin bir baskılayıcı etki gösterirken, Braz, belirli kanser hücre türlerinde telomerazı seçici olarak inhibe etmiştir. Brezilil, hTERT geninin ekspresyonunu downregüle ederek relatif telomeraz aktivitesini (RTA) inhibe etmiş ve hücre büyümesini G2/M evresi duraklamasıyla yavaşlatmıştır, ancak bu etkiler yalnızca bazı kanser hücrelerinde gözlemlenmiştir. Öte yandan, SC, kanser hücrelerinde geniş bir etki aralığı ve güçlü bir telomeraz ve hücre büyüme inhibisyonu sergilemiştir. SC, hTERT ekspresyonunu downregüle eder ve bu durum, hTERT transkripsiyonel aktivitesini doğrudan değiştirerek ve c-myc ailesi, p65 gibi bazı hTERT düzenleyici transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonundaki azalma ile ilişkili olabilir. Ayrıca, SC'nin hTERT'i doğrudan bağlayıp telomeraz aktivitesini inhibe edebildiği ve düşük dozlarda in vitro ve in vivo telomerik G-kuadrupleks oluşumunu etkilemeden inhibisyon sağladığı belirlenmiştir (165).

Deeb ve ark 2014 yılında yaptıkları çalışmada, pristimerin (PM) adlı bir kinonemetid triterpenoidin MiaPaCa-2 ve Panc-1 pankreatik duktal adenokarsinom (PDA) hücre hatları üzerindeki antikanser etkisi ve etki mekanizması değerlendirilmiştir. Pristimerin, 1.25 ila 5  $\mu$ M konsantrasyonlarında her iki hücre hattının proliferasyonunu önemli ölçüde inhibe etmiştir. PM ile hücre proliferasyonunun inhibisyonu, apoptotik belirteçler olan Annexin V bağlanması ve PARP-1'in parçalanması ile gösterilen apoptoz ile ilişkilidir (166)

Çalışmamızda kullandığımız moleküllerin pankreas kanseri hücre hattında hTERT ekspresyonunu azaltarak telomeraz enzim inhibisyonu yaptığını ve bu etkinin doza bağımlı olduğunu gösterdik. Ancak bizim çalışmamız pankreas kanseri hattı ile sınırlı olup aynı zamanda moleküler etki mekanizması da çalışılmamıştır. AC-2 ve AC-3 moleküllerinin farklı kanser hücre kültürlerinde sitotoksikite ve telomeraz inhibisyonu etkilerinin değerlendirilmesinin faydalı olacağını düşünüyoruz.

İşleme deseni genellikle, mRNA'nın transkripsiyonu sonrasında mRNA'nın nasıl düzenlendiği ve işlendiği anlamına gelir. Bu süreçler arasında splicing (işleme), yani mRNA'daki intronların çıkarılması ve ekzonların birleştirilmesi, alternatif splicing ve diğer post-transkripsiyonel modifikasyonlar yer alır.

Ligand 12459, triazin serisine ait etkili bir G-kuadrupleks etkileşimli ajan olup, daha önce insan A549 akciğer kanseri hücre hattında telomeraz aktivitesini downregüle ettiği gösterilmiştir. Gomez ve arkadaşları 2004 yılında yaptıkları çalışmada, telomeraz aktivitesinin downregülasyonunun 12459'un neden olduğu hTERT işleme desenindeki değişikliklerden kaynaklandığını ortaya koymuşlardır. 12459'a karşı direnç gösteren A549 hücre hattı klonları, hTERT işleme desenleri açısından analiz edilmiştir. Bu dirençli klonlar, 12459 tedavisi altında aktif hTERT transkriptini koruyabilmektedir, bu da 12459'un neden olduğu işleme değişikliklerini aşabilen mekanizmaların geliştiğini öne sürmektedir. 12459'un aksine, telomestatin ve BRACO19, A549 hücrelerinde hTERT işleme desenine etkisi olmayan diğer iki G-kuadrupleks etkileşimli ajan olup, A549-dirençli klonlar üzerinde sitotoksiktir ve hTERT G-kuadruplekslerini stabilize etme etkinlikleri daha düşüktür. 12459, BRACO19 ve telomestatin arasındaki G-kuadrupleks seçicilik farklılıkları, hTERT işlenmesine olan etkilerini ve etkisizliklerini açıklamada önemli olabilir (167).

Çalışmamızda kullandığımız moleküller hTERT ekspresyonunda azalmaya neden olmaktadır ancak işleme deseni üzerine herhangi bir araştırmamız olmamıştır. Bu doğrultuda çalışmamızda kullandığımız moleküller ile yapılacak ileri düzey araştırmalar sonucunda moleküllerin G-kuadrupleks yapılarına olan seçiciliklerinin araştırılmasının gerekli olduğunu düşünüyoruz.

2023 yılında kliniğimizde yapılan çalışmada, daha önce araştırılmamış ve yeni sentezlenmiş antrakinin yan zincir taşıyan ftalosiyanın türevleri (B7 ve B9) üzerinde incelemeler gerçekleştirilmiştir. Bu bileşiklerin insan pankreas hücre hattında sitotoksik etki gösterdiği belirlenmiştir. PANC-1 hücre hattında 24 saatlik B7 ve B9 tedavisi sonucunda hTERT ekspresyonunda sırasıyla -13,09 kat ve -16,91 kat azalma gözlemlenmiştir. Mia-Paca hücre hattında ise, 48 saatlik tedavi sonrası B7 ve B9'un hTERT ekspresyonunu sırasıyla -3,12 kat ve -1,48 kat azalttığı bulunmuştur. Ancak, bu çalışmada telomer uzunluğu değerlendirilmemiştir ve kullanılan moleküller suda çözünmemektedir. Moleküllerin telomerik G-kuadrupleks DNA'ya bağlanma enerjisi yüksek olsa da, bu bağlanma seçici değildir (168).

Bizim çalışmamız da antrakinin yan zinciri taşıyan ftalosiyanın molekülleri (AC-1, AC-2, AC-3, MC-1, MC-2) kullanılmış olup önceki çalışmadakine benzer şekilde PANC-1 hücre hattında AC-1 ve AC-2 moleküllerinde hTERT ekspresyonunda

anlamli azalma gosterilmisttir. Ayrlica calismamizda AC-1 ve AC-2 molekulleri ile telomeraz uzunlugunda 0,0076 ve 0,169 kat kismalma gosterilmis olup bu anlamli fark calismada kullandigimiz molekullerin pankreas kanseri icin olasi terapötik ajan olmasi acısından umut vadetmektedir. AC-1 ve AC-2 molekullerinin önemli bir farki suda çözünebilir özellikte olmasidir. Klinigimizde yürütölen önceki calismada kullanılan molekuller ile bizim calismamizda kullandigimiz molekuller birlikte değerlendirilerek canlı dokularda çalışılması ve yapılacak in vivo deneyler ile molekullerin etki, yan etki, toksisite gibi klinik kullanım için önemli veriler elde edilmesi planlanmaktadır.

