

T.C
SAĞLIK BAKANLIĞI
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**MEME KANSERİNDE SERUM HİPOKSİ İNDÜKLENEBİLİR
(INDUCIBLE) FAKTÖR-1 (HIF-1) VASKÜLER ENDOTELYAL
BÜYÜME FAKTÖRÜ (VEGF) VE İNSÜLİN BENZERİ BÜYÜME
FAKTÖRÜ-1 (IGF-1)'İN PROGNOSTİK DEĞERİ VE ÖNEMİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Kemal GÜNDOĞDU

KASIM -2016

**TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**MEME KANSERİNDE SERUM HİPOKSİ İNDÜKLENEBİLİR (INDUCIBLE)
FAKTÖR-1 (HIF-1) VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ (VEGF) VE
İNSULİN BENZERİ BÜYÜME FAKTÖRÜ-1 (IGF-1)'İN PROGNOSTİK DEĞERİ VE
ÖNEMİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Kemal GÜNDOĞDU

DANIŞMAN

Prof. Dr. H. Belma KOÇER

KASIM-2016

TEŞEKKÜR:

Cerrahi eğitimim boyunca destek ve sabırlarını benden esirgemeyerek; bilgi ve tecrübelerini hoşgörü ile aktaran hocam Prof. Dr. Fehmi ÇELEBİ, tezimin her aşamasında engin hoşgörüsüyle beraber yardımlarını esirgemeyen tez danışman hocam Prof. Dr. H.Belma KOÇER, kişiliği ve problemlere ve hayata bakış açısıyla bana hem abi hem dost, hem hoca olan Doç. Dr. Fatih ALTINTOPRAK'a;

Cerrahi hayatımın başında cerrahiye sevmeme yardımcı olan Prof. Dr. Osman Nuri DİLEK, Prof. Dr. Gökhan AKBULUT, Doç. Dr. Orhan Veli ÖZKAN'a,

Bilgi ve tecrübeleriyle bana her zaman destek olan değerli uzman abilerime;

Beş yıllık cerrahi eğitimimde birlikte çalışmaktan keyif aldığım, zorluklara birlikte göğüs gerdiğimiz, birçok sıkıntılı andan hoşluklar çıkardığımız, birbirimizi ailelerimizden fazla gördüğümüz değerli asistan arkadaşlarıma;

Tezimin oluşmasındaki çok önemli katkılarından dolayı Uz. Dr. Tayfur DEMİRAY'a;

Birbirimize saygı, sevgi ve yardımlarımızı hiçbir zaman esirgemediğimiz çalıştığım bütün hemşire hanımlar, sağlık memurları ve yardımcı sağlık personellerine;

Hayatımı ve hayatımın çoğunu oluşturan tıp ve genel cerrahi hayatımı borçlu olduğum babam Op. Dr. Erdal GÜNDOĞDU'ya,

Hiçbir desteğini esirgmeden her sıkıntıda yanımda olan annem Fazilet GÜNDOĞDU'ya,

Manevi desteğini ve neşesini her zaman yanımda hissettiğim kardeşim Dt.Tevfik Mert GÜNDOĞDU'ya,

Sabriyla karşılaştığım sorunları çözmemde yardımcı olan, daima benim yanımda olduğunu hissettiren değerli eşim Uz.Dr.Aslı Aksoy GÜNDOĞDU'ya,

Varlığıyla hayatımı güzelleştiren ve anlam katan biricik kızım Maya GÜNDOĞDU'ya;

Teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Dr.Kemal GÜNDOĞDU



Annem, Eşim ve Kızıma...

BEYAN:

Bu çalışma T.C. Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan 23/10/2015 tarihinde onay olarak hazırlanmıştır. Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Tarih: .../.../.....

Kemal GÜNDOĞDU

İmza

KISALTMALAR:

HIF : Hipoksi İndüklenebilir Faktör

VEGF : Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

IGF : İnsülin Büyüme Faktörü

ER : Östrojen reseptörü

PR :Progsteron Reseptörü



İÇİNDEKİLER:

TEŞEKKÜR:.....	i
BEYAN:.....	iii
KISALTMALAR:.....	iv
İÇİNDEKİLER:.....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vi
TABLolar LİSTESİ.....	vii
ÖZET:.....	viii
SUMMARY:.....	x
1 GİRİŞ.....	1
2 AMAÇ.....	8
3 HİPOTEZ.....	9
4 MATERYAL METOD.....	10
4.1 Eliza yöntemi.....	11
5 İSTATİSTİK.....	12
6 BULGULAR.....	13
7 TARTIŞMA.....	36
8 SONUÇ.....	46
9 KAYNAKLAR.....	49
ÖZGEÇMİŞ.....	67

SEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1 Kontrol ve hasta grubunda HIF α VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D, IGF ve İnsülin değerlerinin bar grafik ile gösterimi	17
Şekil 2 Kontrol ve hasta grubunda HIF1- α karşılaştırması.....	18
Şekil 3 Kontrol ve hasta grubunda VEGF-C karşılaştırması.....	18
Şekil 4 Kontrol ve hasta grubunda VEGF-D karşılaştırması.....	19
Şekil 5 Kontrol ve hasta grubunda IGF-I karşılaştırması	19
Şekil 6 HIF-1 α Eşik Değer Hesaplanması	27
Şekil 7 VEGF-A Eşik Değer Hesaplanması	28
Şekil 8 VEGF-C Eşik Değer Hesaplanması	29
Şekil 9 VEGF-D Eşik Değeri Hesaplanması	30
Şekil 10 IGF-I Eşik Değeri Hesaplanması.....	31
Şekil 11 İnsülin Eşik Değeri Hesaplanması.....	32

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1 Sağlıklı kadınlarda serum HIF-1alfa, VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D, IGF-I ve İnsülin korelasyonları.....	14
Tablo 2 Hasta grubunun klinikopatolojik özellikleri.....	15
Tablo 3 Serum Değerlerinin Sağlıklı ve Hasta Gruplarında Ortalamaları ve Standart Sapma Değerleri.....	17
Tablo 4 Meme Kanserli Hastalarda Serum Değerlerinin Kendi Aralarında Korelasyonları.....	21
Tablo 5 Klinikopatolojik Parametreler ile Serum HIF-1 α , VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D, IGF-I ve İnsülin Değerlerinin Karşılaştırılması	22
Tablo 6 Meme kanserli hastalarda serum parametreleri ile klinikopatolojik parameter karşılaştırması	26
Tablo 7 ROC eğrisine göre belirlenen eşik değerleri eşliğinde serum parametrelerinin klinikopatolojik parametrelerle karşılaştırılması	34

ÖZET:

Meme kanseri dünyada ve ülkemizde kadınlar arasında en sık görülen kanser olup, ülkemizde kadınlarda görülen tüm kanserlerin yaklaşık % 25'ini oluşturmaktadır. Meme kanserinin sistemik bir hastalık olarak algılanmaya başlanması ile hastalar evrelendirilmiştir ve sağkalımla ilgili prognostik faktörler önem kazanmıştır. Aksillası negatif olan hastalarda görülen nüks olguları araştırmacıları başka prognostik faktörler üzerinde çalışmaya yöneltmiştir.

Bu çalışmanın amacı; meme kanseri hastalarında, Hipoksi ile İndüklenebilir Faktör-1alfa (HIF-1alfa), Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü-A (VEGF-A), Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü-C (VEGF-C), Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü-D (VEGF-D), İnsülin Büyüme Faktörü-I (IGF-I) ve İnsülin değerlerinin hastaların prognostik faktörleri ile ilişkili olup olmadığının araştırılması; ayrıca bu parametrelerin neoadjuvan kemoradyoterapiye cevabı yansıtan birer parametre sayılıp sayılmayacağıının gösterilmesidir.

Kliniğimizde 56 meme kanseri hastasından, neoadjuvan kemoterapi almış olan 18 hastadan neoadjuvan kemoterapiden önce, neoadjuvan kemoterapiden sonra ve ameliyattan 1 ay sonra kan örnekleri toplanırken neoadjuvan kemoterapi almamış olan diğer 38 hastadan ameliyat öncesi ve sonrası kan örnekleri toplanılmıştır. Bu hastaların serumlarında HIF-1alfa VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D, IGF-I ve insülin değerleri ölçülmüştür. Klinikopatolojik parametreler olarak yaş, obezite, CA15-3, D vitamini düzeyi, metastatik lenf nodu, grade, evre, östrojen ve progesteron reseptörü, cErbB2 değerlendirmeye alınmıştır. Kontrol grubu olarak 30 sağlıklı kadının serum örnekleri değerlendirilmiştir.

Ellialtı meme kanseri hastasında serum değerleri kontrol grubuyla ve klinikopatolojik parametrelerle karşılaştırılmıştır. HIF-1alfa ve IGF-I hastalarda daha yüksek bulunurken VEGF-D hastalarda daha düşük bulunmuştur. HIF-1alfa'nın VEGF-D ile ters korelasyon gösterdiği, VEGF-A ve VEGF-C ile pozitif korelasyon gösterdiği, insülin değerinin ise IGF-I ile ters korelasyon gösterdiği görülmüştür.

Klinikopatolojik parametrelerle karşılaştırıldığında obezite haricinde diğer parametrelerle anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır. Obez hasta grubunda HIF-1alfa VEGF-C, VEGF-D ve IGF-I değerlerinin daha düşük olduğunu saptanmıştır.

Sonuç olarak HIF-1alfa VEGF-D ve IGF-I değerleri meme kanseri ile sağlıklı kadınların ayırımında kullanılabilir bir belirteç olabilir. HIF-alfa VEGF-C, VEGF-D ve IGF-I değerleri arasındaki korelasyon bize HIF'in VEGF ve IGF-I üzerinden tümör progresyonunu etkilediğini gösterebilir. Bu alanda yapılacak çalışmaların, incelenen hasta sayılarının artması, araştırmada yöntem ve grup standardizasyonlarının sağlanması ile bu faktörlerin prognozu belirlemede de kullanılabilir değeri düşünölmektedir.



SUMMARY:

Breast cancer is the most frequent cancer among women in our country and in the world, constitutes 25% of all cancers of women. By perception of breast cancer as a systemic disease, patients are staged and prognostic factors about survival became more important. Relapses in node negative patients, canalized the researchers to work on other prognostic factors.

Aim of this study is to research if HIF-1alfa VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D, IGF-I, Insulin values are related with patients' prognostic factors, also to express if these parameters are useful to emphasise the response to neoadjuvant chemotherapy.

Serum samples were taken, from 56 breast cancer patients, 18 neoadjuvant chemotherapy taken, before and after therapies, and also after operation. From 38 patients who did not take neoadjuvant chemotherapy, only preoperative and postoperative blood samples were taken. In this samples HIF-1alfa VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D, IGF-I and insulin levels were detected. Age, obesity, CA 15-3, vitamine D level, metastatic lymph nodes, grade, stage, estrogen and progesteron receptors and cErbB2 levels are evaluated.

In 56 breast cancer patients, serum levels are compared with control group and clinicopathologic parameters. As HIF-1alfa and IGF-I is higher, VEGF-D is lower in patients. HIF-1alfa is negatively correlated with VEGF-D, VEGF-A and VEGF-C is positively correlated and insulin is negatively correlated with IGF-I.

