



## Derleme | Review

# PANKREAS DUKTAL ADENOKARSİNOMUNDA İLAÇ DİRENCİNİN MOLEKÜLER TEMELLERİ, *IN VITRO*, *EX VIVO* VE *IN VIVO* PREKLİNİK MODELLEMELER

## MOLECULAR BASIS OF DRUG RESISTANCE IN PANCREATIC DUCTAL ADENOCARCINOMA, *IN VITRO*, *EX VIVO* AND *IN VIVO* PRECLINICAL MODELS

Yağmur Kaya<sup>1\*</sup>, Ezel Bildik<sup>1</sup>, Hilal Koçdor<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dokuz Eylül Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Temel Onkoloji Anadali, İzmir, Türkiye.



### Öz

Pankreas duktal adenokarsinomu (PDAK); tanı alındığında ileri evrelere ulaşmış olan, agresif seyirli bir malignitedir. 5 yıllık genel sağkalım oranı yalnızca %7'dir. Tümör mikroçevresinin spesifik özellikleri ve erken dönemde metastaz yapması da dahil birçok özelliği nedeniyle mortalite oranını düşürebilecek etkin bir tedavi yöntemi bulunmamaktadır. Diğer solid tümörler ile karşılaştırıldığında, uygulanan terapötik rejimler PDAK'nin tedavi direnci nedeniyle çok daha etkisiz kalmaktadır. PDAK'nin kompleks tümör mikroçevresinin tümör progresyonuna sağladığı katkı ve bunun prelinik modellere yansıtılması, klinikte kullanılması amaçlanan yeni terapötik ajanların geliştirilebilmesi için önemlidir. Bu derlemede, PDAK'nin moleküler özellikleri, tümör mikroçevresi ve tedavi direncinin moleküler temelleri ele alınmış; uygulanması hedeflenen tedavilerin klinikteki uygulamadan önceki süreçleri olan *in vitro*, *ex vivo* ve *in vivo* prelinik modellemelerden bahsedilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Pankreas kanseri, inflamasyon, prelinik modellemeler.

### ABSTRACT

Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC); it is a malignancy with an aggressive course and poor prognosis. The 5-year overall survival rate is only 7%. Due to the specific characteristics of the PDAC microenvironment and early metastasis, there is no effective treatment method that can reduce the mortality rate. Compared to other solid tumors, the therapeutic regimens applied are much less effective due to the treatment resistance of PDAC. The contribution of the complex tumor microenvironment of PDAC to tumor progression and its reflection on preclinical models are important for the development of new therapeutic agents intended for clinical use. In this review, molecular features of PDAC, tumor microenvironment and molecular basis of treatment resistance are discussed, *in vitro*, *ex vivo* and *in vivo* preclinical models, which are the processes before the targeted treatments are applied to the clinic, are mentioned.

**Keywords:** Pancreatic cancer, inflammation, preclinical models.

\*İletişim kurulacak yazar/Corresponding author: Yağmur Kaya; Dokuz Eylül Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Temel Onkoloji Anadali, İzmir, Türkiye.

Telefon/Phone: +90 (534) 706 46 00 e-posta/e-mail: [yağmur.kaya21@ogr.deu.edu.tr](mailto:yağmur.kaya21@ogr.deu.edu.tr)

Başvuru/Submitted: 16.08.2023

Kabul/Accepted: 21.12.2023

Online Yayın/Published Online: 29.02.2024

## Giriş

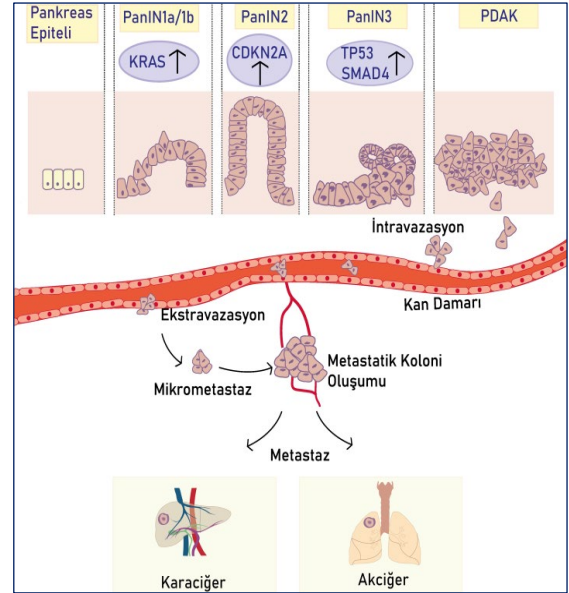
Pankreas duktal adenokarsinomu (PDAK); yoğun desmoplastik stroma ile karakterize edilen, agresif seyirli ve kötü prognoza sahip bir malignitedir. Dünya çapında kansere bağlı ölümlerin yedinci önde gelen nedenidir.<sup>1</sup> PDAK tedavisi hastalığın evresine göre seçilir ve cerrahi, kemoterapi, radyasyon tedavisi ve palyatif bakımı içerir. PDAK'ta halen en etkin tedavi yöntemi, rezeke edilebilir hastalar için cerrahi rezeksiyondur. Ancak cerrahi rezeksiyon uygulanmış olsa bile; hastaların %90'ında bir yıl içerisinde nüks görüldüğünden bazen cerrahi rezeksiyon uygulanabilir bir yöntem değildir.<sup>2</sup> Bu nedenle cerrahi sonrası kemoterapi hastalar için vazgeçilmez bir seçenek olsa da cerrahi rezeksiyonun ardından kısa süre sonra tedavi başlamadan hasta hayatını kaybeder.<sup>3</sup> Aynı zamanda tümörü rezeke edilemeyen PDAK hastaları tanı aldığında, hastalık ya lokal olarak ilerlemiş (%30) haldedir ya da uzak metastaz yapmıştır (%50). Pereiro & Chio tarafından 2020 yılında yapılan literatür taramasında, PDAK'nin primer tümör kitlesi oluşturmadan önce bile metastaz yapabileceği gösterilmiştir. Metastaz sonucunda farklı organlara yerleşmiş olan kanser hücreleri, invaze olduğu yerde klonal çeşitlilik gösterir ve uygulanan tedavilere karşı artan bir dirençle dormansi (tümörün büyümesini durdurması ve hareketsiz kalması) halinde bulunurlar.<sup>4,5</sup> PDAK'nin erken evrelerde asemptomatik olması, tümör mikroçevresinin özellikleri, erken metastaz yapma yeteneği ve kemoterapötik ajanlara karşı direnç geliştirerek standart tedavilere zayıf yanıt vermesi sağkalım oranının düşük olmasına ve nükse neden olur.<sup>6</sup> Bu derlemenin amacı; PDAK'nin karakterize edildiği spesifik özellikler ile birlikte tümör mikroçevresinin, epitelyal mezenkimal dönüşüm (EMT) sürecinin ve ilişkili sinyal yollarının metastazdaki önemini ele almaktır. Ek olarak tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde ilk basamak olan *in vitro*, *ex vivo* ve *in vivo* modellemelerden söz edilecektir.

## Pankreas Duktal Adenokarsinomu'nda Genetik Değişiklikler

Ekzokrin ve endokrin fonksiyonlara sahip olan pankreas glandüler bir organdır.<sup>7</sup> Endokrin pankreasın fonksiyonel birimi olan Langerhans adacıkları, glikoz metabolizmasının kontrolünden sorumlu olan glukagon ve insülin gibi hormonları salgılayan  $\alpha$  ve  $\beta$  hücreleri içerir. Asiner hücrelerden ve duktal ağlardan oluşan ekzokrin pankreas lipaz, amilaz gibi sindirim enzimlerinin salgılanmasında görevlidir.<sup>8</sup>

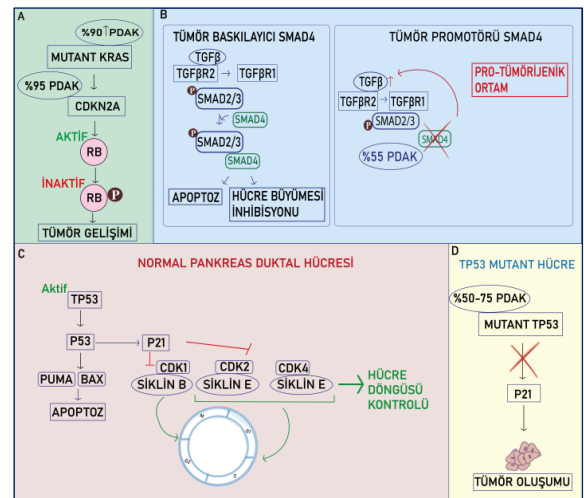
Pankreasın ekzokrin kısmından türeyen PDAK çok basamaklı genetik değişikliklerle karakterize edilir. PDAK'nin öncü lezyonu olan Pankreatik intraepitelyal neoplazi (PanIN), PanIN1a/b, PanIN2 ve PanIN3 olmak üzere üç evreden oluşur (Şekil 1).<sup>9</sup> Ras proteininin bir

izoformu olan KRAS onkogeni, PDAK'ta %90 oranında nokta mutasyonuna uğrar. Malign transformasyonun erken aşamalarında ortaya çıkar ve progresyonda başlatıcı mutasyon olarak kabul edilir. Mutant KRAS, PanIN2 evresinde tümör baskılayıcı gen olan CDKN2A, PanIN3 evresinde ise bir diğer tümör baskılayıcı gen olan SMAD4 ve genomun gardiyanı olarak adlandırılan TP53'de oluşan mutasyonlar ile birleşerek, PDAK'nin hızla ilerlemesinden sorumlu hale gelir.<sup>10,11</sup>



**Şekil 1.** Normal pankreas duktal epitel hücrelerinin, PanIN lezyonlarına ilerlemesi ve PDAK oluşumundan sonra yaygın metastaz gelişiminin şematik gösterimi.<sup>12</sup>

PDAK gelişiminde gördüğümüz bu erken lezyonların (PanIN), tümörögenез sürecinde rolü olan sinyal yollarında bazı spesifik değişikliklere sahip olduğu bilinmektedir (Şekil 2A).