## 6. SONUÇ

Çalışmamızda üzerinde çalışma yapılmamış ve yeni sentezlenen, suda çözünebilir özellikte, klik kimyası ile sentezlenen ftalosiyanın türevi 5 molekülün (AC-1, AC-2, AC-3, MC-1, MC-2) in vitro pankreas tümör modelinde etkinlikleri değerlendirilmesi için hücrelerin hTERT ekspresyon analizleri ve telomer uzunlukları incelenmiş olup;

1. PANC-1 hücre hattında hTERT ekspresyonu AC-1 için 1,09 kat, AC-2 için 2,75 kat, AC-3 için 2,41 kat azalırken MC-1 ve MC-2 için hTERT ekspresyonunda herhangi bir azalma tespit etmedik.
2. Telomer uzunluk analizinde AC-1 için 0,4730 kat, AC-2 için 0,0076 kat, AC-3 için 0,0169 kat, MC-1 için 0,289 kat, MC-2 için 0,560 kat azalma tespit ettik.
3. İn vitro yaptığımız çalışmada AC-1 ve AC-2 molekülleri için hem hTERT ekspresyonunda azalma hem de telomer uzunluğunda kısalma açısından anlamlı sonuçlar çıkmış olup bu moleküllerin insan pankreas hücre hattında sitotoksik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Pankreas kanseri açısından olası aday olarak değerlendirilebilecek bu iki molekül için daha kapsamlı araştırmalar yapılması gerekmektedir.
4. PANC-1 hücre hattı ile anlamlı sonuçlar elde edilmiş olsa da Mia-PaCa-2 hücre hatlarında da çalışılarak moleküllerin etkinliklerinin konfirme edilmesi planlanmaktadır.
5. Çalışmamızda kullandığımız moleküllerin suda çözünebilir olması önemli bir avantaj olup ileri dönemde AC-2 ve AC-3 moleküllerinin in vivo çalışmalar ile klinik etkileri, yan etkileri ve pankreas kanser hücrelerine selektiviteleri gibi klinik veriler elde etmeye yönelik araştırmalar planlanmaktadır.
6. Çalışmamızda kullandığımız moleküllerin telomerik G-Kuadrupleks DNA'ya bağlanma enerjileri yüksek olmasına rağmen selektif değildir. Daha selektif moleküllerin sentezlenebilmesi için çalışmalar devam etmektedir.

**Sonuç olarak:**

Elde ettiğimiz veriler, yeni sentezlenen ve özgün moleküllerin pankreas kanseri hücre hattında anlamlı sitotoksosite sonuçları ortaya koyduğunu göstermektedir. Bu moleküller, pankreas kanseri için potansiyel tedavi ajanları olarak heyecan verici bir umut sunmaktadır. Moleküllerin suda çözünebilir özellikte olması, olası klinik uygulamalar açısından avantaj sağlamaktadır. Bu verilerin in vivo şartlarda daha ileri araştırmalarla değerlendirilmesi ve moleküllerin pankreas kanseri hücrelerine selektif etkilerinin araştırılması önemlidir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Siegel RL, Miller KD, Wagle NS, Jemal A. Cancer statistics, 2023. *CA Cancer J Clin.* 2023 Jan;73(1):17–48.
2. Ilic M, Ilic I. Epidemiology of pancreatic cancer. Vol. 22, *World Journal of Gastroenterology.* Baishideng Publishing Group Co; 2016. p. 9694–705.
3. Bray F, Laversanne M, Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2024 May;74(3):229–63.
4. Bures J, Kohoutova D, Skrha J, Bunganic B, Ngo O, Suchanek S, et al. Diabetes Mellitus in Pancreatic Cancer: A Distinct Approach to Older Subjects with New-Onset Diabetes Mellitus. Vol. 15, *Cancers.* Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2023.
5. Park W, Chawla A, O'Reilly EM. Pancreatic Cancer: A Review. Vol. 326, *JAMA - Journal of the American Medical Association.* American Medical Association; 2021. p. 851–62.
6. Lambert A, Schwarz L, Borbath I, Henry A, Van Laethem JL, Malka D, et al. An update on treatment options for pancreatic adenocarcinoma. Vol. 11, *Therapeutic Advances in Medical Oncology.* SAGE Publications Inc.; 2019.
7. Crowley F, Park W, O'Reilly EM. Targeting DNA damage repair pathways in pancreas cancer. Vol. 40, *Cancer and Metastasis Reviews.* Springer; 2021. p. 891–908.
8. Sansone V, Le Grazie M, Roselli J, Polvani S, Galli A, Tovoli F, et al. Telomerase reactivation is associated with hepatobiliary and pancreatic cancers. Vol. 19, *Hepatobiliary and Pancreatic Diseases International.* Elsevier (Singapore) Pte Ltd; 2020. p. 420–8.
9. Wojtowicz ME, Dunn BK, Umar A. Immunologic approaches to cancer prevention - Current status, challenges, and future perspectives. Vol. 43, *Seminars in Oncology.* W.B. Saunders; 2016. p. 161–72.
10. Mukherji R, Debnath D, Hartley ML, Noel MS. The Role of Immunotherapy in Pancreatic Cancer. Vol. 29, *Current Oncology.* MDPI; 2022. p. 6864–92.
11. Ramos CIV, Almeida SP, Lourenço LMO, Pereira PMR, Fernandes R, Amparo Faustino MF, et al. Multicharged phthalocyanines as selective ligands for G-quadruplex DNA structures. *Molecules.* 2019 Feb 18;24(4).
12. Townsend JCM, R. Daniel Beauchamp, B. Mark Evers, Kenneth L. Mattox. *Sabiston textbook of surgery.* 20th ed. Elsevier - Health Sciences Division; 2016.
13. Fisher WE, Andersen DK, Windsor JA, Dudeja V, Brunnicardi FC. *Schwartz's Principles of Surgery.* 11th ed. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2019.
14. Mastracci TL, Apte M, Amundadottir LT, Alvarsson A, Artandi S, Bellin MD, et al. *Integrated Physiology of the Exocrine and Endocrine Compartments in*