When compared with clinicopathological parameters, no significant correlation is detected, except obesity. In obesity group, it is determined that HIF-1alfa VEGF-C, VEGF-D and IGF-I levels are lower.

To summarize, HIF-1alfa VEGF-D and IGF-I levels can be markers to discriminate breast cancer and healthy women. By development of studies and number of patients studied, by standardization of groups and methods, it s probable to use these factors to determine the prognosis.

1. GİRİŞ

Meme kanseri dünyada ve ülkemizde kadınlarda en sık görülen kanserdir. Amerika Birleşik Devletleri'nde ölüme neden olan kanserler arasında 4. sırada meme kanseri yer almaktadır. ABD'de yapılan prevalans ve insidans çalışmalarında; 2013 yılında 3.053.450 kadının meme kanseri olduğu, 232.000 yeni meme kanseri olgusu görüldüğü bildirilmiştir ve 2009-2013 arasında 100.000 ölümün 21,5'inden meme kanseri sorumludur. (1)

Ülkemizde meme kanseri kadınlardaki tüm kanserlerin 24,6'sını oluşturmaktadır ve 2013 yılında 9733 yeni meme kanseri olgusu görülmüştür. 2013 yılında Türkiye'de meme kanseri insidansı 100.000 kişide 45,9'dur. Türkiye'de görülen ilk 5 kanser türünün dünyadaki ve diğer gelişmiş ülkelerdeki ile benzerlikler gösterdiği görülmektedir. Erkeklerde trakea, bronş ve akciğer kanseri, kadınlarda ise meme kanseri en sık görülen kanserlerdir. Ülkemizde 15-24 yaş aralığındaki tüm kadın kanserlerinin %4,9'u, 25-49 yaş aralığındaki kadınların tüm kanserlerinin %33,7'si, 50-69 yaş aralığındaki tüm kadın kanserlerinin %25,4'ü, 70 yaş üzeri tüm kadın kanserlerinin % 14,16'sı meme kanseridir. 2016 yılında 246.660 yeni meme kanseri olgusu beklenmektedir. Tüm yeni kanser vakalarının % 14,6'sı meme kanseri olup, 2016 yılında meme kanserinden beklenen ölüm sayısı 40.450'dir. Bu sayı kanser nedeni tüm ölümlerin % 6,8'ini oluşturmaktadır. 2006-2012 tarihleri arasında hastaların 5 yıllık sağkalımı %89,7'dir. (2)

Çeşitli faktörler prognozu etkileyip sağkalımı etkilemektedirler. Bu etki patolojik bulgu ve klinik seyirle ilişkili olduğundan meme kanserinde prognozu değerlendirirken, rutin patolojik inceleme çok önemlidir. Tümör çapı, aksiller lenf nodu durumu, histolojik grade, histolojik tümör tipi, yaş, lenfovasküler invazyon ve proliferasyon hızı, hormon reseptör durumu varlığı bilinen önemli prognostik faktörlerdir. (3) Tümör çapının diğer prognostik faktörlerden bağımsız bir prognostik kriter olarak önemi büyüktür. Tümör çapı 1 cm'nin altında olan lenf düğümü tutulumu negatif hastalarda 10 yıllık sağkalım oranları %90'ın üstündedir. Çapı 2-4 cm arasındaki tümörlerde ise bu oran yaklaşık %55'tir (4)

Çap, meme kanserinde nüks riski ve özellikle nod negatif hastalarda adjuvan tedavi seçimi için de önemli ve güvenilir bir prognostik faktördür. Çap arttıkça evre ve nüks riski artmaktadır. Bu nedenle adjuvan kemoterapi tercih edilmekte ve tedavi modalitesinde değişimler ortaya çıkabilmektedir. (3).

Tümör çapı aksiller nod tutulumunu da etkiler. Çap büyüdükçe aksiller tutulumun yanında tutulan nod sayısında da artış söz konusudur. Aksiller tutulum gösteren küçük çaplı tümörlerin prognozu, büyük çaplı olanlara göre daha iyidir. Tüm nodal tutulum kategorilerinde tümör çapı büyüdükçe yaşam süresi kısalmaktadır (5).

Özellikle aksiller tutulum göstermeyen primer meme tümörlü hastalarda tümörün meme içindeki lokalizasyonu da prognostik önem taşımaktadır. Medial tümörlere göre lateral lokalizasyonlu tümörlerin aksiller metastaz yapma olasılığı daha fazladır (6). Tümör çapı, tümör dinamiği yanında tanıda gecikmeyi de ifade eder. Tümörlerin büyüdükçe agresif olma özelliği yanısıra daha agresif oldukları içinde çabuk büyümeleri söz konusudur.

Tümör çapının klinik, radyolojik ve patolojik ölçümleri arasında büyük çelişkiler saptanabilmektedir. Bu nedenle patolojik ölçümlerin gerçek tümör çapını daha iyi yansıttığı ve esas alınması gerektiği vurgulanmıştır (6).

Günümüzde meme kanserinin prognozunu belirleyen en önemli faktör aksiller lenf gangliyonlarının metastaz içerip içermediği ve eğer içeriyorsa tutulan lenf gangliyonlarının sayısıdır. Aksiller lenf gangliyonlarında metastaz yoksa 10 yıllık hastaliksız yaşam süresi %70-80 arasındadır. Bu oran aksillası pozitif olan hastalarda %30'lara kadar düşer. Aksilla negatif olan hastalarda 10 yılda nüks oranı %20 iken, 4 veya daha fazla nod pozitif olanlarda nüks %71'dir. 13 veya daha fazla sayıda nod pozitifliği nüksü %87'e çıkarmaktadır (7,8). Bu bilgilere dayanarak denebilir ki tutulan nod sayısı arttıkça tedavide başarısızlık oranı da artmakta ve toplam sağkalım kısalmaktadır.

Östrojen (ER) ve progesteron reseptörleri (PR) de meme kanserlerinde bağımsız birer prognostik faktördür. Dolaşımdaki hormon ile aktive olan hormon-

reseptör kompleksi, spesifik olarak, nükleus içindeki DNA sekanslarına bağlanır ve fizyolojik ve mutajenik hormon aktivitesini sağlayan transkripsiyonu gerçekleştirirler (9,10). Kültür çalışmalarında fonksiyonel östrojen reseptörü taşıyan meme kanser hücresinde mutajenik etki kanıtlanmıştır (11). Başta meme ve endometrium karsinomu olmak üzere, bir grup neoplastik hastalıkta östrojen ve progesteron reseptörlerinin prognostik önemi belirlenmiştir. Primer meme kanserlerinin ortalama %55-65'i; meme kanseri metastazlarının yaklaşık %45-55'i ER pozitifdir (12). ER ve PR pozitifliği postmenopozal dönemde, premenopozal dönemden daha fazladır. ER pozitif tümörlerde, hormon tedavisine %55-60, ER negatif tümörlerde ise %8 yanıt alınmaktadır. Hem ER hem de PR pozitif tümörlerde hormon tedavisine yanıt %75-80'e ulaşmaktadır (12). ER, evre 1 ve 2 meme kanserlerinde, sağkalım ve hastalısız sağkalım ile ilgili bulunmuş PR'nün ise sağkalım için ER'den daha belirleyici olduğu belirtilmiştir (12). İnsitu duktal karsinomalarda da nükleer derece arttıkça ER ve PR pozitifliğinin azaldığı saptanmıştır (13). ER ve PR pozitif tümörler hormonal tedaviye yanıt verir ve daha iyi prognoz gösterirler (14).

Prognostik faktörlerden bir diğeri de histolojik tip ve graddir. Meme kanserlerinin tamamına yakını epitelyal kaynaklı karsinomlar olup stromal kökenli sarkomlar tüm meme kanserlerinin %1'inden azını oluşturmaktadır. Karsinomlar ise invaziv kanserler ve in-situ ya da pre-invaziv kanserler olarak sınıflandırılabilir. İn-situ kanserler köken aldıkları lobül ve duktal yapılardan, ilerleyip invaziv tümörlere dönüşebilir böylece metastaz yeteneğine de sahip olabilirler. İnvaziv tümörlerin ise yaklaşık %80'i invaziv duktal, %10 ila 15'i ise invaziv lobuler kanserler olup klinik gidişleri farklı olmadığından tedavi kararını etkilemez. Bununla beraber nadir görülen meme kanser tiplerinden tubuler, musinöz, invaziv kribriform tip meme kanserleri nadiren metastaz yaptığından prognozları daha iyidir. İnflamatuar karsinom ve taşlı yüzük hücreli karsinomların ise görülme sıklığı %1 civarında olup prognozları kötüdür (15).

Histolojik grade yani derece ise kanser hücresinin normal hücreden ne derecede farklılaştığını gösteren bir terim olup farklılaşmanın çok olması diferansiyasyon kötüleşmesi anlamına gelmektedir. Histolojik grad, patologlar tarafından incelenen hücrenin glandüler ve tubüler diferansiyasyona, nükleer

pleomorfizmine ve mitoz sayısına göre skorlamayı esas alan Nottingham ya da diğer ismiyle Elston-Ellis sistemi ile değerlendirilir (16). Özellikle nod negatif hastalarda, klinik kötü gidiş ve endokrin yanıtızlıkla beraberdir (17).

Lenfovasküler invazyon hem kötü prognoz hem de aksiller lenf nodu metastazı ile ilişkilidir (18). Erken evrede yüksek grade ve/veya lenfovasküler invazyon olan sistemik tedavi almamış hastalarda, 10 yıllık nüksüz sağkalım %75'ten azdır (19). Nükleer protein olan ki-67 proliferasyon hızı ve grade ile ilişkilidir (20). 46 çalışmanın metaanalizinde yüksek ki-67 değeri bulunan, hem lenf nodu negatif hem pozitif hastalarda relaps riski yüksek hem de genel sağkalım daha kötü bulunmuştur (18). Retrospektif bir çalışmada ki-67'nin neoadjuvan kemoterapide patolojik tam yanıtı predikte ettiği gösterilmiştir (21).

Bir diğer prognostik faktör olan, membran hormon reseptörlerinden Her2/neu, transmembranöz Her protein ailesinin bir üyesi olup, amplifikasyonu veya aşırı ekspresyonu invaziv meme kanserinde %18-20 oranında saptanmaktadır(22). Her2/neu pozitifliği, yüksek histolojik grade, ER ve PR negatif, lenf nodu pozitif ve yüksek proliferasyon oranı gösteren meme kanserlerinde karşımıza çıkmaktadır (23,24). Genel olarak sağkalımda bir azalma ile Her2/neu pozitifliği arasında bir ilişki mevcuttur. Her2/neu pozitifliği, trastuzumab tedavisinden yarar görebilecek hastaları belirleyen prediktif bir göstergedir ve transtuzumab tedavisi ile nüks riski %50 azaltılabilir (25).