**Şekil 2.** PDAK vakalarında görülen genetik değişiklikler şematize edilmiştir. Kanser hücrelerinin proliferasyonunda ihtiyaç duyulan Ras, PDAK gelişiminde anahtar görevi görür.

Mutant KRAS, CDKN2A mutasyonuna sebep olur ve kontrolsüz tümör gelişimini başlatır.<sup>13,14</sup>

Bu yollarda meydana gelen değişimler ve mutasyonlar da halihazırda karmaşık olan PDAK'ı daha kompleks hale getirir.<sup>15,16</sup> PanIN3 evresinde mutasyona uğrayan SMAD4, TGF-β yolu aracılığı ile sinyalizasyonda önemli rollere sahiptir. Standart TGF-β yolağı hücre büyümesi üzerinde güçlü inhibitör etkiye sahiptir. Bu yüzden, PDAK'nin erken aşamalarında hem apoptozu uyararak hem de epitel hücrelerde G1 fazında hücre döngüsünü durdurarak tümör baskılayıcı işlev görür. Diğer taraftan SMAD4, PDAK vakalarının %55'inde delesyona uğrayarak TGF-β'nin ekspresyonunu ve ekstraselüler matrikse (ECM) salınımını artırarak protümörojenik bir ortam oluşturur (Şekil 2B).<sup>17,18</sup>

Normal hücrelerde hücre döngüsü kontrolünü sağlayan ve apoptozu indükleyen TP53 ise fonksiyonunu kaybettiğinde p21'i inhibe ederek hücrelerin sürekli proliferasyonuna sebep olur (Şekil 2C-D).<sup>17</sup>

PDAK'ta yaygın olarak gözlenen bu mutasyonların tanımlanması, PDAK moleküler biyolojisini anlamamızın yanı sıra, ihtiyaç duyduğumuz yeni terapötik yaklaşımların araştırılmasına da imkân sağlayacaktır. Araştırmalar PDAK'nin uzun yıllar içinde ortaya çıkan, daha erken tanı ve etkili tedaviye ihtiyaç duyan bir hastalık olduğunu göstermektedir. Genetik değişiklikler, PanIN'lerin ortaya çıkmasından ve PDAK oluşumundan önce gelmektedir.<sup>19</sup> PDAK'nin tümör heterojenitesine neden olan özelliklerinin hedeflenmesiyle ilgili çalışmalar geliştirildikçe, PDAK tedavisindeki ilerlemeler hızlanacaktır.

Epitelyal mezenkimal dönüşüm süreci (EMT), epitel hücrelerin invazyon ve metastaz yeteneği kazanmak amacıyla mezenkimal karaktere dönüşümüken, mezenkimal epitelyal dönüşüm süreci (MET) ise mezenkimal hücrelerin epitelyal karaktere dönüşme sürecidir.

PDAK'ta yüksek mortalitenin en önemli nedeni olan metastaz, TGF-β'nin EMT sürecini başlatmasıyla indüklenir (Şekil 3).<sup>20</sup>

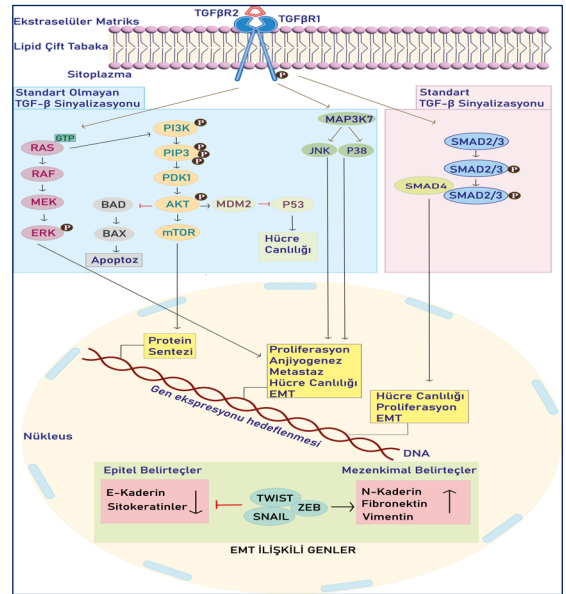
EMT ve MET süreçleri, PI3K/AKT, Notch ve WNT sinyalizasyonu da dahil olmak üzere birçok koordineli sinyal tarafından kontrol edilir ve KRAS, TP53, SMAD4 gibi genlerde meydana gelen mutasyonlar ile kolaylaşır.<sup>21</sup>

PDAK'ta metastaz çok basamaklı, kompleks ve çok hızlı bir süreçtir. Tümör hücrelerinin bazal membrana invaze olarak stromaya geçiş yeteneği kazanmasıyla başlar. Tümör hücreleri metastaz yapacağı organın parankimine invaze olmaya çalışırken, immün sistemden kaçarak kan dolaşımına geçer, akciğer ve karaciğer gibi uzak organlara yayılır.<sup>21-23</sup>

PDAK'ta mortalitenin yüksek olmasının diğer sebebi, EMT sürecinin çok erken evrelerde başlamasıdır.<sup>24</sup> Bu

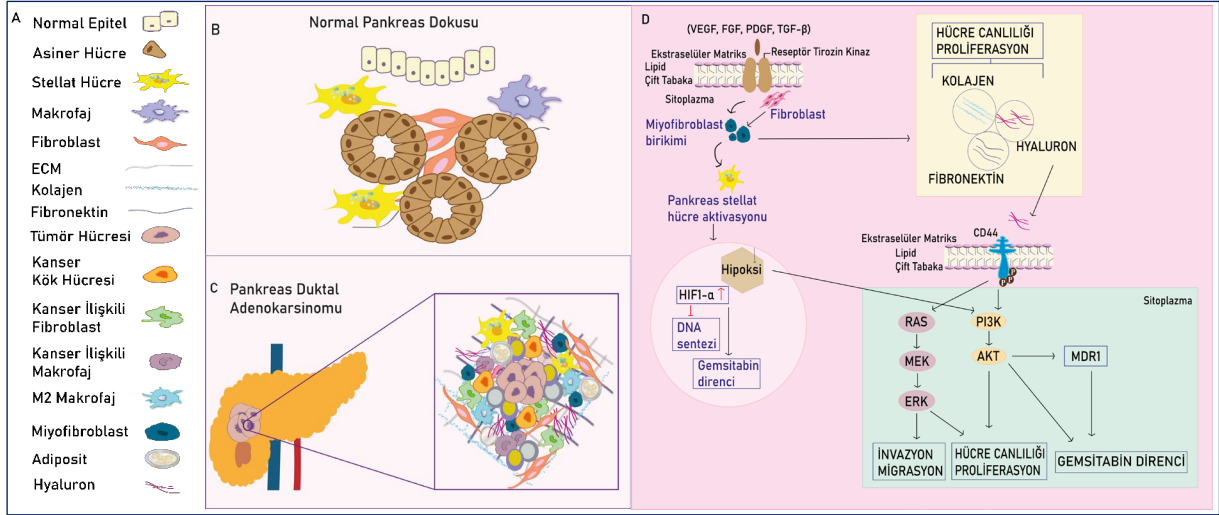
sürecin başlamasını epitel belirteçlerin (E-kaderin, sitokeratin) kaybindan sonra mezenkimal belirteçlerin (N-kaderin, fibronektin, vimentin) kazanımı takip eder ve mezenkimal karaktere sahip hücrelerin migrasyonu desteklenir. Bu hücreler yapısı gereği, yüksek invazyon ve migrasyon yeteneğine, apoptozu karşı dirence ve ECM bileşenlerini normalden daha fazla eksprese etme kapasitesine sahiptir.<sup>25</sup>

PDAK için E-kaderin ekspresyonunun azalması ile fibronektin ve vimentin ekspresyonlarının artması kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir. Kötü prognoz ise mortalite yüksekliğinin bir diğer önemli nedenidir.<sup>26</sup>



**Şekil 3.** PDAK gelişiminde standart ve standart olmayan TGF-β sinyal yolağı şematize edilmiştir. TGF-β'nin TGFβR2 reseptörüne bağlanmasıyla TGFβR1'nin fosforilasyonu uyarılır. Standart yolda SMAD2/3 proteinleri fosforile edilir ve SMAD4 ile kompleks oluşturularak; hücre canlılığı, proliferasyon ve EMT sürecine katkıda bulunur. Standart olmayan yolda ise TGF-β sinyali; RAS-RAF-MEK-ERK ve PI3K-AKT-mTOR aracılığı ile iletilir.

Kanser hücrelerinin invazyon ve metastaz esnasında immün sistemden kaçarak ortam koşullarına uyum sağlaması gerekir. Bu kaçı başarabilmesi ve invaze olduğu yerde kolonize olabilmesi için tümör mikroçevresi son derece önemli bir faktördür. İnvazyon ve metastaz sürecini gerçekleştirmiş olan kanser hücrelerinin, aynı zamanda uygulanacak kemoterapötik ilaçlara karşı da direnç kazanma ihtimali yüksektir. Bu basamaklardaki moleküller hedef alınarak ve tümör mikroçevresi çözümlenerek sürecin aydınlatılması kemorezistans mekanizmalarının anlaşılmasına fayda sağlayacaktır.