- Pancreatic Diseases: Workshop Proceedings. *Diabetes*. 2023 Apr 1;72(4):433–48.
15. Keller J, Layer P. Human pancreatic exocrine response to nutrients in health and disease. Vol. 54, *Gut*. BMJ Publishing Group; 2005.
  16. Röder P V., Wu B, Liu Y, Han W. Pancreatic regulation of glucose homeostasis. Vol. 48, *Experimental & molecular medicine*. 2016. p. e219.
  17. Atkinson MA, Campbell-Thompson M, Kusmartseva I, Kaestner KH. Organisation of the human pancreas in health and in diabetes. Vol. 63, *Diabetologia*. Springer; 2020. p. 1966–73.
  18. Sun Y, Asnicar M, Saha PK, Chan L, Smith RG. Ablation of ghrelin improves the diabetic but not obese phenotype of ob/ob mice. *Cell Metab*. 2006 May;3(5):379–86.
  19. Quoc Lam B, Shrivastava SK, Shrivastava A, Shankar S, Srivastava RK. The Impact of obesity and diabetes mellitus on pancreatic cancer: Molecular mechanisms and clinical perspectives. Vol. 24, *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. Blackwell Publishing Inc.; 2020. p. 7706–16.
  20. Stoffel EM, Brand RE, Goggins M. Pancreatic Cancer: Changing Epidemiology and New Approaches to Risk Assessment, Early Detection, and Prevention. *Gastroenterology*. 2023 Apr 1;164(5):752–65.
  21. Rawla P, Sunkara T, Gaduputi V. Epidemiology of Pancreatic Cancer: Global Trends, Etiology and Risk Factors. *World J Oncol*. 2019;10(1):10–27.
  22. Bora Başara B, Soyutun Çağlar İ, Aygün A, Özdemir TA. Sağlık İstatistikleri Yıllığı 2018, Sağlık Bilgi Sistemleri Genel Müdürlüğü, Sağlık Bakanlığı, Ankara,2019.
  23. Luo J, Xiao L, Wu C, Zheng Y, Zhao N. The incidence and survival rate of population-based pancreatic cancer patients: Shanghai Cancer Registry 2004-2009. *PLoS One*. 2013;8(10):e76052.
  24. Vincent A, Herman J, Schulick R, Hruban RH, Goggins M. Pancreatic cancer. *Lancet*. 2011 Aug 13;378(9791):607–20.
  25. McGuigan A, Kelly P, Turkington RC, Jones C, Coleman HG, McCain RS. Pancreatic cancer: A review of clinical diagnosis, epidemiology, treatment and outcomes. Vol. 24, *World Journal of Gastroenterology*. Baishideng Publishing Group Co; 2018. p. 4846–61.
  26. Wahi MM, Shah N, Schrock CE, Rosemurgy AS, Goldin SB. Reproductive Factors and Risk of Pancreatic Cancer in Women: A Review of the Literature. Vol. 19, *Annals of Epidemiology*. 2009. p. 103–11.
  27. Yadav D, Lowenfels AB. The epidemiology of pancreatitis and pancreatic cancer. *Gastroenterology*. 2013;144(6):1252–61.
  28. Longnecker DS, Karagas MR, Tosteson TD, Mott LA. Racial differences in pancreatic cancer: comparison of survival and histologic types of pancreatic carcinoma in Asians, blacks, and whites in the United States. *Pancreas*. 2000 Nov;21(4):338–43.

29. Wolpin BM, Chan AT, Hartge P, Chanock SJ, Kraft P, Hunter DJ, et al. ABO blood group and the risk of pancreatic cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2009 Mar 18;101(6):424–31.
30. Hruban RH, Canto MI, Goggins M, Schulick R, Klein AP. Update on familial pancreatic cancer. *Adv Surg.* 2010;44:293–311.
31. Becker AE, Hernandez YG, Frucht H, Lucas AL. Pancreatic ductal adenocarcinoma: Risk factors, screening, and early detection. Vol. 20, *World Journal of Gastroenterology.* WJG Press; 2014. p. 11182–98.
32. Ghiorzo P. Genetic predisposition to pancreatic cancer. *World J Gastroenterol.* 2014 Aug 21;20(31):10778–89.
33. Shi C, Daniels JA, Hruban RH. Molecular characterization of pancreatic neoplasms. *Adv Anat Pathol.* 2008 Jul;15(4):185–95.
34. Solomon S, Das S, Brand R, Whitcomb DC. Inherited Pancreatic Cancer Syndromes. *The Cancer Journal.* 2012 Nov;18(6):485–91.
35. Couch FJ, Johnson MR, Rabe KG, Brune K, de Andrade M, Goggins M, et al. The prevalence of BRCA2 mutations in familial pancreatic cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2007 Feb;16(2):342–6.
36. Murphy KM, Brune KA, Griffin C, Sollenberger JE, Petersen GM, Bansal R, et al. Evaluation of candidate genes MAP2K4, MADH4, ACVR1B, and BRCA2 in familial pancreatic cancer: deleterious BRCA2 mutations in 17%. *Cancer Res.* 2002 Jul 1;62(13):3789–93.
37. Tischkowitz MD, Sabbaghian N, Hamel N, Borgida A, Rosner C, Taherian N, et al. Analysis of the Gene Coding for the BRCA2-Interacting Protein PALB2 in Familial and Sporadic Pancreatic Cancer. *Gastroenterology.* 2009 Sep;137(3):1183–6.
38. Slater EP, Langer P, Niemczyk E, Strauch K, Butler J, Habbe N, et al. PALB2 mutations in European familial pancreatic cancer families. *Clin Genet.* 2010 Nov;78(5):490–4.
39. Klein AP. Genetic susceptibility to pancreatic cancer. *Mol Carcinog.* 2012 Jan;51(1):14–24.
40. Stevens RJ, Roddam AW, Beral V. Pancreatic cancer in type 1 and young-onset diabetes: systematic review and meta-analysis. *Br J Cancer.* 2007 Feb 12;96(3):507–9.
41. Grote VA, Rohrmann S, Nieters A, Dossus L, Tjønneland A, Halkjær J, et al. Diabetes mellitus, glycated haemoglobin and C-peptide levels in relation to pancreatic cancer risk: a study within the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) cohort. *Diabetologia.* 2011 Dec;54(12):3037–46.
42. Iodice S, Gandini S, Maisonneuve P, Lowenfels AB. Tobacco and the risk of pancreatic cancer: a review and meta-analysis. *Langenbecks Arch Surg.* 2008 Jul;393(4):535–45.