Kanser hücreleri, kontrolsüz ve güçlü mitotik aktiviteleri nedeniyle hızlı proliferere olmakta ve yüksek seviyede oksijen gereksinimi olan tümöral dokular ortaya çıkmaktadır. Hızlı metabolizması için gereken oksijeni sağlayamayan hipoksideki tümöral hücrelerden hipoksiye cevaben çeşitli transkripsiyon faktörleri üretilmektedir. Bunlardan en önemlisi hipoksiyle indüklenebilen ya da hipoksi inducable faktör (HIF) dır. Meme kanserinde HIF 1 alfa yüksekliğinin gösterilmesinin yanısıra, (26) kolon, tiroid, akciğer, serviks, renal hücreli kanser, hepatoselüler kanser, prostat, cilt ve baş boyun malignitelerinin yanında ateroskleroz ve iskemik hastalıklar gibi malign olmayan hastalıklarda da yüksek oranla buldukları ispatlanmıştır (27). HIF, alt üniteleri ile birlikte tümöral hücrenin ilerleyen aşamada gösterdiği önemli davranışlar

olan ekspansif ve invaziv büyüme, metastaz yapma, tedaviye direnç sağlayan genlerin ekspresyonu gibi özelliklerden sorumlu olan bir transkripsiyon faktörüdür (28).

Hücre metabolizmasında kilit bir rolde olup apoptozu engeller, hücre devamlılığını sağlayan diferansiyasyon, neovaskülarizasyon, metabolizmanın ve büyüme faktörlerinin oksijenasyona göre yeniden düzenlenmesi gibi faktörleri programlar. Tümöral dokuda hipoksi varlığında stabilize olarak, etkilediği yüzlerce genin transkripsiyonunu yöneterek hücreyi hipoksik stresten kurtarırlar. Ayrıca hipoksideki malign hücrenin yaşamını anjiyogenez ile yeniden düzenler ve başka hedef genlerin transkripsiyonunu da sağlar (29). Bunlardan en potent anjiyojenik özelliği olan faktör, vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) dür. Patolojik açıdan, tümör progresyonu kaskadında PI3K uyarılması sonrasında HIF 1 alfa artışının vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) üzerinden devam ettiği yapılan immunohistokimyasal çalışmalarla gösterilmiştir. (30)

HIF 1 alfa, VEGF molekülünün promotor kısmında yer alan hipoksi cevap elemanları bölgesine bağlanarak VEGF mRNA'nın indüklenmesine ve sonuçta MAPK bağımlı yolak aracılığıyla endotelyal hücre proliferasyonuna bağlı olarak neovaskülarizasyona neden olur. Dolayısıyla intersitisyel ödem artar. Hipoksi daha da derinleşir ve VEGF üretimi yeniden indüklenir. (19,20)

VEGF ailesi, ilk keşfedilen ve en çok araştırılmış olan VEGF-A başta olmak üzere, PGF (Plasenta Growth Factor), VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D ve son yıllarda keşfedilen, virüsler tarafından kodlanan VEGF-E ve yılan venomunda gösterilmiş VEGF-F gibi yeni üyelerin de eklendiği, üretildiği hücrelerde anjiyogenez ve lenfanjiyogenezi stimule eden bir sinyal proteini ailesidir (31). Hücre yüzeyindeki tirozin kinaz reseptörlerine bağlanarak (VEGFR) tirozin kinaz aracılıklı transfosforilasyon ile hedef hücreye etki etmektedirler. VEGF-A VEGFR1 ve VEGFR2 ye bağlanarak anjiyogenezisi (32). VEGF-C ve VEGF-D ise VEGFR3 e bağlanarak lenfanjiyogenezi stimule ettiği gösterilmiştir. VEGFR3 sığır, bufalo ve primatların korpus luteumlarında lenfatik endotelyal hücrelerinde gösterilmiştir. (33) Bir hücrede VEGF-A üretiminin hipoksi durumunda arttığı, yine hipoksi ile aktifleşip

stabil hale gelmiş HIF-1alfa ile indüklendiği, endotelial hücrelerde tirozin kinaz yolağıyla anjiyogenezisi arttırdığı gösterilmiştir. (32) VEGF'nin çeşitli benign ve malign hastalıklarda artışının olduğu bilinmekle beraber, yapılan çalışmalarda akciğer, kolon ve pankreas kanseri, malign melanom ve bizim de çalışmamızın konusu olan meme kanserinde anlamlı olarak yüksek olduğu gösterilmiştir. (34,35)

Meme kanseri olan kadınlarda VEGF'nin tümöral ekspresyonu hasta sağkalımı ile korele bulunmuştur (36,37). VEGF ekspresyonunun tedavi kararında ve tedaviye cevabın değerlendirilmesinde yararlı olabileceği bildirilmektedir. Lenf nodu negatif meme kanserli kadınlarda VEGF ile ER, PR, tümör boyutu arasında anlamlı ilişki olduğu gösterilmiştir. (36, 38). Lenf nodu pozitif meme kanserli kadınlarda da nüksüz sağkalım ve toplam sağkalımı öngörebileceği bildirilmiştir. Rosen LS. ve arkadaşlarının yaptığı çok değişkenli analizle yapılan bir çalışmada VEGF ekspresyonunun toplam sağkalımın bağımsız bir prediktörü olduğu gösterilmiştir (39). Yüksek VEGF düzeylerinin ileri evre meme kanserinde kemoterapi, radyoterapi ve hormonal terapide artmış direnç gelişimine katkıda bulunabileceği bildirilmiştir (40).

Proliferasyon, diferansiyasyon, migrasyon, hücre yaşamı, apoptozis ve transformasyonu düzenleyen temel hücresel etmenlerden birisi de insülin-benzeri büyüme faktörü (IGF) dir. IGF nin kanser gelişim patolojisinde oynadığı kritik rol nedeniyle IGF sinyalizasyon mekanizmasının meme kanserine yol açan disregülasyonda da anlamlı rolü olduğu kabul edilmektedir (41). IGF iki ligand (IGF 1 ve 2) ve IGF sinyalizasyonunu yönlendiren reseptör (IGF1r) ve IGF aktivitesini yönlendiren IGF bağımlı proteine (IGF binding protein) sahiptir. (21,25,42,43) Esas kritik fizyolojik rolü IGF 1,2 ve IGF1r oynamaktadır. IGF1 ve IGF1r nin meme hücrelerinde erken transformasyona, transgenik fare modelinde memede epitelyal hiperplazi ve meme kanser hücrelerinin büyümesini indüklediği gösterilmiştir. (44,45) Birçok kanserde overeksprese ve aktive olmuş IGF1r ve yüksek IGF ligand düzeyi gözlemlenmiştir (46). Ayrıca IGF sisteminin aberran sinyalizasyonu tedavi direnciyle ilgili bulunmuştur (21). IGF1r amplifikasyonları pankreas adenokanserinde, mide kanserinde, Wilms tümörlerinin küçük bir bölümünde bildirilmiştir. Dolayısıyla IGF1r in aberran ekspresyonunun onkogenezele ilgisi olduğu düşünülmektedir (25). Meme

kanserinde; IGF1r nin endokrin tedaviye, anti human epidermal büyüme faktörü reseptör 2 (her2) tedavisine cevap ile, ayrıca küçük hücreli dışı akciğer kanserinde Ki-67 ekspresyonu ile doğrudan ilgili olduğu, kemoterapiye direnç ve hastalısız sağkalım süresi ile ilişkili olduğu ispatlanmıştır. (47) İnsülin, normal dokularda olduğu gibi meme dokusunda da etkili bir majör anabolik mutajendir. (48)

Hücre içinde fosforilasyonu ve geranylgeranyl transferase (GGTase-I) aktivitesini arttırarak hücrede lizofosfatidik seviyesini (LPA) arttırmaktadır. LPA ile indüklenmiş hücrenin, hücre döngüsüne daha erken girdiği ve hücrenin mitojen bir hale geldiği bilinmektedir. (49)

Meme kanserlerinin çoğunun insülin reseptörü aşırı üretimi yaptığı ve bu aşırı üretimin meme epitel hücresinde fenotip değişikliğine neden olduğu gösterilmiştir.(50,51) Buna ek olarak meme kanser hücrelerinin, yüksek insülin seviyelerinde insülin reseptörlerini down regüle edemediği görülmüştür (52,53). Yapılan bir çalışma insülin reseptörü pozitif olan meme kanserlerinin insülin reseptörü negatif olanlara göre daha kötü prognozlu olduğunu göstermiştir (54). Ayrıca açlık insülin seviyesinin adjuvan kemoterapi alan meme kanserli kadınların tahmini sağkalım ve hastalısız sağkalım süresinde etkili olduğu görülmüştür (55).

HIF-1alfa yüksekliği birçok insan malignitesinde gözlenmekle beraber (56) normoksik koşullardaki kanser hücrelerinin %76.5 inde HIF-1alfa yüksekliği görülmüştür (57). HIF-1alfa, PI-3K/Akt and MEK1/ERK yolağını kullanarak başta VEGF olmak üzere bFGF-2,FGF-7 ve TGF-B (58), eritropoetin ve glikolitik enzimler (59) gibi anjiyogenez, hücrenin hipoksiye adaptasyonu, hücre yaşamı ve proliferasyonunda etkili proteinlerin ekspresyonunu regüle eder. VEGF ayrıca başka sinyal proteinleri tarafından da kontrol edilmektedir. Moulton ve arkadaşlarının yaptığı serum VEGF ve serum sinyal proteinlerinin değerlendirildiği çalışmada VEGF düzeyinin p53 gen mutasyonu, IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-13, FGF- 4, PDGF, TGF- β , IGF-1, TNF- α ve NO gibi birçok endojen ajan ile düzenlenmekte ve tümör hücrelerinde VEGF ekspresyonu artmakta olduğu tespit edilmiştir (60).

2. AMAÇ

Amacımız meme kanseri tanısı alan hastalarda pre-operatif serum HIF düzeyinin klinikopatolojik parametrelerle korelasyonunu tespit etmek, HIF'in etkisini VEGF ve IGF üzerinden yapıp yapmadığını göstermektir. HIF, VEGF, IGF ve insülinin birbirleriyle ve klinikopatolojik parametrelerle korelasyonun nasıl olduğunu göstermektir. İkinci amacımız; neoadjuvan kemoterapi alan hastalarda HIF düzeyinin hastanın neoadjuvan kemoterapiye cevabını yansıttığını göstermektir.



3. HİPOTEZ

HIF-1alfa meme kanserinde VEGF ve IGF üzerinden angiogenezi ve lenfanjiyogenezi artırıp tümör proliferasyonu artırmaktadır. Pre-op ölçülen HIF-1alfa düzeyi, hastaların prognoz tahmininde yeri olan klinikopatolojik özelliklerini yansıttığından, bir belirteç olarak kullanılabilir. İkinci hipotezimiz; HIF düzeyi neoadjuvan kemoterapiye cevabı yansıtan bir belirteçtir. Neoadjuvan tedavi öncesi HIF düzeyi yüksek olan hastalarda neoadjuvan tedaviye cevap dirençli olacaktır.



4. MATERİYAL METOD

Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda 2015-2016 yılları arasında primer invaziv meme kanseri tanısı 56 hasta ve 30 sağlıklı kadın çalışmaya dahil edildi. 23.10.2015 tarihli 19 nolu etik kurul onay kararından sonra hastalardan ve kontrol grubundan gönüllü onam formu alındı. Genel cerrahi polikliniğine başvuran ve/veya genel cerrahi anabilim dalında ameliyat edilen hastalardan ardışık olarak kan örnekleri alındı. Kan örnekleri tam olan ve klinikopatolojik parametrelerin verileri tam olan hastalar çalışmaya dahil edildi.