**Şekil 4.** Normal pankreas dokusu ile pankreas duktal adenokarsinomunun desmoplastik yapısının karşılaştırılması (4B,4C) ve immün sistem hücrelerinin (4A) PDAK'nin yoğun stromal tümör mikroçevresindeki rolleri (4D) şematize edilmiştir.

### Pankreas Duktal Adenokarsinomu Tümör Mikroçevresi ve İnflamatuar Süreç

PDAK gelişiminde normal hücrelerin morfolojik değişimiyle erken lezyonlara ve invaziv tümörlere doğru ilerleyen süreçte heterojen stromal bir yapı gözlenir. Bu yapıya Şekil 4A'da gösterilen hücrelerin katılımıyla oluşan desmoplastik bir mikroçevre eşlik eder.<sup>27</sup> Normal dokularda fibroblastlar, inflammatuar hücreler ve ECM doku homeostazını korumaktadır (Şekil 4B). Ancak PDAK'ta tümör etrafında bulunan neoplastik hücreler stromal yapıyı ve doku homeostazını bozar, kanser hücrelerinin proliferasyonunu ve migrasyonunu destekleyen bir ortam oluşturur.

Tümör hücreleri öncelikle kendisini çevreleyen stromada inflammatuar bir yanıt oluşumuna neden olur. Daha sonra stroma kademeli şekilde tümör oluşumunu ve progresyonunu destekleyecek bir ortama dönüşmeye başlar. Son aşamada bu ortam tümörün büyümesini ve tedavi direncini destekleyen bir ortam haline gelir ve tümöre agresiflik kazandırır (Şekil 4C).<sup>27,28</sup>

Tümör progresyonu, bazal membran yapısının bozulması, desmoplastik stroma ve EMT ile yakından ilişkilidir.<sup>29</sup> Tümör mikroçevresinde fibrojenin görülmesiyle büyüme faktörleri salgılanır ve fibroblastların EMT ile miyofibroblastlara dönüşerek biriktiği gözlenir. Fibroblastların çoğalması ve miyofibroblastlara dönüşümü ECM proteinlerinin (kolajen, hyaluronan, fibronektin) birikimine neden olarak, kanser hücrelerinin hayatta kalmasını ve sürekli proliferasyonunu sağlar. Tümör mikroçevresinde bulunan hyaluronan, reseptör tirozin kinazlar ve küçük GTPaz'lar yoluyla anjiyogenezi, EMT sürecini ve kemorezistansı indükler (Şekil 4D).<sup>29-31</sup>

Normalde hareket yeteneği olmayan pankreas stellat hücreleri pankreas dokusunun mevcut yapısının korunmasında ve ECM üretiminde görevlidir. Tümörögenез sırasında ise tümör hücreleri TGF-β gibi

büyüme faktörleri salgılayarak pankreas stellat hücrelerini aktive ederler.<sup>32</sup> PDAK'ta aktif pankreas stellat hücreleri, HIF1α ekspresyonunu arttırarak hipoksik bir ortam oluşturduğunu gösterir. Normoksiye kıyasla daha düşük bir oksijen seviyesini temsil eden hipoksi, birçok solid tümörde olduğu gibi PDAK'ta da yaygın olarak gözlenir.<sup>33</sup> Hipoksi; hücre siklusunu yavaşlatarak, DNA sentezini engeller ve sitotoksik ilaçlara karşı gelişen direnci artırabilir. Ayrıca, çeşitli sinyal yolları üzerinden PDAK'ta Gemcitabin direncine katkıda bulunabilir ve ilaç direncinden sorumlu olduğu tanımlanmış gen olan MDR1'in (çoklu ilaç direnci 1) ekspresyonunu uyararak ilaç penetrasyonunu düzenleyebilir (Şekil 4D).<sup>34</sup>

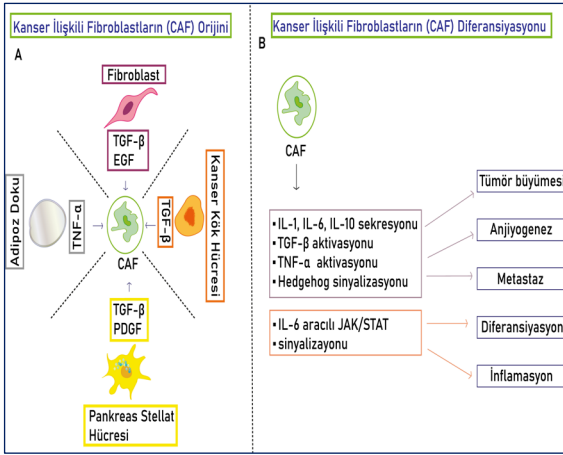
HIF1α ekspresyonu ile tümör invazyonunu, anjiyogenezi, immün sistemden kaçışı ve tedavi direncini modüle eden hipoksik durum, PDAK malignitesini yönlendiren önemli bir koşuldur. PDAK hastalarında ayrıca, tümörün interstisyel boşluğunda ECM proteoglikanları (kolajen) ve glikozaminoglikanlarının (hyaluronan) aşırı üretimi mevcuttur. Bu moleküller tümör büyümesi ve anjiyogenezi sırasında salgılanırlar. Büyüme, metastaz, anjiyogenezi, diferansiyasyon ve immün yanıt gibi süreçleri modüle ederler.<sup>35</sup>

Kanser hücrelerinin lokal tümörden lenf bezlerine ve kan yoluyla uzak yerlere yayılımını sağlayan lenfatik invazyon PDAK'ta da yaygın olarak gözlenir. Bu süreçte lenfanjiyogenezi olarak adlandırılan lenfatik damarların genişlemesi kritik bir adım olarak kabul edilir.<sup>36</sup> PDAK'nin tümör mikroçevresinde lenfatik invazyon erken evrelerde görülür ve düşük sağkalıma neden olan M2 fenotipinde tümör ilişkili makrofajların birikimi ile karakterize edilir. Makrofajların birikimi inhibitör sitokinleri salgılayarak immün yanıtı sınırlar. Ayrıca pankreas adipoz dokusu TGF-β, TNF-α gibi proinflammatuar sitokinlerin salgılanmasından

sorumludur. Bu dokudan salgılanan adipositler, endotel hücreler, fibroblastlar, immün sistem ve kanser kök hücreleri PDAK gelişimine neden olur.<sup>37,38</sup>

Tümör mikroçevresinde tümörün ihtiyaç duyduğu ortamın sağlanması için, doğal öldürücü hücrelerin (NK) ve CD+8 lenfositlerin sayısının da azalması gereklidir. Bunun aksine; düzenleyici T hücreleri (Treg), miyeloid türevli baskılayıcı hücreler (MDSC) ve tümörle ilişkili makrofajlar (TAM) ise önemli ölçüde artar, böylece kanser hücrelerinin immün sistem ile karşılaşması engellenir. Normal durumda Treg hücreleri, CTLA-4 ekspresyonu ve TGF- $\beta$  ile IL-10 sekresyonu yoluyla kanser hücrelerini yok etmeye çalışan otoimmünitenin ortaya çıkmasını önler. Ancak tümörögenез sırasında Treg hücreleri, efektör T hücrelerini etkileyerek tümöre karşı oluşturulacak immün yanıtı engeller.<sup>39,40</sup>

PDAK tümör mikroçevresinde bulunan diğer önemli hücre grubu kanserle ilişkili fibroblastlardır (CAF). CAF'ler, pankreatik stellat hücrelerden, fibroblastlardan, kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücrelerden ve adipositlerden gelişir (Şekil 5A). Bu hücreler TGF- $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-1, 6, 10 ve Hedgehog sinyal yolları ile aktive edilerek sitokinleri ve kemokinleri salgılar.<sup>41</sup> IL-6 aynı zamanda JAK/STAT sinyal yolağının aktivasyonu yoluyla, ADM denilen (asiner-duktal metaplazi) süreçte katkıda bulunur ve inflamasyonu indükler (Şekil 5B).<sup>25</sup>



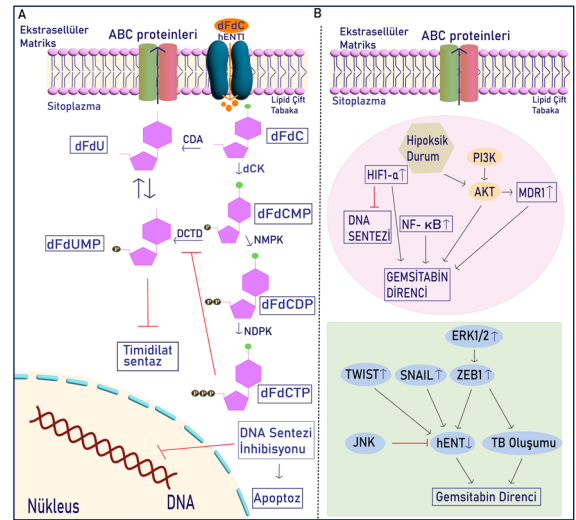
**Şekil 5.** Kanser ilişkili fibroblastların (CAF) köken aldığı hücreler şematize edilmiştir (5A). CAF'ların sitokin sekresyonu ve sinyal yolları aracılığıyla tümör hücresine olan etkileri gösterilmiştir (5B).

PDAK metastazındaki gelişmelere rağmen, bu süreci engellemek adına FDA tarafından henüz onaylanmış ilaçların olmaması dikkat çekicidir. Preklinik araştırmalardan elde edilen sonuçların kliniğe geçmemiş olması; bu sürecin son derece karmaşık olduğunu, birden çok sinyalizasyon ile desteklendiğini ve geliştirilen ilaçların etkinliğinin yetersiz kaldığını doğrulamaktadır. Bu başarısızlıkların nedenleri arasında; PDAK tümörlerinin heterojenik ve yoğun stromal yapısı, kanser hücrelerinin EMT sürecinin de etkisi altında

geliştirilen ilaçlara karşı direnç oluşturması, immün sistemin etkisizleştirilmesi gösterilebilir. Aynı zamanda PDAK çeşitli sinyal yolları ile desteklendiğinden tek bir yolu hedeflemenin PDAK progresyonuna ve mortalitesine fayda sağlayamayacağı bilinmelidir.