43. Cummings KM, Dresler CM, Field JK, Fox J, Gritz ER, Hanna NH, et al. E-cigarettes and cancer patients. *J Thorac Oncol*. 2014 Apr;9(4):438–41.
44. Wang YT, Gou YW, Jin WW, Xiao M, Fang HY. Association between alcohol intake and the risk of pancreatic cancer: a dose-response meta-analysis of cohort studies. *BMC Cancer*. 2016 Mar 12;16:212.
45. Samokhvalov A V, Rehm J, Roerecke M. Alcohol Consumption as a Risk Factor for Acute and Chronic Pancreatitis: A Systematic Review and a Series of Meta-analyses. *EBioMedicine*. 2015 Dec;2(12):1996–2002.
46. Raimondi S, Lowenfels AB, Morselli-Labate AM, Maisonneuve P, Pezilli R. Pancreatic cancer in chronic pancreatitis; aetiology, incidence, and early detection. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2010 Jun;24(3):349–58.
47. Berrington de Gonzalez A, Sweetland S, Spencer E. A meta-analysis of obesity and the risk of pancreatic cancer. *Br J Cancer*. 2003 Aug 4;89(3):519–23.
48. Isaksen IM, Dankel SN. Ultra-processed food consumption and cancer risk: A systematic review and meta-analysis. *Clin Nutr*. 2023 Jun;42(6):919–28.
49. Fesinmeyer MD, Austin MA, Li CI, De Roos AJ, Bowen DJ. Differences in Survival by Histologic Type of Pancreatic Cancer [Internet]. 2005. Available from: <http://aacrjournals.org/cebp/article-pdf/14/7/1766/1749242/1766-1773.pdf>
50. Hollingsworth MA. Proteins expressed by pancreatic duct cells and their relatives. *Ann N Y Acad Sci*. 1999 Jun 30;880:38–49.
51. Li D, Jiao L. Molecular epidemiology of pancreatic cancer. *Int J Gastrointest Cancer*. 2003;33(1):3–14.
52. Ghiorzo P. Genetic predisposition to pancreatic cancer. *World J Gastroenterol*. 2014 Aug 21;20(31):10778–89.
53. Rindi G, Bordi C. Highlights of the biology of endocrine tumours of the gut and pancreas. *Endocr Relat Cancer*. 2003 Dec;10(4):427–36.
54. Klimstra DS. Nonductal neoplasms of the pancreas. *Mod Pathol*. 2007 Feb;20 Suppl 1:S94-112.
55. Esposito I, Konukiewitz B, Schlitter AM, Klöppel G. Pathology of pancreatic ductal adenocarcinoma: Facts, challenges and future developments. *World J Gastroenterol*. 2014 Oct 14;20(38):13833–41.
56. Koorstra JBM, Feldmann G, Habbe N, Maitra A. Morphogenesis of pancreatic cancer: role of pancreatic intraepithelial neoplasia (PanINs). *Langenbecks Arch Surg*. 2008 Jul;393(4):561–70.
57. Distler M, Aust D, Weitz J, Pilarsky C, Grützmann R. Precursor lesions for sporadic pancreatic cancer: PanIN, IPMN, and MCN. Vol. 2014, *BioMed Research International*. Hindawi Publishing Corporation; 2014.
58. Hruban RH, Maitra A, Kern SE, Goggins M. Precursors to Pancreatic Cancer +.

59. Brugge WR, Lauwers GY, Sahani D, Fernandez-del Castillo C, Warshaw AL. Cystic neoplasms of the pancreas. *N Engl J Med*. 2004 Sep 16;351(12):1218–26.
60. Schlitter AM, Esposito I. [Pathology and classification of intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas]. *Chirurg*. 2012 Feb;83(2):110–5.
61. Niedgerthmann M, Grützmann R, Hildenbrand R, Dittert D, Aramin N, Franz M, et al. Outcome of invasive and noninvasive intraductal papillary-mucinous neoplasms of the pancreas (IPMN): a 10-year experience. *World J Surg*. 2008 Oct;32(10):2253–60.
62. Furukawa T, Klöppel G, Volkan Adsay N, Albores-Saavedra J, Fukushima N, Horii A, et al. Classification of types of intraductal papillary-mucinous neoplasm of the pancreas: a consensus study. *Virchows Arch*. 2005 Nov;447(5):794–9.
63. Kitazono I, Higashi M, Kitamoto S, Yokoyama S, Horinouchi M, Osako M, et al. Expression of MUC4 mucin is observed mainly in the intestinal type of intraductal papillary mucinous neoplasm of the pancreas. *Pancreas*. 2013 Oct;42(7):1120–8.
64. Kanda M, Matthaei H, Wu J, Hong SM, Yu J, Borges M, et al. Presence of somatic mutations in most early-stage pancreatic intraepithelial neoplasia. *Gastroenterology*. 2012 Apr;142(4):730-733.e9.
65. Distler M, Welsch T, Aust D, Weitz J, Grützmann R. [Intraductal papillary mucinous neoplasm of the pancreas (IPMN)--standards and new aspects]. *Zentralbl Chir*. 2014 Jun;139(3):308–17.
66. Grützmann R, Saeger HD. [Cystic tumors of the pancreas]. *Chirurg*. 2010 Aug;81(8):755–68; quiz 769.
67. Crippa S, Salvia R, Warshaw AL, Domínguez I, Bassi C, Falconi M, et al. Mucinous cystic neoplasm of the pancreas is not an aggressive entity: lessons from 163 resected patients. *Ann Surg*. 2008 Apr;247(4):571–9.
68. Matthaei H, Schulick RD, Hruban RH, Maitra A. Cystic precursors to invasive pancreatic cancer. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2011 Mar;8(3):141–50.
69. Baker ML, Seeley ES, Pai R, Suriawinata AA, Mino-Kenudson M, Zamboni G, et al. Invasive mucinous cystic neoplasms of the pancreas. *Exp Mol Pathol*. 2012 Dec;93(3):345–9.
70. Grant TJ, Hua K, Singh A. Molecular Pathogenesis of Pancreatic Cancer. In: *Progress in Molecular Biology and Translational Science*. Elsevier B.V.; 2016. p. 241–75.
71. Hong SM, Park JY, Hruban RH, Goggins M. Molecular Signatures of Pancreatic Cancer. Vol. 135, *Arch Pathol Lab Med*. 2011.
72. Jones S, Zhang X, Parsons DW, Lin JCH, Leary RJ, Angenendt P, et al. Core signaling pathways in human pancreatic cancers revealed by global genomic analyses. *Science*. 2008 Sep 26;321(5897):1801–6.