Ellialtı meme kanseri hastasının 18'i neoadjuvan kemoterapi almış ve 38'i almamıştı. Neoadjuvan kemoterapi almayan 38 hastadan operasyondan 24 saat öncesi ve postoperatif 1. ayda olmak üzere 3 defa serum örnekleri alındı. Neoadjuvan kemoterapi alması planlanan 18 hastadan ise kemoterapiden 24 saat öncesi, operasyondan 24 saat öncesi ve postoperatif 1.ayda serum örnekleri alındı. Kontrol grubu olarak hiçbir akut, kronik, ya da malignite tanısı olmayan yaşları 30-81 arasında olan 30 sağlıklı kadın dahil edildi.

Çalışmanın laboratuvar kısmı Sakarya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında yapıldı. Hastalara ve kontrol grubuna ait serum örnekleri aç karnına alınıp santrifüj edildikten sonra uygun şartlarda testlerin çalışma tarihine kadar -80°C muhafaza edildi. Hastaların klinikopatolojik özellikleri kaydedildi. Hastaların klinikopatolojik değerlendirmelerinde yaş, cinsiyet, histopatolojik tiplendirme, pre-operatif evreleme, operasyon şekli (meme koruyucu, mastektomi), sentinel lenf nodu tutulumu, aksiller girişim şekli (sentinel lenf nodu biyopsisi, aksiller diseksiyon), patolojik evre, BMI bakıldı. BMI > 30 olanlar obez olarak değerlendirildi. Neoadjuvan, adjuvan kemoterapi ve/veya radyoterapi, hormonoterapi uygulanıp uygulanmadığı değerlendirmeye alındı. Patolojik tanıları invaziv duktal, lobüler ve miks (invaziv duktal ve lobüler) karsinom olan hastalar çalışmaya dahil edildi. diğer patolojik tanıları (duktal ve lobuler karsinoma in situ, sarkom) olan meme kanserli hastalar çalışmaya dahil edilmedi.

4.1 Eliza yöntemi

Kan örnekleri periferel venöz ponksiyonla alındıktan hemen sonra 3000g da 5 dk santrifüj edilmiş ve -80 °C'de saklanmıştır. Çalışma için yeterli hasta ve kontrol grupları oluşturulduktan sonra çalışmanın elisa ve laboratuvar kısmına geçildi. HIF1-alfa (Human Hypoxia Inducible Factor 1 Alpha Elisa Kit, Mybiosource, New York, ABD-Cat No: MBS261767), VEGF-A (Human VEGF-A PicoKine TM Elisa Kit, Mybiosource, New York, ABD-Cat No: MBS355293), VEGF-C (Human VEGF-C PicoKine TM Elisa Kit, Mybiosource, New York, ABD-Cat No: MBS175819), VEGF-D (Human VEGF-D PicoKine TM Elisa Kit, Mybiosource, New York, ABD-Cat No: MBS355352), IGF-I (Human Insulin Like Growth Factor 1 (IGF-1) Elisa Kit, Mybiosource, New York, ABD-Cat No: MBS355352). Her kitin çalışma metodolojisindeki farklılıklar nedeniyle kitler farklı günlerde ve her kit için aynı hastaya ait farklı bir epondorf (serum) kullanıldı. Her parametre 96'lık mikropaklarda her kitin üretici talimatlarına uygun olarak, Tritrus (Grifols, İspanya) tam otomatik mikroeliza cihazında çalışıldı. Her parametre için uygun optik dansitometrelerde sonuçlar okunarak kaydedildi. Serum insülin düzeyleri diğer parametrelerden farklı olarak Architect i2000 SR makroeliza cihazında (Abbott, Almanya) yine aynı markanın kitleri kullanılarak çalışıldı.

5. İSTATİSTİK

İstatistik için IBM SPSS Statistics 21.0 programı kullanıldı. Sonuçların homojenitesini saptamak için Kolmogorov-Smirnov testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen sonuçlar için gruplar arasındaki farklılıkları değerlendirmek için Mann-Whitney-U ve Krusker-Wallis testi kullanıldı. Sayısal değerlerin birbirleri arasındaki korelasyonunu saptamak için Spearsman korelasyon testi kullanıldı. HIF-alfa, VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D, IGF-I, İnsülin değerleri için ROC grafi ile bir eşik değeri (cut-off değeri) belirlenmiştir. Bu eşik değerlerine göre grafik altındaki alan (area under curve-AUC) $> 0,6$ olan grafikler anlamlı olarak değerlendirilmiştir. Bu cut-off değerlerine göre HIF-1alfa, VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D, IGF-I, İnsülin pozitif veya negatif olarak tanımlanmıştır. HIF-1alfa, VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D, IGF-I, İnsülin pozitifliğinin gruplar arasında karşılaştırılması ve klinikopatolojik parametrelerin serum pozitiflikleri ile karşılaştırılması için Ki-kare testi kullanılmıştır. Örneklem sayısı az olan gruplarda Fisher-exact test kullanılmıştır.

6. BULGULAR

Otuz sağlıklı kadın, 56 meme kanserli hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Sağlıklı kontrol grubunun yaş ortalaması $51,10 \pm 10,81$ yıl (30-69 yıl), meme kanserli hastaların yaş ortalaması $54,48 \pm 13,13$ yıl (27-80 yıl) olarak saptanmıştır. Meme kanserli hastaların boy ortalaması $161,05 \text{ cm} \pm 4,37$ (153-175 cm), kilo ortalaması $70,23$ kilogram $\pm 10,20$ (45-95 kilogram), D vitamini ortalaması $17,31 \text{ ng/ml} \pm 13,07$ (6-64,50 ng/ml), ortalama çocuk sayısı $3,12 \pm 1,58$ (0-7) olarak saptanmıştır. Meme kanserli hastaların vücut kitle indeksi (BMI) ortalaması $27,11 \pm 3,73$ (19,20-37,10) olarak saptanmıştır. (Bkz: Tablo 2)

Sağlıklı kadınlarda serum HIF-1alfa, VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D, IGF-I, İnsülin değerlerinin kendi aralarında korelasyonlarına bakıldığında;

Sağlıklı kadınlarda serum HIF-1alfa değeri yüksek olan hastalarda serum IGF-I değerinin yüksek olduğu görülmüştür ($p=0.003$ $R=0,525$) (Tablo 1)

Sağlıklı kadınlarda serum HIF-1alfa ile serum İnsülin değerleri düşük seyretmektedir. ($p=0,017$, $R=-0.433$) (Tablo 1)

Sağlıklı kadınlarda serum VEGF-A değerleri yüksek olan hastalarda serum IGF-I değerleri düşmektedir. ($p= 0,052$, $R= -0,0358$) (Tablo 1)

Sağlıklı kadınlarda serum VEGF-C değerleri ile ve VEGF-D ile diğer serum parametreleri arasında istatistiksel anlamlı bir korelasyon bulunamamıştır (Tablo 1) Sağlıklı kadınlarda serum IGF-I değerleri yüksek olan hastalarda serum İnsülin değerleri düşmektedir. ($p= 0,00$ ve $R= -0,644$) (Tablo 1)

Tablo 1 Sağlıklı kadınlarda serum HIF-1alfa, VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D, IGF-I ve İnsülin korelasyonları

		HIF-alfa	VEGF-A	VEGF-C	VEGF-D	IGF-I	İNSÜLİN
HIF-alfa	R	1.000	-0.126	0.033	0.090	0.525	-0.433
	p	.	0.508	0.861	0.636	0.003	0.017
VEGF-A	R	-0.126	1.000	0.028	0.167	-0.358	0.209
	p	0.508	.	0.883	0.378	0.052	0.267
VEGF-C	R	0.033	0.028	1.000	-0.099	-0.087	0.243
	p	0.861	0.883	.	0.601	0.646	0.195
VEGF-D	R	0.090	0.167	-0.099	1,000	0.087	0.045
	p	0.636	0.378	0.601	.	0.646	0.813
IGF-I	R	0.525	-0.358	-0.087	0.087	1.000	-0.644
	p	0.003	0.052	0.646	0.646	.	0.000
İNSÜLİN	R	-0.433	0.209	0.243	0.045	-0.644	1.000
	p	0.017	0.267	0.195	0.813	0.000	.

Tablo 2 Hasta grubunun klinikopatolojik özellikleri

	Sayı	Yüzde %
YAŞ		
<50	18	32,1
>50	38	67,9
OBEZİTE		
YOK	45	80,4
VAR	11	19,6
CA 15-3		
NORMAL	43	76,8
YÜKSEK	3	5,4
VİT D		
NORMAL	6	10,7
DÜŞÜK	36	64,3
METASTATİK LENF NODU		
1-3	20	35,7
4-7	5	8,9
>7	4	7,1
GRADE		
GRADE 1	18	32,1
GRADE 2	25	44,6
GRADE 3	7	12,5
EVRE		
EVRE 1	7	12,5
EVRE 2	33	58,9
EVRE 3	14	25
EVRE 4	2	3,6
ER		
YOK	11	19,6
VAR	45	80,4
PR		
YOK	16	28,6
VAR	40	71,4
CERB-B2		
YOK	30	53,6
VAR	25	44,6
PATOLOJİ		
İNİLTRATİF DUKTAL KARSİNOM	46	82,1
MİKST	1	1,8
İNİLTRATİF LOBÜLER	5	8,9
MUSİNÖZ CA	4	7,1

Serum değerlerinin sonuçları değerlendirildiğinde, HIF-1alfa nın ortalama değeri kontrol grubunda 0,17 mIU/L, hasta grubunda ise 0,23 mIU/L olarak saptanmıştır. HIF-1 α , meme kanserli hastalarda sağlıklı kadınlara göre yüksek bulunmuştur ama istatistiksel olarak sınırdan anlamlılığı vardır. (p=0,067) (şekil 2) (Tablo 3)

Kontrol ve hasta gruplarının serum VEGF-A değerleri arasında ise anlamlı bir fark bulunamamıştır. (p=1) (Tablo 3)

Serum VEGF-C nin kontrol hastalarında 206,2 mIU/L, hasta grubunda ise 170,7 mIU/L olarak saptandığı, istatistiksel farkın anlamlı olmadığı görülmüştür (p=0,115). (Tablo 3)