Daha önce bahsedilen PDAK stroması, toplam tümör kütlelerinin %90'ını oluşturur.<sup>42</sup> Bu yoğun desmoplastik stroma, günümüzde kullanılan kemoterapötik ilaçların (Gemsitabin ve Folfirinox vb.) penetrasyonunu engelleyen fiziksel bir bariyer gibi işlev görür.<sup>43</sup> Rezeke edilemeyen (inoperable) PDAK hastalarında Gemsitabin ve Folfirinox bazlı kemoterapi birinci basamak yaklaşımdır.<sup>44,45</sup> Gemsitabin direncinin oluşmasındaki önemli mekanizmalardan bir tanesi; JNK sinyalizasyonu aracılığıyla nükleosid taşıyıcılardan olan hENT1 (insan dengeli nükleozid taşıyıcısı 1) ekspresyonunun inhibe edilmesidir. hENT1 ekspresyonun varlığında, PDAK hastalarında genel sağkalım oranı artmaktadır. hENT1 molekülünün varlığının prognostik bir biyobelirteç olabileceği düşünülmektedir.<sup>46</sup> Bu mekanizmadan kaynaklanan ilaç direncinin engellenmesinde transportu sağlayacak farklı stratejilerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

Gemsitabin'in ATP'den elde edilen enerji ile hücre içine alınımından da sorumlu olan ABC taşıyıcı proteinleri (Şekil 6A) de kemorezistans ile ilişkilendirilmiştir. Bu proteinlerin ekspresyon seviyelerindeki artış PDAK kemorezistansı ile pozitif korelasyon gösterir.<sup>22</sup>



**Şekil 6.** Gemsitabin hENTs ile hücre içine alımı ve hücre membranına girdikten sonraki biyodönüşümleri gösterilmiştir. Oklar biyodönüşümü, küt uçları bulunan kırmızı çizgiler ise inhibisyonu ifade eder (6A). Hipoksinin farklı sinyal yolları üzerinden Gemsitabin direncine olan etkisi, ERK1/2 sinyalizasyonu ve transkripsiyon faktörleri aracılığıyla Gemsitabin'in hücre içine alımı gösterilmiştir (6B). dFdC (Gemsitabin); 2',2'-diflorodeoksisisitidin, dFdU; 2',2'-diflorodeoksisisitidin, dFdCMP; 2',2'-diflorodeoksisisitidin 5'-monofosfat, dFdCDP; 2',2'-diflorodeoksisisitidin 5'-difosfat, dFdCTP; 2',2'-diflorodeoksisisitidin 5'-trifosfat, dCK; deoksisisitidin kinaz, CDA; sitidin deaminaz, NMPK; nükleosit monofosfat kinaz, DCTD; deoksisisitidilat deaminaz, NDPK; nükleosit difosfat kinaz).

Gemsitabin direncinde önemli olan diğer mekanizma ise daha önce bahsedilen EMT sürecidir. Gemsitabin bazı kemoterapiye olan direnç, EMT sürecini yansıtan ve 'tumor budding (TB)' denilen tümör hücrelerinin küçük kümeler oluşturması ile ilişkilidir. EMT süreci epitelyal belirteçleri baskılayan ve mezenkimal belirteçleri eksprese eden ZEB, SNAIL ve TWIST transkripsiyon faktörleri tarafından yönetilir. Gemsitabin'e direnç geliştiren PDAK hücrelerinde SNAIL ve TWIST ekspresyonu artar, bu gen ekspresyonunu inhibe olur hücre içine Gemsitabin alımını azalır (Şekil 6B).<sup>22,47</sup>

PDAK kemorezistansı:

- PDAK'nin yoğun stroması,
- hENT1 aracılığı gerçekleşen transportu
- ABC taşıyıcı proteinlerinin ekspresyonu
- Zar geçirgenliğinin azalması
- Epitel mezenkimal dönüşüm süreci ve
- İlaç metabolizmasını düzenleyen çeşitli enzimlerin seviyelerinin ve aktivitelerinin değişmesi gibi özellikler nedeniyle indüklenir.<sup>48</sup>

Tümör mikroçevresinde açıklanan bu moleküller, tümör büyümesini, invazyon-metastaz ve tedavi direncini desteklerler, PDAK agresifliğini ve mortalitesini artırırlar.

Klinikte fayda sağlayacak bu tedavilerin geliştirilmesi için oluşturulması gereken preklinik modellemeler, tümör hücresinin yalnızca fenotipik özelliklerini yansıtmakla kalmamalı, mikroçevrenin desmoplastik yapısını da taklit edebilmelidir. PDAK tümörünün bu heterojenik yapısı, tasarlanan tedavilerin terapötik etkinliklerini gözlemek ve değerlendirmek amacıyla preklinik modellemelerin oluşturulmasında ciddi güçlükler oluşturmaktadır. Ancak bu modellemeler, hastalığın genetik, moleküler özelliklerinin açığa çıkarılması, prediktif (öngörücü) biyobelirteçlerin tanımlanması, etkin tedavi yöntemlerin geliştirilmesi ve doğrulanması için gereklidir.

Diğer solid organ tümörleri ile kıyaslandığında PDAK'ta standart ve hedefe yönelik terapilerde henüz umut verici sonuçlar bulunmamaktadır. Geliştirilecek tedavilerin başarılı olması için klinikten bir önceki basamak olan preklinik modellemelerin seçimi son derece önemlidir. Yazının bundan sonraki sürecinde *in vitro*, *ex vivo* ve *in vivo* preklinik modellemelere değinilecektir.

### **Pankreas Duktal Adenokarsinomunda Preklinik Modellemeler**

Preklinik modellemelerin her birinin avantaj ve dezavantajları mevcuttur. Bunlar Tablo 1'de özetlenmiştir.

*In vitro* modellemelerin kullanılması, terapötik etkinliğinin denenmesi planlanan potansiyel ajanı değerlendirmek için ilk adımdır.

Kanser araştırmalarında en sık kullanılan preklinik *in vitro* model hücre hatları ile oluşturulan modellemelerdir.<sup>44</sup> Hücre hatları birbirinden farklı özelliklere sahiptir. Bu nedenle deneylerin yapılma amacına bağlı olarak hücreler, genotipleri ve fenotipleri göz önünde bulundurularak seçilmelidir. İki boyutlu hücre kültürlerinde özellikle metastazı incelemek amacıyla çeşitli invazyon ve migrasyon deneyleri yapılmaktadır.<sup>49</sup>

Kısıtlılıkları nedeniyle 3 boyutlu kültür modellemelerinin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmuştur.

### **3 Boyutlu Modellemeler**

Bu modellemeler yapısal özellikleri nedeniyle tümör hücrelerinin yapı ve davranışları hakkında fizyolojik açıdan daha gerçekçi ve kliniğe uyarlanabilecek sonuçlar verebilir. Başarılı sayılabilecek bir 3 boyutlu modelleme, PDAK'nin *in vivo* modellemesinde gözlediğimiz tümör oluşumundaki yoğun stromal yapıyı ve mikroçevreyi tanımlayabilmelidir.

Sferoid modelleme 3 boyutlu yapılandırmalarda en yaygın kullanılan tekniktir. Sferoidler 2 boyutlu hücre hatlarının agaroz, kollajen ya da matrijele gömülmesi ile oluşturulur. Hücreler yapay matrislerde proliferasyon olarak büyümeye eğilimi gösterirler. Sferoid model temel olarak hücrenin, hücre-hücre etkileşimleri ile 3 boyutlu agregatlar oluşturma yeteneğine ve ECM'nin varlığına dayanır. PDAK sferoidleri, 2 boyutlu hücre kültürü ile karşılaştırıldığında daha heterojen bir yapıya sahiptir. Sferoid modellemede yoğun ECM, moleküler transportu ve penetrasyonu fiziksel bir bariyer gibi engeller ve 2 boyutlu kültürlerde görmediğimiz gradyanların oluşmasına olanak sağlar.<sup>50,51</sup>

Sferoid modellemeler, metastazın incelenmesinde sıklıkla tercih edilen yöntemlerdir. Hücre kolonilerinin yüzeyden bağımsız olması hücresel transformasyonun ve kontrolsüz hücre proliferasyonunun ayırt edici özelliklerinden birisidir. Normal epitelyal hücreler hayatta kalma ve proliferatif sinyalleri sağlayan bazal membran tarafından desteklenir. Süspanse kültürlerde alındıkları zaman ise apoptoza yönelirler. Bunun aksine tümör hücreleri ise apoptozdan kaçarak kontrolsüz şekilde proliferasyon olurlar.<sup>52</sup> Sferoid model oluşumu ile görme imkânı bulduğumuz bu kolonileşme metastaza giden süreçte önemli basamaklardan biridir ve bu modelle deneysel olarak zamana bağlı şekilde gözlemlenir.