73. Zavoral M, Minarikova P, Zavada F, Salek C, Minarik M. Molecular biology of pancreatic cancer. *World J Gastroenterol*. 2011;17(24):2897–908.
74. Khoo KH, Verma CS, Lane DP. Drugging the p53 pathway: understanding the route to clinical efficacy. *Nat Rev Drug Discov*. 2014 Mar;13(3):217–36.
75. Weissmueller S, Manchado E, Saborowski M, Morris JP, Wagenblast E, Davis CA, et al. Mutant p53 drives pancreatic cancer metastasis through cell-autonomous PDGF receptor  $\beta$  signaling. *Cell*. 2014 Apr 10;157(2):382–94.
76. Hong SM, Park JY, Hruban RH, Goggins M. Molecular signatures of pancreatic cancer. *Arch Pathol Lab Med*. 2011 Jun;135(6):716–27.
77. Hezel AF, Kimmelman AC, Stanger BZ, Bardeesy N, Depinho RA. Genetics and biology of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Genes Dev*. 2006 May 15;20(10):1218–49.
78. Molina JR, Adjei AA. The Ras/Raf/MAPK pathway. *J Thorac Oncol*. 2006 Jan;1(1):7–9.
79. Roy SK, Srivastava RK, Shankar S. Inhibition of PI3K/AKT and MAPK/ERK pathways causes activation of FOXO transcription factor, leading to cell cycle arrest and apoptosis in pancreatic cancer. *J Mol Signal*. 2010 Jul 19;5:10.
80. Lee ES, Lee M, Lee JM. Imaging diagnosis of pancreatic cancer: A state-of-the-art review WJG 20 th Anniversary Special Issues (14): Pancreatic cancer. *World J Gastroenterol*. 2014;20(24):7864–77.
81. Wang XY, Yang F, Jin C, Fu DL. Utility of PET/CT in diagnosis, staging, assessment of resectability and metabolic response of pancreatic cancer. *World J Gastroenterol*. 2014 Nov 14;20(42):15580–9.
82. Fahrman JF, Schmidt CM, Mao X, Irajizad E, Loftus M, Zhang J, et al. Lead-Time Trajectory of CA19-9 as an Anchor Marker for Pancreatic Cancer Early Detection. *Gastroenterology*. 2021 Mar;160(4):1373-1383.e6.
83. Lee JS, Park SS, Lee YK, Norton JA, Jeffrey SS. Liquid biopsy in pancreatic ductal adenocarcinoma: current status of circulating tumor cells and circulating tumor DNA. *Mol Oncol*. 2019 Aug;13(8):1623–50.
84. Liao X, Zhang D. The 8th Edition American Joint Committee on Cancer Staging for Hepato-pancreato-biliary Cancer: A Review and Update. *Arch Pathol Lab Med*. 2021 May 1;145(5):543–53.
85. Demir IE, Jäger C, Schlitter AM, Konukiewitz B, Stecher L, Schorn S, et al. R0 Versus R1 Resection Matters after Pancreaticoduodenectomy, and Less after Distal or Total Pancreatectomy for Pancreatic Cancer. *Ann Surg*. 2018 Dec;268(6):1058–68.
86. Strobel O, Hank T, Hinz U, Bergmann F, Schneider L, Springfield C, et al. Pancreatic Cancer Surgery: The New R-status Counts. *Ann Surg*. 2017 Mar;265(3):565–73.
87. Tempero MA, Malafa MP, Al-Hawary M, Asbun H, Bain A, Behrman SW, et al. Pancreatic Adenocarcinoma, Version 2.2017, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw*. 2017 Aug;15(8):1028–61.

88. Komo T, Murakami Y, Kondo N, Uemura K, Hashimoto Y, Nakagawa N, et al. Prognostic Impact of Para-Aortic Lymph Node Micrometastasis in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Ann Surg Oncol*. 2016 Jun;23(6):2019–27.
89. Malleo G, Maggino L, Ferrone CR, Marchegiani G, Warshaw AL, Lillemoe KD, et al. Reappraising the Concept of Conditional Survival After Pancreatectomy for Ductal Adenocarcinoma. *Ann Surg*. 2020 Jun;271(6):1148–55.
90. Venkat R, Edil BH, Schulick RD, Lidor AO, Makary MA, Wolfgang CL. Laparoscopic distal pancreatectomy is associated with significantly less overall morbidity compared to the open technique: a systematic review and meta-analysis. *Ann Surg*. 2012 Jun;255(6):1048–59.
91. Buchs NC, Chilcott M, Poletti PA, Buhler LH, Morel P. Vascular invasion in pancreatic cancer: Imaging modalities, preoperative diagnosis and surgical management. *World J Gastroenterol*. 2010 Feb 21;16(7):818–31.
92. Neoptolemos JP, Palmer DH, Ghaneh P, Psarelli EE, Valle JW, Halloran CM, et al. Comparison of adjuvant gemcitabine and capecitabine with gemcitabine monotherapy in patients with resected pancreatic cancer (ESPAC-4): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet*. 2017 Mar 11;389(10073):1011–24.
93. Klinkenbijn JH, Jeekel J, Sahnoud T, van Pel R, Couvreur ML, Veenhof CH, et al. Adjuvant radiotherapy and 5-fluorouracil after curative resection of cancer of the pancreas and periampullary region: phase III trial of the EORTC gastrointestinal tract cancer cooperative group. *Ann Surg*. 1999 Dec;230(6):776–82; discussion 782-4.
94. Sohal DPS, Duong M, Ahmad SA, Gandhi NS, Beg MS, Wang-Gillam A, et al. Efficacy of Perioperative Chemotherapy for Resectable Pancreatic Adenocarcinoma: A Phase 2 Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncol*. 2021 Mar 1;7(3):421–7.
95. Versteijne E, Suker M, Groothuis K, Akkermans-Vogelaar JM, Besselink MG, Bonsing BA, et al. Preoperative Chemoradiotherapy Versus Immediate Surgery for Resectable and Borderline Resectable Pancreatic Cancer: Results of the Dutch Randomized Phase III PREOPANC Trial. *J Clin Oncol*. 2020 Jun 1;38(16):1763–73.
96. Katz MHG, Shi Q, Meyers JP, Herman JM, Choung M, Wolpin BM, et al. Alliance A021501: Preoperative mFOLFIRINOX or mFOLFIRINOX plus hypofractionated radiation therapy (RT) for borderline resectable (BR) adenocarcinoma of the pancreas. *Journal of Clinical Oncology*. 2021 Jan 20;39(3\_suppl):377–377.
97. Vauthey JN, Dixon E. AHPBA/SSO/SSAT Consensus Conference on Resectable and Borderline Resectable Pancreatic Cancer: rationale and overview of the conference. *Ann Surg Oncol*. 2009 Jul;16(7):1725–6.
98. Moffat GT, Epstein AS, O'Reilly EM. Pancreatic cancer-A disease in need: Optimizing and integrating supportive care. *Cancer*. 2019 Nov 15;125(22):3927–35.