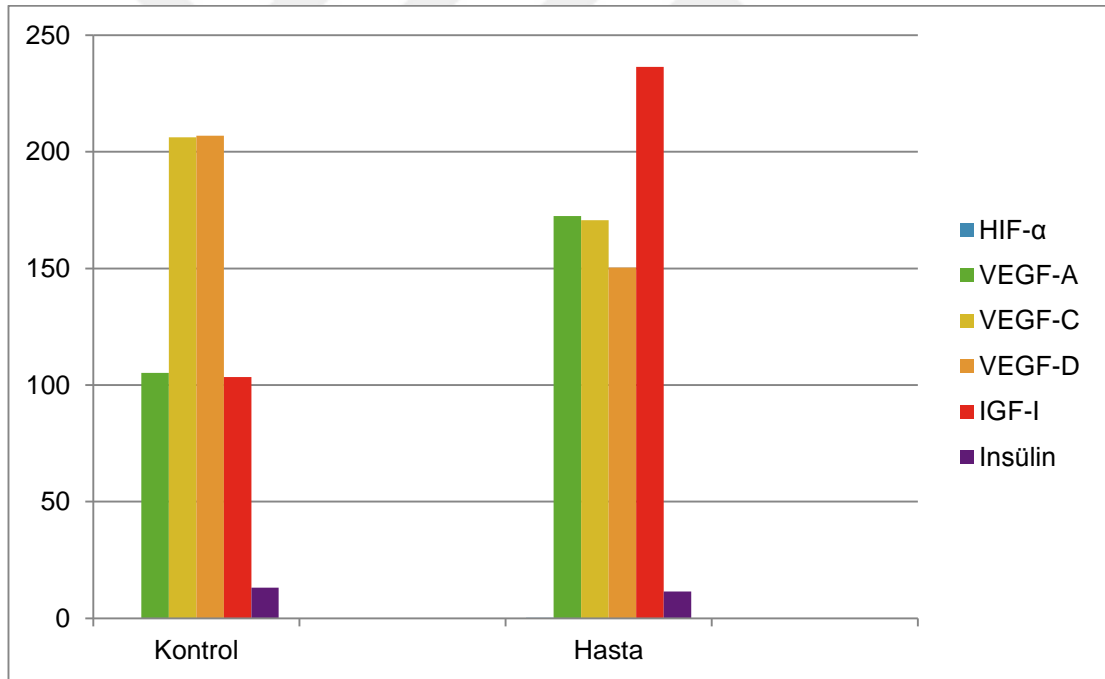
Serum VEGF-D kontrol grubunda 206,84 pg/mL, hasta grubunda ise 150,35 pg/mL olarak saptanmıştır. Meme kanserli hastalarda VEGF-D düzeyi sağlıklı kadınlara göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktür. (p=0,006) (şekil 4) IGF-I kontrol grubunda 103,41 mIU/L, hasta grubunda 236,35 mIU/L olarak saptanmıştır. (Tablo 3)

Meme kanserli hastalarda IGF-I düzeyi sağlıklı kadınlara göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktür. (p= 0,01) (şekil 5) (Tablo 3)

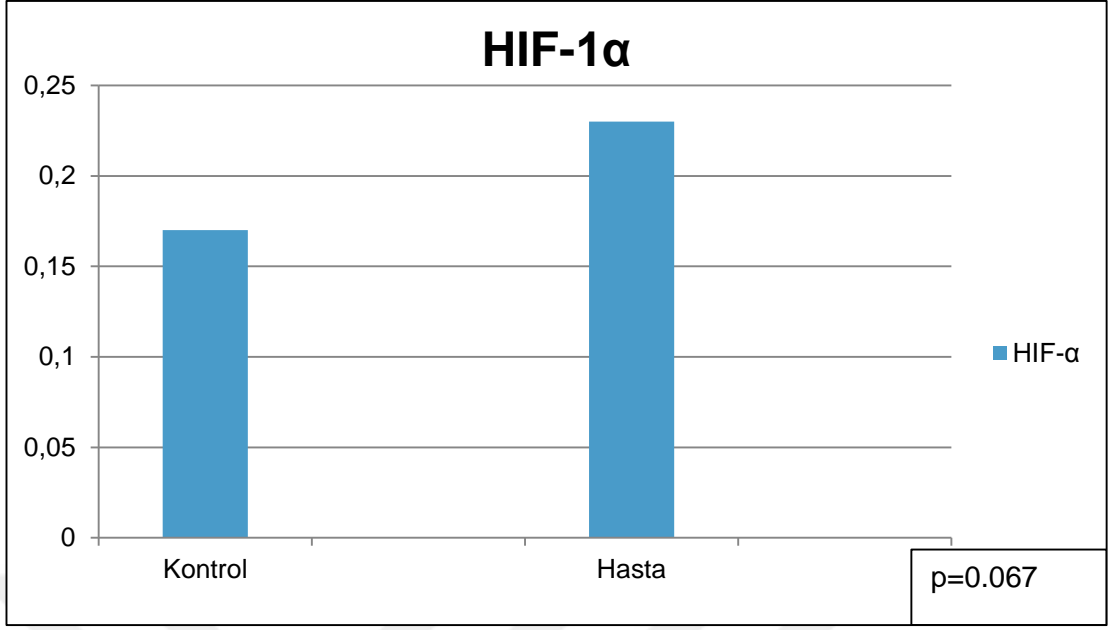
İnsülin ise kontrol grubunda 13,17 uU/mL, hasta grubunda 11,51 uU/mL olarak saptanmıştır. Meme kanserli hastalarda insulin düzeyi kontrol grubunda daha yüksek bulunmuştur ve bu fark anlamlı değildir. (p=0,517) (Tablo 3)

Tablo 3 Serum Değerlerinin Sağlıklı ve Hasta Gruplarında Ortalamaları ve Standart Sapma Değerleri

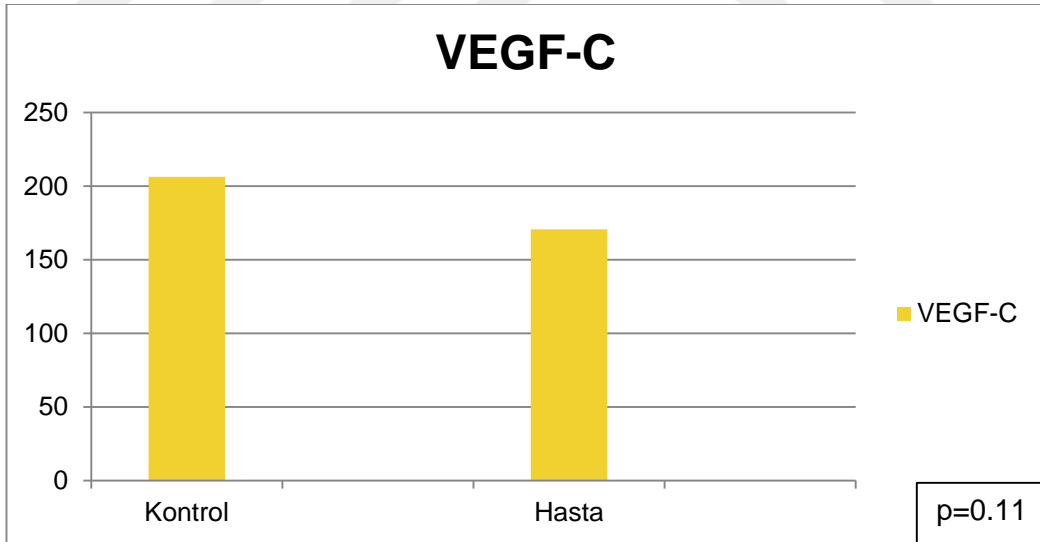
		Ortalama	Standart Sapma	p
HIF-α	kontrol	0.17	± 0.15	p= 0.067
	hasta	0.23	± 0.18	
VEGF-A	kontrol	105.20	± 176.26	p=1
	hasta	172.41	± 565.52	
VEGF-C	kontrol	206.20	± 84.96	p=0.115
	hasta	170.70	± 108.59	
VEGF-D	kontrol	206.84	± 79.56	p=0.006
	hasta	150.35	± 92.84	
IGF-I	kontrol	103.41	± 129.08	p=0.01
	hasta	236.35	± 326.72	
İNSÜLİN	kontrol	13.17	± 12.77	p=0.517
	hasta	11.51	± 14.89	



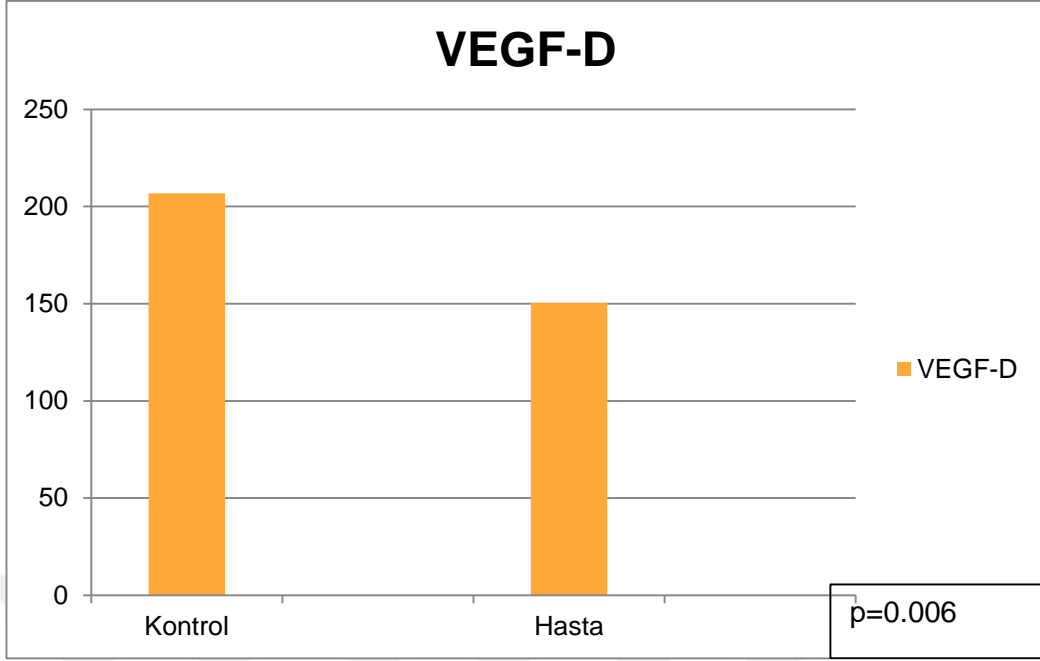
Şekil 1 Kontrol ve hasta grubunda HIF α VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D, IGF ve İnsülin değerlerinin bar grafik ile gösterimi



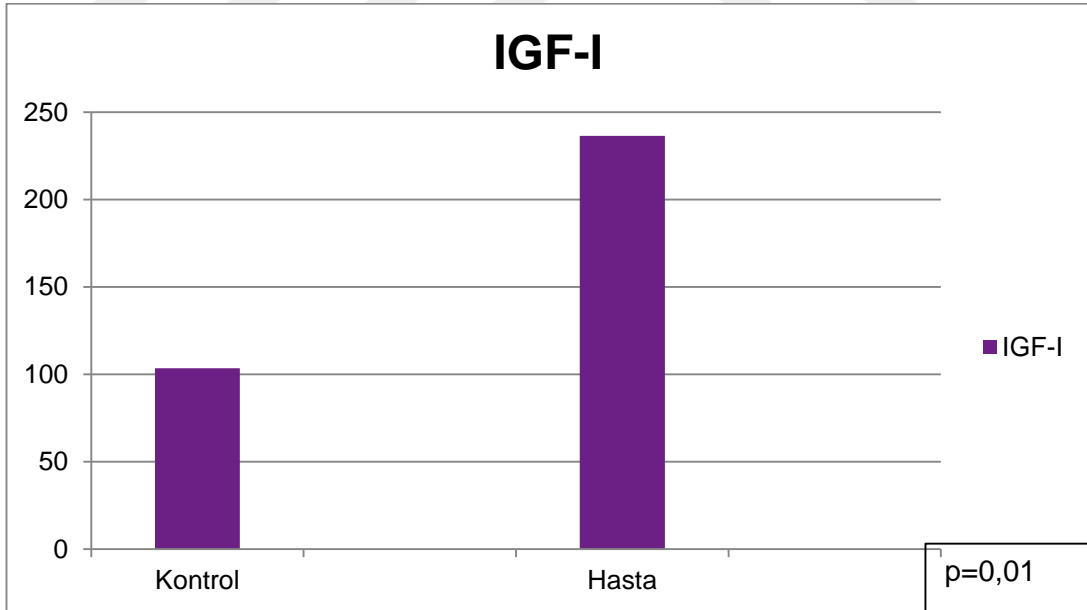
Şekil 2 Kontrol ve hasta grubunda HIF1- α karşılaştırması