Hücre hatlarından veya hasta kökenli hücrelerden üretilen *in vitro* modeller daha uygulanabilir olsa da, tümör mikroçevresinden ve immün sistemden yoksun olduğundan, eksplantlar oluşturmak üzere hasta kaynaklı dokulardan üretilen *ex vivo* modellemeler gündeme getirilmiştir.

	in vitro Modellemeler		ex vivo Modellemeler			in vivo Modellemeler					
	2D Hücre Kültürü	Sferoid Model	Organoid Model	Organ/Tümör-on-a-chip	Korioallantoik Membran Analizi	Zebra balığı	Subkutanöz (sc)	Intraperitoneal (ip)	Intrapankreatik	Kıyasalla indüklenen fare modellemeleri	Domuz
Orijin	• Hücre hatları • Primer tümörler	• Hücre hatları • Hasta dokuları	• Primer tümörler • Embriyonik kök hücreler	• Hücre hatları • Hasta dokuları	• Hücre hatları	• Hücre hatları	• Hücre hatları	• Hücre hatları	• Hücre hatları	• BOP (N-nitrosobis(2-oksopropil)-amin) • MNU (N-metil-N-nitrozüre)	• Hücre hatları
Besin ve O <sub>2</sub> gradyanı											
Vaskülarizasyon											
Hücre - hücre etkileşimi											
Hızlı büyüme											
Tümör mikroçevresi											
Heterojenite											
Standart protokoller											
Tekrarlanabilir sonuç											
Uygulanabilirlik											
Klinik ile uyum											
Biyobanka											
Literatür	(43,73,74,53,76,81)	(43,44,81)	(43,44,48,50)	(44,51)	(54,55)	(59,60,61)	(58,81)	(79)	(63,79)	(62,63,77,78,81)	(69,70,71,72)

**Tablo 1.** PDAK'de metastazi incelemek için kullanılan modellemelere genel bakış. Renk skalasındaki renkler her bir model için, mavi: uygun, açık mavi: kısmen uygun, krem rengi: kısmen uygun değil ve turuncu: uygun değil olarak tanımlanmıştır.

### Ex Vivo Preklinik Modellemeler

İnsan ya da hayvan kaynaklı tümörlerden hazırlanan ex vivo model sistemleri; orijinal dokunun yapısını, heterojenitesini ve mikroçevresini korumayı amaçlar. Aynı zamanda hastalığa özgü biyobelirteçlerin keşfi ve kişiselleştirilmiş tedavi yanıtlarının değerlendirilmesinde kullanılmaktadır.<sup>53</sup>

Onkolojik araştırmalarda sıklıkla kullanılan organoid modellemeler; yetişkin kök hücrelerden, insan veya hayvan dokularından elde edilen ex vivo modellemelerdir. Alındıkları organın temel işlevini, yapısını, biyolojik özelliklerini taklit edebilirler.<sup>54</sup>

PDAK karsinogenezinde erken lezyonların, normal epitel hücreler ile neoplastik hücreler arasındaki etkileşimlerin ve kanser kök hücrelerinin rolünün incelenmesi için uygun bir modellemedir.<sup>55</sup>

Bu amaçla elde edilecek hücreler hem operasyonla çıkarılmış hem de operasyon şansı olmayan hastalardan ince iğne aspirasyonu ile alınan tümörlerden primer hücre kültürü yoluyla elde edilebilir. Bu avantajı sayesinde PDAK'nin tüm evrelerinden organoid model oluşturmak mümkündür.<sup>56</sup>

Organoidlerde vasküler dolaşımın bulunmaması modellemenin dezavantajıdır. Bu durum tümör heterojenitesi ile hücreler arası etkileşim ve tümör mikroçevresini yansıtmakta yetersiz kalabilir. Bu nedenle, PDAK tümörlerindeki immün sistemin mekanizmaları tam olarak yansıtılamamaktadır.

Organoid modellerde mevcut olan bu kısıtlılıkların aşılması ve birden fazla organoidin ard arda büyütülmesi için geliştirilen modellemelerden birisi de Organ-on-a-chip (OOC) sistemleridir. OOC'ler, şeffaf polimerlerden

oluşan ex vivo modellemelerdir. Organ özelliklerini taklit eden, tümör mikroçevresinin özelliklerine sahip olan OOC sistemleri, uygulanan tedavinin hem tümör hücresi üzerindeki hem de diğer organlar üzerindeki etkisinin belirlenmesi için uygun bir modellemedir.<sup>57-59</sup> PDAK'nin özelliklerini yansıtabilecek bu modellemelerin yanında, son zamanlarda tümör anjiyogenezini, invazyonunu ve metastazını değerlendirmek için, korioallantoik membran (CAM) modellemesi yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu model gelişmekte olan civciv embriyosunun korioallantoik membranına hastadan alınan tümör hücrelerinin implantasyonu ile oluşturulur. Uygulanan tedavi sonucundaki değişiklikler eş zamanlı olarak takip edilebilir.<sup>60,61</sup>

CAM yöntemi anjiyojenik sürecin, tümör büyümesinin, invazyon ve metastatik yayılımın mekanizmalarını çalışmak için kullanılan etkin yöntemlerdendir. CAM modellemesinin dezavantajlarından birisi kuş kökenli olmasıdır. Bu nedenle uyumlu antikolar veya reaktifler deneysel fare modellerine kıyasla sınırlı sayıdadır.<sup>62</sup>

PDAK'nin yüksek mortalitesi ve tedavilere karşı zayıf yanıt oluşturması göz önüne alındığında, preklinik modellemelerde terapötik yaklaşımları daha doğru bir şekilde değerlendirmek için PDAK'nin biyokimyasal ve patolojik özelliklerinin tamamen açıklığa kavuşturulması gerekmektedir.

### In Vivo Preklinik Modellemeler

#### Zebra Balığında Kanser Modellemeleri

Zebra balığı (*Danio rerio*), biyomedikal araştırmalarda en önemli omurgalı model organizmalardan biri haline gelmiştir. Zebra balığı modellemesi genomik instabilite,

invazyon ve metastaz gibi insanda oluşan tümörlere benzer özellikler göstermektedir.

Zebra balığı modellemesi şeffaf olmasından dolayı, tümör hücrelerinin enjekte edildiği andan itibaren proliferasyonlarının ve invaziv süreçlerin görüntülenmesine imkân sağlar.<sup>63,64</sup> Aynı zamanda bu parametrelerin birkaç gün içinde analiz edilebilmesi, farklı ilaç konsantrasyonlarının ve kombinasyonlarının test edilmesine imkân tanır.<sup>64-66</sup>

Zebra balığının optimum 28 °C'de yaşamını sürdürmesi, tümör hücresinin çoğalması için ideal sıcaklık olarak belirlenen insan vücudundan (37°C) farklıdır. Balık larvalarında terapi yanıtları ancak tüm balığın ilaç içeren suya daldırılmasıyla alınabileceğinden dolayı larvanın aldığı ilaç miktarı belirlenmemektedir.<sup>66,67</sup>

Avantaj ve dezavantajları ile birlikte tümör progresyonunu erken lezyonlardan invaziv duruma kadar gösterebilmesi, eş zamanlı görüntüler ve veriler sağlaması ile PDAK'ı hedefleyen farklı metodolojileri değerlendirmek için umut vaat eden bir modellemedir.

#### **Deneysel Fare Modelleri**

PDAK biyolojisinin anlaşılmasında ve çeşitli terapötiklerin preklinik değerlendirmesinde önemli bir rol oynamaktadır. İdeal bir PDAK hayvan modellemesi erken lezyonları yansıtabilmeli; kemorezistansı, immün yanıtı kaçışı ve tümör mikroçevresindeki yoğun stromal yapıyı da sağlayabilmelidir. Ayrıca uygulanan tedavi sonucu alınan yanıtı da tekrarlanabilir şekilde göstermelidir.<sup>68</sup>

Bu modellemeler tümör enjeksiyon şekline, tümör implantasyonu yapılan bölgeye ve histopatolojik özelliklere göre sınıflandırılır. PDAK hücrelerinin ya da tümör dokularının farelere implante edilmesiyle oluşturulanlar Xenograft modellemelerdir. Kanser hücreleri direkt pankreas dokusuna (ortotopik implantasyon) ya da pankreas dokusu dışına (heterotopik implantasyon) enjekte edilebilir. Ortotopik implantasyon, heterotopik modellemelere göre biyolojik açıdan tümör ile daha ilişkili bir yapıya sahiptir ve invazyon metastaz yeteneği de kazandırır.<sup>69</sup>

PDAK modellemesi oluşturulmasında fizyolojik açıdan en uygun yöntem pankreas içine yapılan tümör enjeksiyonudur. Fakat bu enjeksiyon diğer yöntemlere ek olarak hassas cerrahi prosedür ve özel bakım gerektirir.<sup>70,71</sup>

PDAK'ta tedavi yaklaşımlarının incelenmesinde primer tümör kaynağı da önemlidir. Eğer hasta kökenli pankreas tümörleri kullanılacaksa çoğunlukla atimik (timusu alınmış) ve immün yetmezliği (SCID) olan fareler tercih edilmektedir.<sup>72</sup> Bu tümörler, kanserin moleküler ve genomik çeşitliliğini de yansıttığından moleküler mekanizmaların hedeflenmesi için daha uygundur. Ancak kullanılan immünsupresif fareler PDAK'nin immünolojik parametrelerini analiz etmek için elverişli değildir. Bu durum, modellemenin ilk dezavantajıdır. İmmünkompetan fareleri kullanmak, terapötik ajanın

immün sistem üzerindeki etkilerini incelemek ve immünolojik parametreleri analiz etmek için idealdir. Modellemenin ikinci dezavantajı da deney prosedürü için gereken hücre hatlarının pasajlanma ihtiyacıdır. Hücre hatları aldığı her bir pasajda fenotipinde minimal de olsa değişiklikler meydana geldiği ve bu durumun da tümör oluşumunu etkilediği düşünülmelidir.<sup>73</sup>

#### **Kimyasal Karsinojenlerle Yapılan in vivo Modellemeler**

PDAK gelişiminde kimyasal karsinojenlerin maruziyeti önemli bir yer tutar. Kimyasal indüksiyon PDAK modellemesi oluşturmak için ideal yöntemlerden birisidir. Bu modelleme ile organa özgü lezyonlar üretilir. Bu lezyonların fare fenotiplerinde yüksek oranda tekrarlanabilir olması önemli avantajlarından. Ayrıca kimyasal ajanlar ile indüklenen modellemeler, hiperplaziler, displaziler ve erken lezyonları biyokimyasal ve histopatolojik açıdan çok iyi yansıtırlar. Tümör gelişiminin hangi aşamalarında hangi terapötik ajanın daha duyarlı olduğunu araştırmak için çok değerlidirler. Bu modellemelerin metastaz yapma eğilimleri de yüksektir.<sup>74</sup> Fakat preklinik aşamalarda rutin kullanımda bazı dezavantajlar içerirler. Bunlardan ilki kimyasal enjeksiyon ile tümör oluşumu için uzun zaman ve tekrarlayan uygulamalar gerekmektedir. Modellemenin bir diğer sınırlılığı ise kimyasal ajanın kullanımında çalışan sağlığı için oluşabilecek güvenlik endişeleridir.<sup>75</sup>

Onkolojik araştırmalarda sıklıkla kullanılan fare modellemeleri tümör mikroçevresinde olan hücresel değişiklikleri yansıtamamaktadır.