99. Xu Y, Goldkorn A. Telomere and telomerase therapeutics in cancer. Vol. 7, Genes. MDPI AG; 2016.
100. Guterres AN, Villanueva J. Targeting telomerase for cancer therapy. Vol. 39, Oncogene. Springer Nature; 2020. p. 5811–24.
101. Greider CW, Blackburn EH. Identification of a specific telomere terminal transferase activity in Tetrahymena extracts. Cell. 1985 Dec;43(2 Pt 1):405–13.
102. Cao Y, Bryan TM, Reddel RR. Increased copy number of the TERT and TERC telomerase subunit genes in cancer cells. Cancer Sci. 2008 Jun;99(6):1092–9.
103. Jacobs JLL, de Lange T. Significant role for p16INK4a in p53-independent telomere-directed senescence. Curr Biol. 2004 Dec 29;14(24):2302–8.
104. Seidel JA, Otsuka A, Kabashima K. Anti-PD-1 and Anti-CTLA-4 Therapies in Cancer: Mechanisms of Action, Efficacy, and Limitations. Front Oncol. 2018;8:86.
105. Zanetti M. A second chance for telomerase reverse transcriptase in anticancer immunotherapy. Nat Rev Clin Oncol. 2017 Feb;14(2):115–28.
106. Asai A, Oshima Y, Yamamoto Y, Uochi T aki, Kusaka H, Akinaga S, et al. A novel telomerase template antagonist (GRN163) as a potential anticancer agent. Cancer Res. 2003 Jul 15;63(14):3931–9.
107. Armanios M, Greider CW. Treating Myeloproliferation--On Target or Off? N Engl J Med. 2015 Sep 3;373(10):965–6.
108. Tefferi A, Lasho TL, Begna KH, Patnaik MM, Zblewski DL, Finke CM, et al. A Pilot Study of the Telomerase Inhibitor Imetelstat for Myelofibrosis. N Engl J Med. 2015 Sep 3;373(10):908–19.
109. El-Daly H, Kull M, Zimmermann S, Pantic M, Waller CF, Martens UM. Selective cytotoxicity and telomere damage in leukemia cells using the telomerase inhibitor BIBR1532. Blood. 2005 Feb 15;105(4):1742–9.
110. Kosiol N, Juranek S, Brossart P, Heine A, Paeschke K. G-quadruplexes: a promising target for cancer therapy. Vol. 20, Molecular Cancer. BioMed Central Ltd; 2021.
111. Yaku H, Murashima T, Miyoshi D, Sugimoto N. Specific binding of anionic porphyrin and phthalocyanine to the G-quadruplex with a variety of in Vitro and in Vivo applications. Vol. 17, Molecules. 2012. p. 10586–613.
112. Barthwal R, Tariq Z. Molecular Recognition of Parallel G-quadruplex [d-(TTGGGGT)]□ Containing Tetrahymena Telomeric DNA Sequence by Anticancer Drug Daunomycin: NMR-Based Structure and Thermal Stability. Molecules. 2018 Sep 5;23(9).
113. Burger AM, Dai F, Schultes CM, Reszka AP, Moore MJ, Double JA, et al. The G-quadruplex-interactive molecule BRACO-19 inhibits tumor growth, consistent with telomere targeting and interference with telomerase function. Cancer Res. 2005 Feb 15;65(4):1489–96.

114. Zeng X, Hernandez-Sanchez W, Xu M, Whited TL, Baus D, Zhang J, et al. Administration of a Nucleoside Analog Promotes Cancer Cell Death in a Telomerase-Dependent Manner. *Cell Rep*. 2018 Jun 5;23(10):3031–41.
115. Mender I, LaRanger R, Luitel K, Peyton M, Girard L, Lai TP, et al. Telomerase-Mediated Strategy for Overcoming Non-Small Cell Lung Cancer Targeted Therapy and Chemotherapy Resistance. *Neoplasia*. 2018 Aug;20(8):826–37.
116. Shain AH, Joseph NM, Yu R, Benhamida J, Liu S, Prow T, et al. Genomic and Transcriptomic Analysis Reveals Incremental Disruption of Key Signaling Pathways during Melanoma Evolution. *Cancer Cell*. 2018 Jul 9;34(1):45-55.e4.
117. Shain AH, Yeh I, Kovalyshyn I, Sriharan A, Talevich E, Gagnon A, et al. The Genetic Evolution of Melanoma from Precursor Lesions. *N Engl J Med*. 2015 Nov 12;373(20):1926–36.
118. Deeb D, Gao X, Liu Y, Pindolia K, Gautam SC. Inhibition of hTERT/telomerase contributes to the antitumor activity of pristimerin in pancreatic ductal adenocarcinoma cells. *Oncol Rep*. 2015 Jul;34(1):518–24.
119. Chen L, Roake CM, Freund A, Batista PJ, Tian S, Yin YA, et al. An Activity Switch in Human Telomerase Based on RNA Conformation and Shaped by TCAB1. *Cell*. 2018 Jun 28;174(1):218-230.e13.
120. Bandaria JN, Qin P, Berk V, Chu S, Yildiz A. Shelterin Protects Chromosome Ends by Compacting Telomeric Chromatin. *Cell*. 2016 Feb 11;164(4):735–46.
121. Soganci T, Baygu Y, Kabay N, Gök Y, Ak M. Comparative Investigation of Peripheral and Nonperipheral Zinc Phthalocyanine-Based Polycarbazoles in Terms of Optical, Electrical, and Sensing Properties. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2018 Jun 27;10(25):21654–65.
122. Tacar O, Sriamornsak P, Dass CR. Doxorubicin: an update on anticancer molecular action, toxicity and novel drug delivery systems. *J Pharm Pharmacol*. 2013 Feb;65(2):157–70.
123. Achari B, Mandal SB, Dutta PK, Chowdhury C. Perspectives on 1,4-Benzodioxins, 1,4-Benzoxazines and Their 2,3-Dihydro Derivatives. *ChemInform*. 2005 Mar 29;36(13).
124. Larrañaga MD, Lewis RJ, Lewis RA. *Hawley's Condensed Chemical Dictionary, Sixteenth Edition*. Wiley; 2016.
125. Kumari A, Singh RK. Morpholine as ubiquitous pharmacophore in medicinal chemistry: Deep insight into the structure-activity relationship (SAR). *Bioorg Chem*. 2020 Mar;96:103578.
126. Métro TX, Cochi A, Gomez Pardo D, Cossy J. Asymmetric Synthesis of an Antagonist of Neurokinin Receptors: SSR 241586. *J Org Chem*. 2011 Apr 15;76(8):2594–602.
127. Lukas RJ, Muresan AZ, Damaj MI, Blough BE, Huang X, Navarro HA, et al. Synthesis and characterization of in vitro and in vivo profiles of