Şekil 3 Kontrol ve hasta grubunda VEGF-C karşılaştırması



Şekil 4 Kontrol ve hasta grubunda VEGF-D karşılaştırması



Şekil 5 Kontrol ve hasta grubunda IGF-I karşılaştırması

Meme kanserli hastalarda serum HIF-1alfa, VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D, IGF-I ve insülin değerlerinin kendi aralarındaki korelasyonları değerlendirildiğinde;

Meme kanserli hastalarda serum HIF-1alfa arttıkça VEGF-C'nin de yükseldiği saptanmıştır (p=0.002, R=0,398). (Tablo 4)

Meme kanserli hastalarda serum HIF-1alfa arttıkça VEGF-D yükseldiği saptanmıştır (p=0.015, R=0,325). (Tablo 4)

Meme kanserli hastalarda serum HIF- α düzeyi ile serum VEGF-A düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki den bahsedilemez. (p= 0,478) (Tablo 3)

Meme kanserli hastalarda serum IGF-I düzeyi arttıkça serum İnsülin düzeyi düşmektedir (p= 0,030, R= -0,290). (Tablo 4)

Meme kanserli hastalarda serum VEGF-C değeri arttıkça serum VEGF-D değerinin de istatistiksel olarak anlamlı şekilde yükseldiği görülmüştür (p=0.001, R=0,417). (Tablo 4)

Meme kanserli hastalarda serum VEGF-D değeri arttıkça serum HIF-1 α 'nın da yükseldiği görülmüştür (p=0.015, R=0,325). (Tablo 4)

Meme kanserli hastalarda serum İnsülin düzeyi arttıkça IGF-I düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde düştüğü görülmüştür. (p=0,03, R=-0,290). (Tablo 4)

Ayrıca erken evre meme kanseri olgularını değerlendirdiğimizde meme kanserli hastalarda serum HIF-alfa değeri yükseldikçe IGF-I düzeyinin de yükseldiği görülmüştür (p=0,04, R=0,312). (Tablo 4)

Tablo 4 Meme Kanserli Hastalarda Serum Değerlerinin Kendi Aralarında Korelasyonları

		HIF α	VEGF-A	VEGF-C	VEGF-D	IGF-I	İNSÜLİN
HIF α	R	1,000	0,097	0,398	0,325	0,197	-0,004
	p	.	0,478	0,002	0,015	0,146	0,979
VEGF-A	R	0,097	1,000	0,089	0,265	0,146	-0,169
	p	0,478	.	0,515	0,049	0,283	0,213
VEGF-C	R	0,398	0,089	1,000	0,417	0,111	0,025
	p	0,002	0,515	.	0,001	0,416	0,855
VEGF-D	R	0,325	0,265	0,417	1,000	-0,066	-0,006
	p	0,015	0,049	0,001	.	0,631	0,968
IGF-I	R	0,197	0,146	0,111	-0,066	1,000	-,0290
	p	0,146	0,283	0,416	0,631	.	0,030
İNSÜLİN	R	-0,004	-0,169	0,025	-0,006	-0,290	1,000
	p	0,979	0,213	0,855	0,968	0,030	.

Meme kanserli hastaların klinikopatolojik parametrelerini serum HIF, VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D, IGF-I, İnsülin değerleri ile ilişkisini karşılaştırdığımızda (56 hastanın yaş, obezite, CA 15-3, D vitamini, metastatik lenf nodu, grade, evre, östrojen reseptörü, progesteron reseptörü ve cerb-B2 düzeyleri serum HIF- α , VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D, IGF-I ve İnsülin değerleri ile karşılaştırıldığında);

HIF- α obezite arasında ($p= 0,004$), obezite ile VEGF-A arasında ($p= 0,035$) ve obezite ile VEGF-C arasında ($p=0,002$) anlamlı bir pozitif korelasyon bulunduğu görülmüştür. Obezite ile VEGF-D arasında herhangi bir korelasyon bulunmamaktadır ($p=0,103$). Obezite ile IGF arasında anlamlı bir korelasyondan söz edilemez ($p=0,234$). Obezite ile insülin arasında da benzer bir durum söz konusudur. Ancak; erken evre meme kanserli hastalar dahil edilip değerlendirildiğinde IGF ile obezite arasında anlamlı pozitif bir korelasyondan söz edilebilmektedir. ($p=0,029$, $R=-0,329$) Erken evre hastaların 6'sında obezite mevcut olup bu hastalarda IGF-I değerleri istatistiksel anlamlı olarak düşüktür, obezite olanlarda ortalama IGF değerleri $50,21 \pm 48,66$, olmayanlarda ise $204,36 \pm 256,8$ bulunmuştur. Aynı şekilde erken evre meme

kanserleri ile yapılan istatistikte cerb-B2 ile IGF-I arasındaki $p=0.016$, VEGF-D ile östrojen reseptörü arasında $p=0,065$ olmakta ve pozitif bir korelasyondan söz edilebilmektedir. Grade 3 tümörü bulunan hastaların serum VEGF-C değeri arasında $p=0.048$ bulunduğundan anlamlı bir doğru orantıdan söz edilebilir. (spssçiktısından obezite-igf gibi yaz)-düşük yüksek vs.. (Tablo 5)

Tablo 5 Klinikopatolojik Parametreler ile Serum HIF-1 α , VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D, IGF-I ve İnsülin Değerlerinin Karşılaştırılması

		HIF- α	VEGF-A	VEGF-C	VEGF-D	IGF	İNSÜLİN
YAŞ							
	<50	0.25 \pm 0.27	120.87 \pm 141.04	162.91 \pm 141.04	116.32 \pm 69.95	349.07 \pm 438.09	7.67 \pm 7.74
	>50	0.23 \pm 0.13	196.82 \pm 681.43	174.38 \pm 107.92	166.47 \pm 98.67	182.95 \pm 247.76	13.33 \pm 17.08
	p	p=0.388	p=0.159	p=0.346	p=0.460	p=0.693	p=0.424
OBEZİTE							
	YOK	0,26 \pm 0.19	205.04 \pm 627.47	192.24 \pm 102.71	159.99 \pm 88.41	267.53 \pm 345.39	10.83 \pm 11.89
	VAR	0,12 \pm 0.10	38.95 \pm 47.08	82.58 \pm 88.34	110.90 \pm 104.24	108.80 \pm 199.87	14.30 \pm 24.22
	p	p=0.004	p=0.035	p=0.002	p=0.103	p=0.234	p=0.688
CA 15-3							
	NORMAL	0.21 \pm 0.13	194.91 \pm 643.21	166.59 \pm 112.92	148.22 \pm 93.15	244.36 \pm 348.69	11.11 \pm 15.75
	YÜKSEK	0.24 \pm 0.04	172.6 \pm 192.75	198.00 \pm 87.27	140.96 \pm 143.57	112.06 \pm 63.28	21.8 \pm 14.16
	p	p=0.4	p=0.840	p=0.603	p=0.312	p=0.532	p=0.51
VİT D							
	NORMAL	0.24 \pm 0.12	80.68 \pm 113.53	217.33 \pm 130.44	143.81 \pm 97.55	250.96 \pm 269.94	9,30 \pm 7.61
	DÜŞÜK	0,22 \pm 0.12	220,98 \pm 699.70	167.54 \pm 101.41	153.08 \pm 96.02	191.52 \pm 238.19	13.40 \pm 17.25
	p	p=0.321	p=0.403	p=0.316	p=0.837	p=0.524	p=0.262
METASTATİK LENF NODU							
	YOK	0.23 \pm 0.23	96.97 \pm 126.14	155,40 \pm 92.29	141.25 \pm 94.03	216.16 \pm 276.85	10.52 \pm 9.47
	VAR	0.23 \pm 0.13	242.65 \pm 776.42	184.94 \pm 121.73	158.82 \pm 92.57	255.14 \pm 371.14	12.43 \pm 18.72
	p	p=0.227	p=0.457	p=0.432	p=0.629	p=0.700	p= 0.865
GRADE							

GRADE 1	0.20 ±0.25	119.23 ±73.47	146.97 ±93.57	132.86 ±86.22	195.02 ±447.07	8.93 ±13.52
GRADE 2	0.19 ±0.14	658.71 ±138.38	156.57 ±107.96	176.27 ±83.75	251.77 ±259.24	16.82 ±8.48
GRADE 3	0.24 ±0.08	174.50 ±1576.60	171.88 ±134.29	156.77 ±126.57	243.80 ±238.47	10.99 ±30.20
p	p=0.204	p=0.520	p=0.048	p=0.152	p=0.596	p=0.722
EVRE						
EVRE 1	0.23 ±0.16	61.47 ±65.13	172.14 ±106.72	177.61 ±74.13	110.8 ±124.28	7.27 ±5.31
EVRE 2	0.24 ±0.22	94.29 ±104.83	162.96 ±103.27	151.33 ±88.26	199.56 ±264.19	13.98 ±1.62
EVRE 3	0.24 ±0.13	410.36 ±1070.71	204.50 ±116.98	150.9 ±109.45	365.00 ±469.21	9.51 ±11.45
EVRE 4	0.15 ±0.00	26.1 ±0,00	35.9 ±50.77	35,15 ±11,80868	299,5 ±350,01	1.9 ±1.55
Toplam	0,23	172.41	170.7	150.35	236.35	11.51
p	p=0.884	p=0.444	p=0.300	p=0.173	p=0.741	p=0.40
ER						
YOK	0.24 ±0.08	194.23 ±135.34	169.19 ±82.79	146.35 ±111.99	240.07 ±236.17	11.21 ±24.14
VAR	0.23 ±0.20	172.41 ±626.99	170.7 ±114.76	150.35 ±88.55	236.35 ±347.39	11.51 ±12.01
p	p= 0.482	p=0.472	p=0.942	p= 0.931	p=0.247	p=0.216
PR						
YOK	0.25 ±0.09	204.87 ±139.04	172.81 ±93.79	145.18 ±105.06	246.02 ±211.01	11.14 ±19.96
VAR	0.23 ±0.21	172.41 ±663.17	170.7 ±115.02	150.35 ±88.40	236,352 ±364.80	11.51 ±12.61
p	p=0.645	p=0.390	p=0.799	p=0.541	p=0.657	p=0.617
CERBB2						
YOK	0.19 ±0.23	132.43 ±763.63	166.40 ±111.18	150.73 ±91.38	204.93 ±409.17	8.54 ±18.84
VAR	0.23 ±0.10	168.15 ±153.32	171.20 ±109.58	149.68 ±98.01	239.28 ±197.40	11.65 ±7.64
p	p=0.947	p=0.101	p=0.729	p=0.800	p=0.231	p=0.224

Hastaların pre-operatif serum değerlerinin klinikopatolojik parametrelerle olan korelasyonu değerlendirecek olursak;

Meme kanserli hastalarda HIF-1alfa yüksek olan hastalarda kilonun da yüksek olduğu görülmektedir. (p=0,051, R=-0,253). (Tablo 6)

VEGF-A değerinin yüksek olduğu hastalarda istatistiksel olarak anlamlı Şekilde obezitenin de arttığı saptanmıştır ($p=0,035$). Ancak VEGF-A yüksek olan hastalarda BMI nin istatistiksel olarak anlamlı artmadığı görülmektedir ($p= 0,211$) (Tablo 6).