PDAK'nin fare modellemelerinde etkili olan potansiyel ajanlar klinikte aynı etkiyi gösteremediğinden ilaç geliştirmede kullanılmak üzere klinik ile daha uyumlu olacak yeni modellemelerin geliştirilmesi gerekmektedir.

#### **Domuzlarda Oluşturulan Kanser Modellemeleri**

Onkolojik araştırmalarda kullanılan domuzların anatomisi, fizyolojisi ve metabolizması diğer primatlara kıyasla insanlara daha benzerdir. Bu özellikleri ile kanser gelişimini ve progresyonunu yansıtmak için ideal bir hayvan modelidir.<sup>76</sup>

Domuzlar boyutları nedeniyle daha fazla kan örneği almaya imkân tanıdığından tümör belirteçlerinin incelenmesi için de uygun hayvanlardır. Benzer şekilde büyük tümörler oluşturmaya da elverişli olduklarından tümör heterojenitesinin incelenmesi için uygun modellemelerdir. Ancak domuzların yetiştirilmesi ve bakımı, kafeslerde tutulan deney hayvanlarına kıyasla daha maliyetlidir. Ayrıca deney prosedürlerinin uygulanması sırasında tehlikeli olabileceğinden daha tecrübeli personele ihtiyaç duyulur. Domuz modellemelerinin bir diğer dezavantajı ise deney için kullanılacak antijen ve antikörlerin sınırlı olmasıdır.<sup>77</sup> Domuz modellemelerinin dermatolojik, nörodejeneratif ve kardiyovasküler hastalıklar ile kanser dahil olmak



üzere farklı alanlarda etkili modellemeler olduğu gösterilmiştir. Solid tümörlerin %75'inde görülen peritoneal metastaz için domuz kullanımı yaygın bir model haline gelmektedir. Potansiyel antikanser ajanların değerlendirilmesinde, metastazın incelenmesinde ve cerrahi tekniklerin geliştirilmesinde kullanılmaktadır.<sup>78,79</sup>

PDAK için hücre hatları kullanılarak oluşturulan deneysel hayvan modellemeleri, potansiyel ajanların terapötik etkinliklerinin belirlenmesinde merkezi rol oynamaya devam etmektedir. Ancak PDAK progresyonundaki karmaşıklığın ve mikroçevrenin rolünün belirlenmesi konusunda yeni modellemeler geliştirilmeye devam edilmektedir.

Geleneksel preklinik modellemeler ve gelişmekte olanlar, şu ana kadar PDAK için büyük ilerlemelere katkıda bulunmuştur. Ancak PDAK'nin heterojenitesi, yüksek desmoplazi içeren yapısı ve oluşan spontan mutasyonlar elde edilen bulguların klinikte karşılıksız kalmasına sebep olmuştur. Bu sebeple PDAK'ta FDA onaylı ilaç sınırlı sayıdadır. Hem bu kısıtlılığın önüne geçmek hem de yüksek mortalite oranını düşürmek için PDAK'nin bu özellikleri göz önüne alınarak yeni deneysel modellemeler oluşturulmalıdır.

### Sonuçlar ve Gelecek Perspektifleri

PDAK, etkili tedavi için sınırlı seçenekleri olan ve en ölümcül kanserlerden biri olmaya devam etmektedir. Cerrahi tekniklerle klinik sistemik tedavilerdeki anlamlı ilerlemelerin pankreas kanseri hastalarının sağkalımını iyileştireceği kesindir. Pankreas kanseri cerrahisi, son 20 yılda modern kombinasyon kemoterapisiyle birlikte önemli ölçüde daha güvenilir etkili hale gelse, postoperatif mortalite riski %3'e düşse de günümüzde rezeksiyon ve kemoterapi sonrası ortalama sağkalım süresi yaklaşık 30 ay, ameliyat geçiren seçilmemiş pankreas kanserli hastalarda 5 yıllık sağkalım yaklaşık %30'dur. Kısa sürede ortaya çıkan nükslerin de çoğu başlangıçta asemptomatiktir. Hastalığın erken tanısı, erken ve daha etkili tedavi sağlayabilir. Tedavi yanıtı ve hastalığın prognozunun tahmini için daha iyi biyobelirteçler ve araçlar, gelecekte tedavi model ve rejimlerinin özel olarak seçilmesini ve sıralanmasını sağlamak için gereklidir. Klinisyenler bu hastalara uygulanan tedavide ortaya çıkan yanıtların gözlenmesinin, önceki geleneksel kemoterapi ve/veya radyasyonun, ilgili tedavi hedefini nasıl etkileyeceğini hesaba katıp, bunların kombinasyonunun nasıl kullanılması gerektiğini de düşünmenin gerekliliğini savunurlar. PDAK karsinogenezi, az sayıda gende öngörülebilir basit ve yapısal genetik değişikliklerle, öncü lezyonlar yoluyla orijin hücresinden invaziv hastalığa doğru ilerler. Ancak kalıtsal hastalığın moleküler yapısındaki sorumlu genlerin tamamı henüz net olarak bilinmemektedir. Gen mutasyonları, tümör metabolizması ve tümör mikroçevresine ilişkin yeni

bilgiler başta olmak üzere pankreas kanserinin biyolojisi ve genetiğine ilişkin daha derin araştırmaların sonuçları, tedavide umut verici ve yenilikçi yol haritalarını oluşturacaktır. Klinisyenler arasında tedavide tek bir molekül veya yolağı hedeflemenin pankreatik kanser tedavisi başarısında yetersiz olacağı ön görüşü yaygındır. Hem hastalık alt tipine yönelik hem de kombine tedavi, tümör ilerlemesini kontrol etmek için daha umut verici hedefler sunabilir. Mutasyonlar ve bunların yeniden programlanmış metabolik yolları, çekici tedavi hedefleri olmuştur. Örneğin BRCA mutasyonlu pankreas kanseri hastalarının PARP inhibitörlerinden fayda gördüğünü gösteren son gelişmeler, alt tipe özgü tedavinin klinik etkinliğini daha da artıracığı umudunu verebilir. PDAK tedavisinde araştırmacılar moleküler olarak hastalığın genomik ve transkriptomik özelliklerine odaklanmıştır. Kalan bilgi boşluklarını doldurmak için, kodlayıcı olmayan mutasyonların, epigenetik değişikliklerin ve mitokondriyal genomların görevi başta olmak üzere diğer birçok faktörün de tam olarak keşfedilmesi gerekir. Ultrason, bilgisayarlı tomografi taramaları, manyetik rezonans görüntüleme ve pozitron emisyon tomografi taramaları gibi tanı yaklaşımlarının yanı sıra cerrahi, radyasyon, kemoterapi ve immünoterapi gibi tedavi yaklaşımlarıyla genel sağkalım son yıllarda az da olsa artış göstermiştir... Teknolojik ilerlemelerle "in vitro Diyagnostik" tanı araçlarından çok katmanlı görüntüleme, immünotiplleme ve mutasyonel tanı araçlarının performanslarının artması, PDAK hastalarının sağkalımının uzatılması hedefine hizmet edecektir. PDAK mikroçevresine ilişkin bilgilerdeki ilerlemeler ve ortaya konan hedefler göz önüne alındığında, pankreas kanserlerinin gelecekteki başarılı tedavisi için umutlu olunabilir... Yeni tedavi yaklaşımlarının klinik başarısına giden yolun, "daha özel, geliştirilmiş hayvan modellemelerinin ve motive olmuş multidisipliner ekiplerin yorulmaz çabaları" sayesinde gelişeceği açıktır.

### Çıkar Çatışması

Yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

### Finansal Destek

Bu çalışma hiçbir kuruluş tarafından desteklenmemiştir.

### Yazar Katkısı

YK, EB, HK: Tasarım, literatür tarama ve veri toplama, çalışmanın yazımı; YK, EB, HK: Analiz ve yorumlama, literatür tarama, çalışmanın yazımı.