- hydroxybupropion analogues: aids to smoking cessation. *J Med Chem.* 2010 Jun 24;53(12):4731–48.
128. Sun X, Niu L, Li X, Lu X, Li F. Characterization of metabolic profile of mosapride citrate in rat and identification of two new metabolites: Mosapride N-oxide and morpholine ring-opened mosapride by UPLC–ESI-MS/MS. *J Pharm Biomed Anal.* 2009 Aug;50(1):27–34.
  129. Kourounakis AP, Xanthopoulos D, Tzara A. Morpholine as a privileged structure: A review on the medicinal chemistry and pharmacological activity of morpholine containing bioactive molecules. *Med Res Rev.* 2020 Mar 12;40(2):709–52.
  130. Arshad F, Khan MF, Akhtar W, Alam MM, Nainwal LM, Kaushik SK, et al. Revealing quinquennial anticancer journey of morpholine: A SAR based review. *Eur J Med Chem.* 2019 Apr 1;167:324–56.
  131. Kolb HC, Finn MG, Sharpless KB. Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2001 Jun 1;40(11):2004–21.
  132. Kolb HC, Sharpless KB. The growing impact of click chemistry on drug discovery. *Drug Discov Today.* 2003 Dec 15;8(24):1128–37.
  133. Maddila S, Pagadala R, Jonnalagadda S. 1,2,4-Triazoles: A Review of Synthetic Approaches and the Biological Activity. *Lett Org Chem.* 2013 Nov 31;10(10):693–714.
  134. Om Silakari. *Key Heterocycle Cores for Designing Multitargeting Molecules.* Elsevier; 2018.
  135. Tam A, Armstrong IS, La Cruz TE. Multicomponent Synthesis of 1-Aryl 1,2,4-Triazoles. *Org Lett.* 2013 Jul 19;15(14):3586–9.
  136. Cankardaş A. Klık reaksiyonu ile bağlanmış morfolin grupları taşıyan suda çözünebilir çinko ftalosiyanın bileşiklerinin sentezi ve yapılarının aydınlatılması. Pamukkale Üniversitesi; 2022.
  137. Ceylan M. Morfolin grupları taşıyan suda çözünebilir çinko ftalosiyanın bileşiklerinin sentezi ve yapılarının aydınlatılması. Pamukkale Üniversitesi; 2022.
  138. Gradiz R, Silva HC, Carvalho L, Botelho MF, Mota-Pinto A. MIA PaCa-2 and PANC-1 - pancreas ductal adenocarcinoma cell lines with neuroendocrine differentiation and somatostatin receptors. *Sci Rep.* 2016 Feb 17;6:21648.
  139. Shen Y, Pu K, Zheng K, Ma X, Qin J, Jiang L, et al. Differentially expressed microRNAs in MIA PaCa-2 and PANC-1 pancreas ductal adenocarcinoma cell lines are involved in cancer stem cell regulation. *Int J Mol Sci.* 2019 Sep 2;20(18).
  140. Spiegel J, Adhikari S, Balasubramanian S. The Structure and Function of DNA G-Quadruplexes. *Trends Chem.* 2020 Feb;2(2):123–36.
  141. Wang YF, Guo KJ, Huang BT, Liu Y, Tang XY, Zhang JJ, et al. Inhibitory effects of antisense phosphorothioate oligodeoxynucleotides on pancreatic