VEGF-C yüksek olan hastalarda istatistiksel olarak anlamlı Şekilde obezitenin de arttığı saptanmıştır. ($p=0,002$) (Tablo 4) VEGF-C yüksek olan hastalarda kilonun ve BMI nin yüksek olduğu görülmektedir. ($p=0,010$, $R=-0,330$) ($p=0,004$, $R=-0,366$) (Tablo 5) Fakat VEGF-C pozitifliği, eşik değerinin altındayken gerçekleŐtięinden VEGF-C pozitifliği ile kilo ve BMI arasında pozitif korelasyon vardır. Ancak ROC eğrisi istatistiği HIF-1alfa, VEGF-A ve VEGF-C için anlamlı olmadığından dolayı ($p=0,08$), ($p=1$), ($p=0,09$) bu parametrelerin eşik değer belirleme sonrası klinikopatolojik parametrelerle ilişkisini değerlendirmek anlamlı olmayacaktır. (Şekil 6,7,8,9,10,11)

IGF-I yüksek olan hastalarda obezitede artış görülmezken ($p= 0,234$) (Tablo 4), eşik değeri baz alınarak yapılan grafikte IGF-I yüksek olan hastalarda BMI azalmaktadır. ($p=0,003$, $R=-0,372$) (Tablo 6)

İnsülin değeri yüksek bulunan hastalarda obezitede istatistiksel artış gözlenmemiŐtir ($p= 0,688$) (Tablo 5) ve insülini yüksek olan hastalarda istatistiksel anlamlı bir Şekilde BMI nin artışı görülmediği saptanmıştır. ($p= 0,188$) (Tablo 6)

Klinikopatolojik parametrelerle sayısal değerlerin serum değerleriyle korelasyonu değerlendirildiğinde;

Meme kanseri hastalarında artan yaşla beraber istatistiksel olarak anlamlı Şekilde VEGF- D'nin de yükseldiği saptanmıştır. ($p=0,019$, $R=0,303$) (Tablo 6)

Meme kanseri hastalarında artan yaşla beraber istatistiksel olarak anlamlı Şekilde vücut ağırlığının da yükseldiği saptanmıştır. ($p=0,007$, $R=0,346$) (Tablo 6)

Meme kanseri hastalarında artan yaşla beraber istatistiksel olarak anlamlı şekilde BMI nin de yükseldiği saptanmıştır. ($p=0,008$, $R=0,337$) (Tablo 6)

Meme kanseri hastalarında yaş arttıkça D vitamin düzeyinin azaldığı görülmüştür ($p= 0,057$, $R= -0,031$) (Tablo 6)

Meme kanseri hastalarında boy uzunluğu arttıkça serum IGF-I düzeyinin düşük seyrettiği olduğu görülmüştür. ($p= 0,058$, $R= -0,247$) (Tablo 6)

Meme kanseri hastalarında serum IGF-I düzeyi yüksek olan hastalarda vücut ağırlığının istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük olduğu görülmüştür ($p=0,000$, $R= -0,467$) (Tablo 6)

Meme kanseri hastalarında serum IGF-I düzeyi yüksek olan hastalarda BMI 'nin daha düşük olduğu saptanmıştır ($p= 0,003$, $R= -0,378$) (Tablo 6)

Meme kanseri hastalarında serum VEGF-A pozitifliği ile D vitamini arasında anlamlı istatistiksel ilişki gözlenmezken ($p= 0,403$) (Tablo 4), serum VEGF-A düzeyi yüksek olan hastalarda D vitamin düzeyinin de yüksek olduğu görülmüştür ($p= 0,022$, $R= 0,371$) (Tablo 6)

Meme kanseri hastalarında serum IGF-I pozitifliği ile D vitamini arasında anlamlı istatistiksel ilişki gözlenmezken ($p= 0,524$) (Tablo 5), serum IGF-I düzeyi yüksek olan hastalarda D vitamin düzeyinin de yüksek olduğu görülmüştür ($p=0,059$, $R= 0,310$) (Tablo 6)

Meme kanseri hastalarında serum Ki-67 düzeyi arttıkça D vitamin düzeyinin azaldığı saptanmıştır ($p= 0,030$, $R= -0,682$) (Tablo 6)

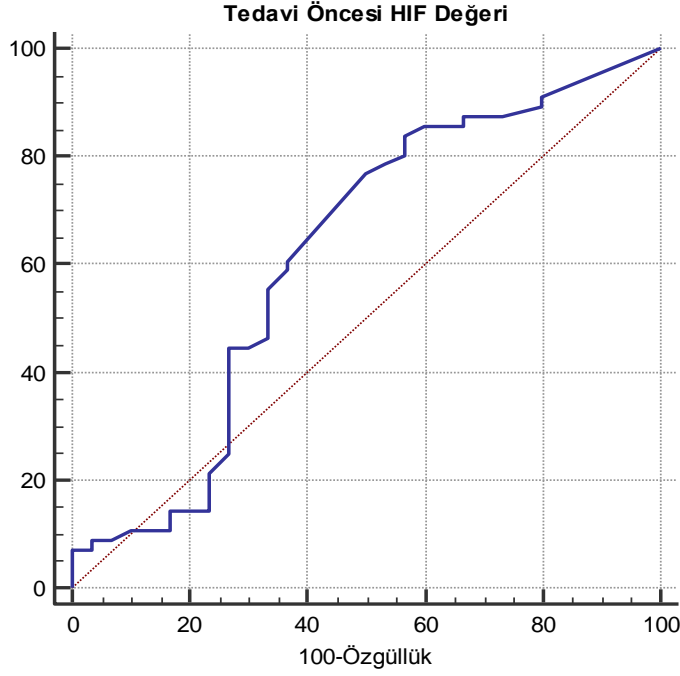
Meme kanseri hastalarında boy uzunluğu arttıkça serum Ki-67 düzeyinin azaldığı saptanmıştır ($p= 0,019$, $R= -0,598$) (Tablo 6)

Diğer parametrelerin aralarında istatistiksel olarak anlamlı pozitif ya da negatif korelasyon bulunamamıştır (Tablo 6).

Tablo 6 Meme kanserli hastalarda serum parametreleri ile klinikopatolojik parameter karşılaştırması

		HIF- α	VEGF-A	VEGF-C	VEGF-D	IGF-I	İnsülin	Yaş	Boy	Kilo	BMI	D yıl	Met LN	Neo boyut	Ki67
HIF- α	R	1,000	0,089	0,370	0,311	0,178	0,005	0,072	-0,014	-0,253	-0,207	-0,086	0,198	0,222	-0,038
	p		0,497	0,004	0,015	0,174	0,971	0,584	0,918	0,051	0,113	0,607	0,197	0,090	0,893
VEGF-A	R	0,089	1,000	0,079	0,272	0,123	-0,207	-0,069	-0,111	-0,199	-0,164	0,056	0,056	0,104	0,089
	p	0,497		0,546	0,035	0,347	0,112	0,295	0,397	0,127	0,211	0,135	0,099	0,104	0,090
VEGF-C	R	0,370	0,079	1,000	0,405	0,149	0,012	0,303	0,137	-0,366	-0,182	0,088	0,180	0,217	0,009
	p	0,004	0,546		0,001	0,255	0,925	0,702	0,577	0,010	0,163	0,008	0,380	0,099	0,969
VEGF-D	R	0,311	0,272	0,405	1,000	-0,081	-0,050	0,303	0,002	-0,372	-0,182	0,093	0,145	0,152	0,009
	p	0,015	0,035	0,001		0,540	0,925	0,702	0,007	0,000	0,163	0,000	0,352	0,251	0,931
IGF-I	R	0,178	0,123	0,149	-0,081	1,000	-0,050	-0,215	0,073	-0,467	0,003	0,180	0,088	0,093	0,093
	p	0,174	0,347	0,255	0,540		0,925	0,390	0,577	0,007	0,188	0,665	0,572	0,241	0,483
İnsülin	R	0,005	-0,207	0,012	-0,050	1,000	1,000	0,113	0,073	0,160	0,172	-0,073	-0,136	-0,082	-0,034
	p	0,971	0,112	0,925	0,702	0,042		0,390	0,577	0,223	0,188	0,665	0,380	0,537	0,904
Yaş	R	0,072	-0,069	-0,013	0,303	-0,215	1,000	0,050	1,000	0,346	0,337	-0,311	0,028	-0,053	-0,121
	p	0,584	0,601	0,921	0,019	0,099		0,706	0,007	0,007	0,008	0,057	0,858	0,688	0,667
Boy	R	-0,014	-0,111	0,137	0,002	0,073	0,050	1,000	0,275	-0,027	-0,075	-0,199	-0,226	-0,226	-0,598
	p	0,918	0,397	0,295	0,987	0,577	0,706	0,008	0,033	0,840	0,840	0,656	0,195	0,085	0,019
Kilo	R	-0,253	-0,199	-0,330	-0,165	1,000	0,160	0,346	1,000	0,940	0,940	-0,241	-0,222	-0,169	0,290
	p	0,051	0,127	0,010	0,209		0,223	0,007	0,033		0,000	0,145	0,148	0,201	0,295
BMI	R	-0,207	-0,164	-0,366	-0,182	1,000	0,172	0,337	-0,027	1,000	1,000	-0,261	-0,149	-0,098	0,355
	p	0,113	0,211	0,004	0,163		0,188	0,008	0,840	0,000		0,113	0,335	0,458	0,194
D yıl	R	0,198	0,056	0,135	0,088	0,180	-0,136	0,028	-0,199	-0,222	-0,149	1,000	0,145	0,145	-0,037
	p	0,197	0,720	0,381	0,572	0,241	0,380	0,858	0,195	0,148	0,335	0,352	0,352	0,352	0,931
Met LN	R	0,222	0,104	0,217	0,152	0,093	-0,082	-0,053	-0,226	-0,169	-0,098	1,000	0,214	0,276	0,276
	p	0,090	0,432	0,099	0,251	0,483	0,537	0,688	0,085	0,201	0,458	0,850	0,352	0,352	0,319
Neo boyut	R	0,009	-0,186	0,011	-0,017	0,079	-0,272	0,158	-0,043	0,078	0,025	-0,193	0,079	1,000	0,500
	p	0,969	0,419	0,964	0,943	0,734	0,234	0,495	0,854	0,736	0,913	0,527	0,771	0,391	0,391
Ki67	R	-0,038	-0,143	-0,495	-0,307	-0,221	-0,034	-0,121	-0,598	0,290	0,355	-0,681	-0,037	0,276	1,000
	p	0,893	0,611	0,061	0,266	0,429	0,904	0,667	0,019	0,295	0,194	0,030	0,931	0,319	