### Kaynaklar

1. Zuzčák M, Trnka J. Cellular metabolism in pancreatic cancer as a tool for prognosis and treatment (Review). *Int J Oncol.* 2022;61(2):93. doi:10.3892/ijo.2022.5383

2. Janssen QP, O'Reilly EM, van Eijck CHJ, Groot Koerkamp B. Neoadjuvant Treatment in Patients With Resectable and Borderline Resectable Pancreatic Cancer. *Front Oncol.* 2020;10:41. doi: 10.3389/fonc.2020.00041
3. Dumont R, Puleo F, Collignon J, et al. A single center experience in resectable pancreatic ductal adenocarcinoma: the limitations of the surgery-first approach. Critical review of the literature and proposals for practice update. *Acta Gastroenterol Belg.* 2017 Oct-Dec;80(4):451-461. Erratum in: *Acta Gastroenterol Belg.* 2018 Apr-Jun;81(2):358.
4. Ayres Pereira M, Chio IIC. Metastasis in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: Current Standing and Methodologies. *Genes (Basel).* 2019;11(1):6. doi: 10.3390/genes11010006
5. Orth M, Metzger P, Gerum S, et al. Pancreatic ductal adenocarcinoma: biological hallmarks, current status, and future perspectives of combined modality treatment approaches. *Radiat Oncol.* 2019;14(1):141. doi: 10.1186/s13014-019-1345-6
6. Kaşıkçı E, Aydemir E, Bayrak ÖF, Şahin F. Inhibition of Migration, Invasion and Drug Resistance of Pancreatic Adenocarcinoma Cells - Role of Snail, Slug and Twist and Small Molecule Inhibitors [published correction appears in *Onco Targets Ther.* 2022 May 11;15:523-526]. *Onco Targets Ther.* 2020;13:5763-5777. doi: 10.2147/OTT.S253418
7. Karpińska M, Czauderna M. Pancreas-Its Functions, Disorders, and Physiological Impact on the Mammals' Organism. *Front Physiol.* 2022;13:807632. doi: 10.3389/fphys.2022.807632
8. Patel SN, Mathews CE, Chandler R, Stabler CL. The Foundation for Engineering a Pancreatic Islet Niche. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2022;13:881525. doi: 10.3389/fendo.2022.881525
9. Das KK, Brown JW, Fernandez Del-Castillo C, et al. mAb Das-1 identifies pancreatic ductal adenocarcinoma and high-grade pancreatic intraepithelial neoplasia with high accuracy. *Hum Pathol.* 2021;111:36-44. doi: 10.1016/j.humpath.2021.01.003
10. Cancer Genome Atlas Research Network. Electronic address: andrew\_aguirre@dfci.harvard.edu; Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated Genomic Characterization of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Cancer Cell.* 2017;32(2):185-203.e13. doi: 10.1016/j.ccell.2017.07.007
11. Visani M, Acquaviva G, De Leo A, et al. Molecular alterations in pancreatic tumors. *World J Gastroenterol.* 2021;27(21):2710-2726. doi: 10.3748/wjg.v27.i21.2710
12. Mallya K, Gautam SK, Aithal A, Batra SK, Jain M. Modeling pancreatic cancer in mice for experimental therapeutics. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer.* 2021;1876(1):188554. doi: 10.1016/j.bbcan.2021.188554
13. Michaelis KA, Zhu X, Burfeind KG, et al. Establishment and characterization of a novel murine model of pancreatic cancer cachexia. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2017;8(5):824-838. doi: 10.1002/jcsm.12225
14. Knudsen ES, Balaji U, Mannakee B, et al. Pancreatic cancer cell lines as patient-derived avatars: genetic characterisation and functional utility. *Gut.* 2018;67(3):508-520. doi: 10.1136/gutjnl-2016-313133
15. Cancer Genome Atlas Research Network. Electronic address: andrew\_aguirre@dfci.harvard.edu; Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated Genomic Characterization of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Cancer Cell.* 2017;32(2):185-203.e13. doi:10.1016/j.ccell.2017.07.007
16. Javadrashid D, Baghbanzadeh A, Derakhshani A, et al. Pancreatic Cancer Signaling Pathways, Genetic Alterations, and Tumor Microenvironment: The Barriers Affecting the Method of Treatment. *Biomedicines.* 2021;9(4):373. doi: 10.3390/biomedicines9040373
17. Hernandez AL, Young CD, Wang JH, Wang XJ. Lessons learned from SMAD4 loss in squamous cell carcinomas. *Mol Carcinog.* 2019;58(9):1648-1655. doi: 10.1002/mc.23049
18. Ezrova Z, Nahacka Z, Stursa J, et al. SMAD4 loss limits the vulnerability of pancreatic cancer cells to complex I inhibition via promotion of mitophagy. *Oncogene.* 2021;40(14):2539-2552. doi: 10.1038/s41388-021-01726-4
19. Grant TJ, Hua K, Singh A. Molecular Pathogenesis of Pancreatic Cancer. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2016;144:241-275. doi: 10.1016/bs.pmbts.2016.09.008
20. Yang J, Liu Y, Liu S. The role of epithelial-mesenchymal transition and autophagy in pancreatic ductal adenocarcinoma invasion. *Cell Death Dis.* 2023;14(8):506. doi: 10.1038/s41419-023-06032-3
21. Thomas SK, Lee J, Beatty GL. Paracrine and cell autonomous signalling in pancreatic cancer progression and metastasis. *EBioMedicine.* 2020;53:102662. doi: 10.1016/j.ebiom.2020.102662
22. Albrengues J, Shields MA, Ng D, et al. Neutrophil extracellular traps produced during inflammation awaken dormant cancer cells in mice. *Science.* 2018;361(6409):eaao4227. doi: 10.1126/science.aao4227
23. Miquel M, Zhang S, Pilarsky C. Pre-clinical Models of Metastasis in Pancreatic Cancer. *Front Cell Dev Biol.* 2021;9:748631. doi:10.3389/fcell.2021.748631
24. Aiello NM, Kang Y. Context-dependent EMT programs in cancer metastasis. *J Exp Med.* 2019;216(5):1016-1026. doi: 10.1084/jem.20181827
25. Aiello NM, Brabletz T, Kang Y, Nieto MA, Weinberg RA, Stanger BZ. Upholding a role for EMT in pancreatic cancer metastasis. *Nature.* 2017;547(7661):E7-E8. doi: 10.1038/nature22963
26. El Amrani M, Corfiotti F, Corvaisier M, et al. Gemcitabine-induced epithelial-mesenchymal transition-like changes sustain chemoresistance of pancreatic cancer cells of mesenchymal-like phenotype. *Mol Carcinog.* 2019;58(11):1985-1997. doi: 10.1002/mc.23090
27. Heinrich MA, Mostafa AMRH, Morton JP, Hawinkels LJAC, Prakash J. Translating complexity and heterogeneity of pancreatic tumor: 3D in vitro to in vivo models. *Adv Drug Deliv Rev.* 2021;174:265-293. doi: 10.1016/j.addr.2021.04.018
28. Thomas D, Radhakrishnan P. Tumor-stromal crosstalk in pancreatic cancer and tissue fibrosis. *Mol Cancer.* 2019;18(1):14. doi: 10.1186/s12943-018-0927-5
29. Neoptolemos JP, Kleeff J, Michl P, Costello E, Greenhalf W, Palmer DH. Therapeutic developments in pancreatic cancer: current and future perspectives. *Nat Rev*