- cancer cell Bxpc-3 telomerase activity and cell growth in vitro. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2006;12(25):4004–8. Available from: [www.wjgnet.com/http://www.wjgnet.com/1007-9327/12/4004.asp](http://www.wjgnet.com/http://www.wjgnet.com/1007-9327/12/4004.asp)
142. Xu D, Wang Q, Gruber A, Bjoè Rkholm M, Chen Z, Zaid A, et al. Downregulation of telomerase reverse transcriptase mRNA expression by wild type p53 in human tumor cells [Internet]. Available from: [www.nature.com/onc](http://www.nature.com/onc)
  143. Li Y, Guo F, Guan Y, Chen T, Ma K, Zhang L, et al. Novel anthraquinone compounds inhibit colon cancer cell proliferation via the reactive oxygen species/JNK pathway. *Molecules*. 2020;25(7).
  144. Seimiya H, Nagasawa K, Shin-Ya K. Chemical targeting of G-quadruplexes in telomeres and beyond for molecular cancer therapeutics. *J Antibiot (Tokyo)*. 2021 Oct;74(10):617–28.
  145. Tauchi T, Shin-Ya K, Sashida G, Sumi M, Okabe S, Ohyashiki JH, et al. Telomerase inhibition with a novel G-quadruplex-interactive agent, telomestatin: In vitro and in vivo studies in acute leukemia. *Oncogene*. 2006 Sep 21;25(42):5719–25.
  146. Kim MY, Gleason-Guzman M, Izbicka E, Nishioka D, Hurley LH. The different biological effects of telomestatin and TMPyP4 can be attributed to their selectivity for interaction with intramolecular or intermolecular G-quadruplex structures. *Cancer Res*. 2003 Jun 15;63(12):3247–56.
  147. Temime-Smaali N, Guittat L, Sidibe A, Shin-Ya K, Trentesaux C, Riou JF. The G-quadruplex ligand telomestatin impairs binding of topoisomerase III $\alpha$  to G-quadruplex-forming oligonucleotides and uncaps telomeres in ALT cells. *PLoS One*. 2009 Sep 9;4(9).
  148. Huang FC, Chang CC, Lou PJ, Kuo IC, Chien CW, Chen CT, et al. G-quadruplex stabilizer 3,6-bis(1-methyl-4-vinylpyridinium)carbazole diiodide induces accelerated senescence and inhibits tumorigenic properties in cancer cells. *Molecular Cancer Research*. 2008 Jun 1;6(6):955–64.
  149. Chiappori AA, Kolevska T, Spigel DR, Hager S, Rarick M, Gadgeel S, et al. A randomized phase II study of the telomerase inhibitor imetelstat as maintenance therapy for advanced non-small-cell lung cancer. *Annals of Oncology*. 2015 Feb 1;26(2):354–62.
  150. Hochreiter AE, Xiao H, Goldblatt EM, Gryaznov SM, Miller KD, Badve S, et al. Telomerase Template Antagonist GRN163L Disrupts Telomere Maintenance, Tumor Growth, and Metastasis of Breast Cancer. *Clinical Cancer Research*. 2006 May 15;12(10):3184–92.
  151. Damm K, Hemmann U, Garin-Chesa P, Huel N, Kauffmann I, Priepke H, et al. A highly selective telomerase inhibitor limiting human cancer cell proliferation. *EMBO J*. 2001 Dec 17;20(24):6958–68.
  152. Gao C, Liu Z, Hou H, Ding J, Chen X, Xie C, et al. BMPQ-1 binds selectively to (3+1) hybrid topologies in human telomeric G-quadruplex multimers. *Nucleic Acids Res*. 2020 Nov 18;48(20):11259–69.



153. Salvati E, Leonetti C, Rizzo A, Scarsella M, Mottolese M, Galati R, et al. Telomere damage induced by the G-quadruplex ligand RHPS4 has an antitumor effect. *Journal of Clinical Investigation*. 2007 Nov 1;117(11):3236–47.
154. Phatak P, Cookson JC, Dai F, Smith V, Gartenhaus RB, Stevens MFG, et al. Telomere uncapping by the G-quadruplex ligand RHPS4 inhibits clonogenic tumour cell growth in vitro and in vivo consistent with a cancer stem cell targeting mechanism. *Br J Cancer*. 2007 Apr 23;96(8):1223–33.
155. Berardinelli F, Siteni S, Tanzarella C, Stevens MF, Sgura A, Antoccia A. The G-quadruplex-stabilising agent RHPS4 induces telomeric dysfunction and enhances radiosensitivity in glioblastoma cells. *DNA Repair (Amst)*. 2015 Jan 1;25:104–15.
156. Ouellette MM, Wright WE, Shay JW. Targeting telomerase-expressing cancer cells. *J Cell Mol Med*. 2011 Jul;15(7):1433–42.
157. Rha SY, Izbicka E, Lawrence R, Davidson K, Sun D, Moyer MP, et al. Effect of telomere and telomerase interactive agents on human tumor and normal cell lines. *Clin Cancer Res*. 2000 Mar;6(3):987–93.
158. Burger AM, Dai F, Schultes CM, Reszka AP, Moore MJ, Double JA, et al. The G-Quadruplex-Interactive Molecule BRACO-19 Inhibits Tumor Growth, Consistent with Telomere Targeting and Interference with Telomerase Function [Internet]. Available from: <http://aacrjournals.org/cancerres/article-pdf/65/4/1489/2541248/1489-1496.pdf>
159. Gunaratnam M, Greciano O, Martins C, Reszka AP, Schultes CM, Morjani H, et al. Mechanism of acridine-based telomerase inhibition and telomere shortening. *Biochem Pharmacol*. 2007 Sep 1;74(5):679–89.
160. Drygin D, Siddiqui-Jain A, O'Brien S, Schwaebe M, Lin A, Bliesath J, et al. Anticancer activity of CX-3543: A direct inhibitor of rRNA biogenesis. *Cancer Res*. 2009 Oct 1;69(19):7653–61.
161. Ohnmacht SA, Marchetti C, Gunaratnam M, Besser RJ, Haider SM, Di Vita G, et al. A G-quadruplex-binding compound showing anti-tumour activity in an in vivo model for pancreatic cancer. *Sci Rep*. 2015 Jun 16;5.
162. Hänsel-Hertsch R, Beraldi D, Lensing S V, Marsico G, Zyner K, Parry A, et al. G-quadruplex structures mark human regulatory chromatin. *Nat Genet*. 2016 Oct;48(10):1267–72.
163. Marchetti C, Zyner KG, Ohnmacht SA, Robson M, Haider SM, Morton JP, et al. Targeting Multiple Effector Pathways in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma with a G-Quadruplex-Binding Small Molecule. *J Med Chem*. 2018 Mar 22;61(6):2500–17.
164. Zeng X, Hernandez-Sanchez W, Xu M, Whited TL, Baus D, Zhang J, et al. Administration of a Nucleoside Analog Promotes Cancer Cell Death in a Telomerase-Dependent Manner. *Cell Rep [Internet]*. 2018;23(10):3031–41. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.05.020>.

165. Yan S, Lin S, Chen K, Yin S, Peng H, Cai N, et al. Natural Product Library Screens Identify Sanguinarine Chloride as a Potent Inhibitor of Telomerase Expression and Activity. *Cells*. 2022 May 1;11(9).
166. Deeb D, Gao X, Liu YBO, Pindolia K, Gautam SC. Pristimerin, a quinonemethide triterpenoid, induces apoptosis in pancreatic cancer cells through the inhibition of pro-survival Akt/NF- $\kappa$ B/mTOR signaling proteins and anti-apoptotic Bcl-2. *Int J Oncol*. 2014;44(5):1707–15.
167. Gomez D, Lamarteleur T, Lacroix L, Mailliet P, Mergny JL, Riou JF. Telomerase downregulation induced by the G-quadruplex ligand 12459 in A549 cells is mediated by hTERT RNA alternative splicing. *Nucleic Acids Res*. 2004;32(1):371–9.
168. Demirci S. Denovo sentezlenen antrakinon türevlerinin pankreas kanseri hücre kültüründe etkinliğinin araştırılması. Pamukkale Üniversitesi; 2023.