- Gastroenterol Hepatol.* 2018;15(6):333-348. doi: 10.1038/s41575-018-0005-x
30. Chen Y, Kim J, Yang S, et al. Type I collagen deletion in  $\alpha$ SMA+ myofibroblasts augments immune suppression and accelerates progression of pancreatic cancer. *Cancer Cell.* 2021;39(4):548-565.e6. doi: 10.1016/j.ccell.2021.02.007
  31. Jin G, Hong W, Guo Y, Bai Y, Chen B. Molecular Mechanism of Pancreatic Stellate Cells Activation in Chronic Pancreatitis and Pancreatic Cancer. *J Cancer.* 2020;11(6):1505-1515. doi: 10.7150/jca.38616
  32. Du J, Gu J, Li J. Mechanisms of drug resistance of pancreatic ductal adenocarcinoma at different levels. *Biosci Rep.* 2020;40(7):BSR20200401. doi: 10.1042/BSR20200401
  33. Erkan M, Kurtoglu M, Kleeff J. The role of hypoxia in pancreatic cancer: a potential therapeutic target? *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2016;10(3):301-316. doi: 10.1586/17474124.2016.1117386
  34. Kaps L, Schuppan D. Targeting Cancer Associated Fibroblasts in Liver Fibrosis and Liver Cancer Using Nanocarriers. *Cells.* 2020;9(9):2027. doi:10.3390/cells9092027
  35. Xu M, Jung X, Hines OJ, Eibl G, Chen Y. Obesity and pancreatic cancer: overview of epidemiology and potential prevention by weight loss. *Pancreas.* 2018; 47(2):158.
  36. Stanciu S, Ionita-Radu F, Stefani C, et al. Targeting PI3K/AKT/mTOR Signaling Pathway in Pancreatic Cancer: From Molecular to Clinical Aspects. *Int J Mol Sci.* 2022;23(17):10132. doi: 10.3390/ijms231710132
  37. Huber M, Brehm CU, Gress TM, et al. The Immune Microenvironment in Pancreatic Cancer. *Int J Mol Sci.* 2020;21(19):7307. doi: 10.3390/ijms211973077
  38. Hessmann E, Buchholz SM, Demir IE, et al. Microenvironmental Determinants of Pancreatic Cancer. *Physiol Rev.* 2020;100(4):1707-1751. doi: 10.1152/physrev.00042.2019
  39. Ishii N, Araki K, Yokobori T, et al. Conophylline suppresses pancreatic cancer desmoplasia and cancer-promoting cytokines produced by cancer-associated fibroblasts. *Cancer Sci.* 2019;110(1):334-344. doi: 10.1111/cas.13847
  40. Hubbard JM, Grothey A. Napabucasin: An Update on the First-in-Class Cancer Stemness Inhibitor. *Drugs.* 2017;77(10):1091-1103. doi: 10.1007/s40265-017-0759-4
  41. Gu J, Saiyin H, Fu D, Li J. Stroma - A Double-Edged Sword in Pancreatic Cancer: A Lesson From Targeting Stroma in Pancreatic Cancer With Hedgehog Signaling Inhibitors. *Pancreas.* 2018;47(4):382-389. doi: 10.1097/MPA.0000000000001023
  42. Justus CR, Leffler N, Ruiz-Echevarria M, Yang LV. In vitro cell migration and invasion assays. *J Vis Exp.* 2014;(88):51046. doi: 10.3791/51046
  43. Yu S, Zhang C, Xie KP. Therapeutic resistance of pancreatic cancer: Roadmap to its reversal. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer.* 2021;1875(1):188461. doi: 10.1016/j.bbcan.2020.188461
  44. Sarvepalli D, Rashid MU, Rahman AU, et al. Gemcitabine: A Review of Chemoresistance in Pancreatic Cancer. *Crit Rev Oncog.* 2019;24(2):199-212. doi: 10.1615/CritRevOncog.2019031641
  45. Mansoori B, Mohammadi A, Davudian S, Shirjang S, Baradaran B. The Different Mechanisms of Cancer Drug Resistance: A Brief Review. *Adv Pharm Bull.* 2017;7(3):339-348. doi: 10.15171/apb.2017.041
  46. Carter EP, Roozitalab R, Gibson SV, Grose RP. Tumour microenvironment 3D-modelling: simplicity to complexity and back again. *Trends Cancer.* 2021;7(11):1033-1046. doi: 10.1016/j.trecan.2021.06.009
  47. Nieskoski MD, Marra K, Gunn JR, et al. Collagen Complexity Spatially Defines Microregions of Total Tissue Pressure in Pancreatic Cancer. *Sci Rep.* 2017;7(1):10093. doi: 10.1038/s41598-017-10671-w
  48. Parroche P, Roblot G, Le Calvez-Kelm F, et al. TLR9 re-expression in cancer cells extends the S-phase and stabilizes p16(INK4a) protein expression. *Oncogenesis.* 2016;5(7):e244. doi:10.1038/oncsis.2016.49
  49. Garcia PL, Miller AL, Yoon KJ. Patient-Derived Xenograft Models of Pancreatic Cancer: Overview and Comparison with Other Types of Models. *Cancers (Basel).* 2020;12(5):1327. doi: 10.3390/cancers12051327
  50. Jenkins RW. Introduction to Ex Vivo Cancer Models. In: Aref A, Barbie D. (eds) Ex Vivo Engineering of the Tumor Microenvironment. Cancer Drug Discovery and Development. *Humana Press, Cham.* 2017. doi: 10.1007/978-3-319-45397-2\_1
  51. Moreira L, Bakir B, Chatterji P, Dantes Z, Reichert M, Rustgi AK. Pancreas 3D Organoids: Current and Future Aspects as a Research Platform for Personalized Medicine in Pancreatic Cancer. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.* 2017;5(3):289-298. doi: 10.1016/j.jcmgh.2017.12.004
  52. Sontheimer-Phelps A, Hassell BA, Ingber DE. Modelling cancer in microfluidic human organs-on-chips. *Nat Rev Cancer.* 2019;19(2):65-81. doi: 10.1038/s41568-018-0104-6
  53. Caballero D, Kaushik S, Corrello VM, Oliveira JM, Reis RL, Kundu SC. Organ-on-chip models of cancer metastasis for future personalized medicine: From chip to the patient. *Biomaterials.* 2017;149:98-115. doi: 10.1016/j.biomaterials.2017.10.005
  54. Nelson SR, Walsh N. Genetic Alterations Featuring Biological Models to Tailor Clinical Management of Pancreatic Cancer Patients. *Cancers (Basel).* 2020;12(5):1233. doi: 10.3390/cancers12051233
  55. Dünker N, Jendrossek V. Implementation of the Chick Chorioallantoic Membrane (CAM) Model in Radiation Biology and Experimental Radiation Oncology Research. *Cancers (Basel).* 2019;11(10):1499. doi: 10.3390/cancers11101499
  56. Lokman NA, Ricciardelli C, Oehler MK. Chick chorioallantoic membrane assay: a 3D animal model for cancer invasion and metastasis. *Anial Biotechnology.* 2020;221-231. doi: 10.1016/b978-0-12-811710-1.00031-8
  57. Ribatti D. The chick embryo chorioallantoic membrane (CAM). A multifaceted experimental model. *Mech Dev.* 2016;141:70-77. doi: 10.1016/j.mod.2016.05.003
  58. Park JT, Leach SD. Zebrafish model of KRAS-initiated pancreatic cancer. *Anim Cells Syst (Seoul).* 2018;22(6):353-359. doi: 10.1080/19768354.2018.1530301

59. Kucinska M, Murias M, Nowak-Sliwinska P. Beyond mouse cancer models: Three-dimensional human-relevant in vitro and non-mammalian in vivo models for photodynamic therapy. *Mutat Res Rev Mutat Res.* 2017;773:242-262. doi: 10.1016/j.mrrev.2016.09.002
60. Astell KR, Sieger D. Zebrafish In Vivo Models of Cancer and Metastasis. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2020;10(8):a037077. doi: 10.1101/cshperspect.a037077
61. Cabezas-Sainz P, Guerra-Varela J, Carreira MJ, et al. Improving zebrafish embryo xenotransplantation conditions by increasing incubation temperature and establishing a proliferation index with ZFtool. *BMC Cancer.* 2018;18(1):3. doi: 10.1186/s12885-017-3919-8
62. Kong K, Guo M, Liu Y, Zheng J. Progress in Animal Models of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *J Cancer.* 2020;11(6):1555-1567. doi: 10.7150/jca.37529
63. Park JT, Leach SD. Zebrafish model of KRAS-initiated pancreatic cancer. *Anim Cells Syst (Seoul).* 2018;22(6):353-359. doi: 10.1080/19768354.2018.1530301
64. Kucinska M, Murias M, Nowak-Sliwinska P. Beyond mouse cancer models: Three-dimensional human-relevant in vitro and non-mammalian in vivo models for photodynamic therapy. *Mutat Res Rev Mutat Res.* 2017;773:242-262. doi:10.1016/j.mrrev.2016.09.002
65. Astell KR, Sieger D. Zebrafish In Vivo Models of Cancer and Metastasis. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2020;10(8):a037077. doi: 10.1101/cshperspect.a037077
66. Cabezas-Sainz P, Guerra-Varela J, Carreira MJ, et al. Improving zebrafish embryo xenotransplantation conditions by increasing incubation temperature and establishing a proliferation index with ZFtool. *BMC Cancer.* 2018;18(1):3. doi: 10.1186/s12885-017-3919-8
67. Hason M, Bartůněk P. Zebrafish Models of Cancer-New Insights on Modeling Human Cancer in a Non-Mammalian Vertebrate. *Genes (Basel).* 2019;10(11):935. doi: 10.3390/genes10110935
68. Kong K, Guo M, Liu Y, Zheng J. Progress in Animal Models of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *J Cancer.* 2020;11(6):1555-1567. doi: 10.7150/jca.37529
69. Takahashi M, Hori M, Mutoh M, Wakabayashi K, Nakagama H. Experimental animal models of pancreatic carcinogenesis for prevention studies and their relevance to human disease. *Cancers (Basel).* 2011;3(1):582-602. doi: 10.3390/cancers3010582
70. Schook LB, Collares TV, Hu W, et al. A Genetic Porcine Model of Cancer. *PLoS One.* 2015;10(7):e0128864. doi: 10.1371/journal.pone.0128864
71. Bailey KL, Carlson MA. Porcine Models of Pancreatic Cancer. *Front Oncol.* 2019;9:144. doi: 10.3389/fonc.2019.00144
72. Michaelis KA, Zhu X, Burfeind KG, et al. Establishment and characterization of a novel murine model of pancreatic cancer cachexia. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2017;8(5):824-838. doi: 10.1002/jcsm.12225
73. Knudsen ES, Balaji U, Mannakee B, et al. Pancreatic cancer cell lines as patient-derived avatars: genetic characterisation and functional utility. *Gut.* 2018;67(3):508-520. doi: 10.1136/gutjnl-2016-313133
74. Ruggeri BA, Camp F, Miknyoczki S. Animal models of disease: pre-clinical animal models of cancer and their applications and utility in drug discovery. *Biochem Pharmacol.* 2014;87(1):150-161. doi: 10.1016/j.bcp.2013.06.020
75. Takahashi M, Hori M, Mutoh M, Wakabayashi K, Nakagama H. Experimental animal models of pancreatic carcinogenesis for prevention studies and their relevance to human disease. *Cancers (Basel).* 2011;3(1):582-602. doi: 10.3390/cancers3010582
76. Schook LB, Collares TV, Hu W, et al. A Genetic Porcine Model of Cancer. *PLoS One.* 2015;10(7):e0128864. doi: 10.1371/journal.pone.0128864
77. Bailey KL, Carlson MA. Porcine Models of Pancreatic Cancer. *Front Oncol.* 2019;9:144. doi: 10.3389/fonc.2019.00144
78. Lee EJ, Park SJ, Seol A, et al. Establishment of a piglet model for peritoneal metastasis of ovarian cancer. *J Transl Med.* 2022;20(1):329. doi: 10.1186/s12967-022-03533-1
79. Swindle MM, Makin A, Herron AJ, Clubb FJ Jr, Frazier KS. Swine as models in biomedical research and toxicology testing. *Vet Pathol.* 2012;49(2):344-56. doi: 10.1177/0300985811402846. Erratum in: *Vet Pathol.* 2012 Jul;49(4):738.