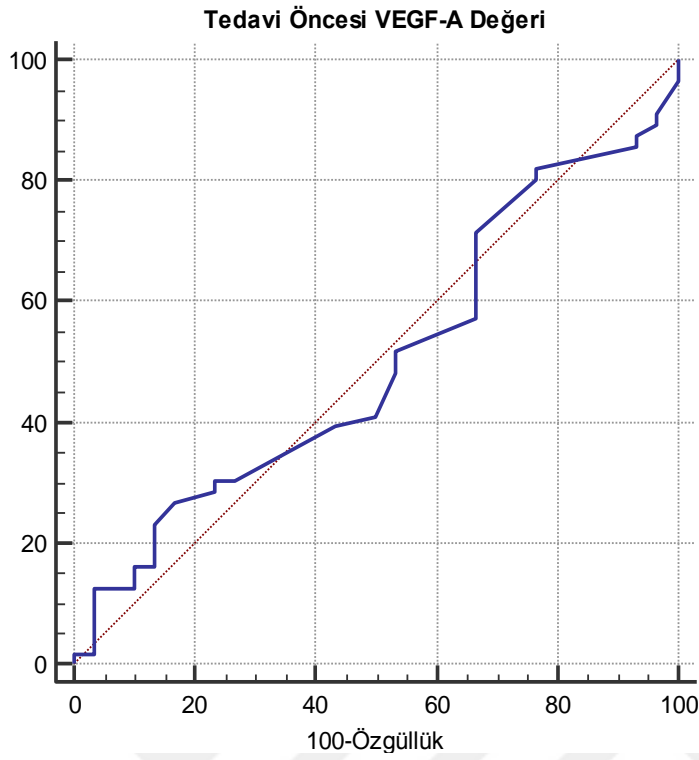
ROC (Receiver Operating Characteristic) Eğrisi ile parametrelerin eşik değerinin hesaplanması



Eğri altında kalan alan	0,620
p	0,0807
Eşik değer	> 0,11 mIU/L
Duyarlılık	% 83,93
Özgüllük	% 20,00

Şekil 6 HIF-1α Eşik Değer Hesaplanması

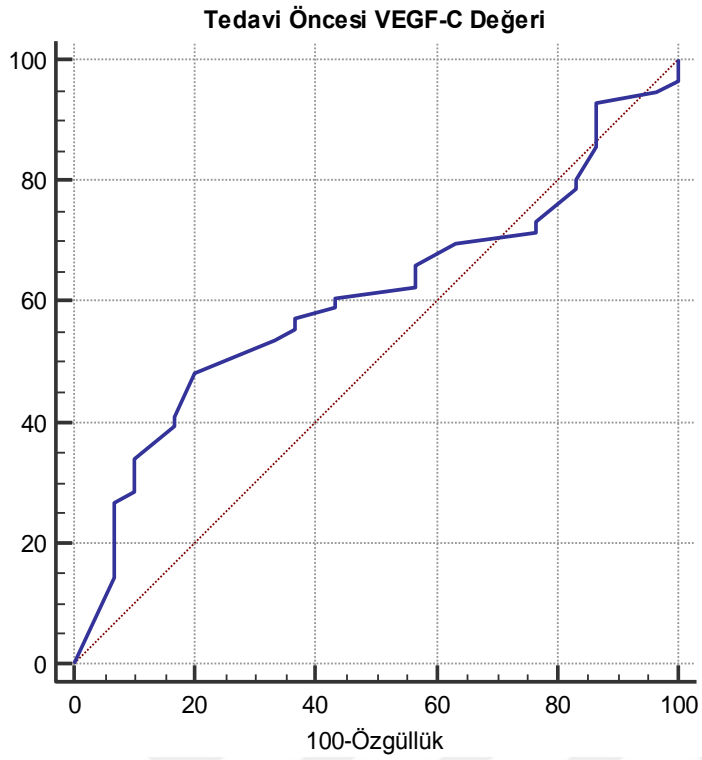
HIF-1alfa için eşik (cut-off) değeri > 0,11 mIU/L dir. 0,11 mIU/L'den büyük değerler pozitif olarak değerlendirildi. Bu değer duyarlılığı % 83,93, özgüllüğü % 20 , p= 0.08 idi.



Eğri altında kalan alan	0,500
p	1,00
Eşik değer	>128 mIU/L
Duyarlılık	% 26,79
Özgüllük	% 83,3

Şekil 7 VEGF-A Eşik Değer Hesaplanması

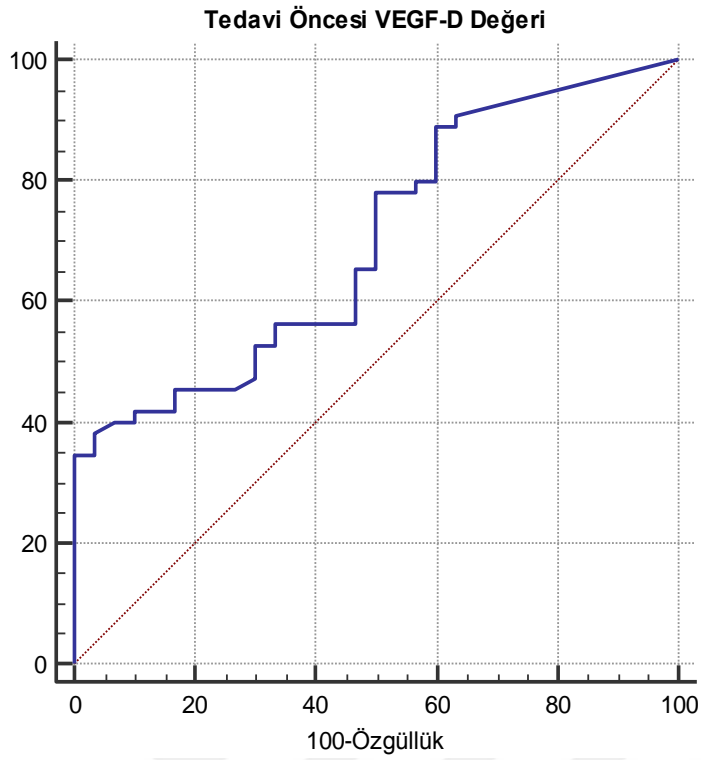
VEGF-A için eşik (cut-off) değeri > 128 mIU/L dir. 128 mIU/L'den büyük değerler pozitif olarak değerlendirildi. Bu değerin duyarlılığı % 26,79, özgüllüğü % 83,3 , p= 1,00 idi.



Eğri altında kalan alan	0,603
p	0,0946
Eşik değer	≤ 143 mIU/L
Duyarlılık	% 48,21
Özgüllük	% 80

Şekil 8 VEGF-C Eşik Değer Hesaplanması

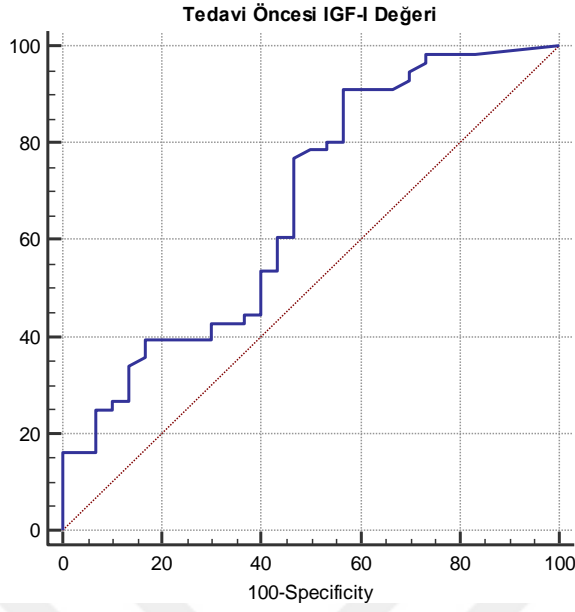
VEGF-C için eşik (cut-off) değeri ≤ 143 mIU/L'dir. 143 mIU/L'den küçük değerler pozitif olarak değerlendirildi. Bu değerin duyarlılığı % 48,21, özgüllüğü % 80 , p= 0.09 idi.



Eğri altında kalan alan	0,700
p	0,0005
Eşik değeri	≤ 103 pg/mL
Duyarlılık	% 38,18
Özgüllük	% 96,67

Şekil 9 VEGF-D Eşik Değeri Hesaplanması

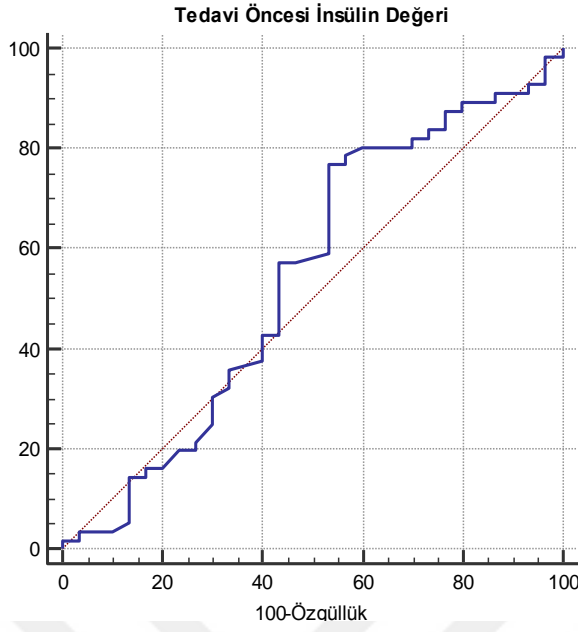
VEGF-D için eşik (cut-off) değeri ≤ 103 pg/mL'dir. 103 pg/mL'den küçük değerler pozitif olarak değerlendirildi. Bu değerın duyarlılığı % 38,18, özgüllüğü % 96,67 , p= 0,0005 idi.



Eğri altında kalan alan	0,669
p	0,0078
Eşik değeri	>23,2 mIU/L
Duyarlılık	% 91,07
Özgüllük	% 43,3

Şekil 10 IGF-I Eşik Değeri Hesaplanması

IGF-I için eşik (cut-off) değeri > 23,2 mIU/L'dir. 23,2 mIU/L'den büyük değerler pozitif olarak değerlendirildi. Bu değerın duyarlılığı % 91,07, özgüllüğü % 43,3 , p= 0.0078 idi.



Eğri altında kalan alan	0,543
p	0,542
Eşik değeri	$\leq 10,1$ uU/L
Duyarlılık	% 76,79
Özgüllük	% 46,67

Şekil 11 İnsülin Eşik Değeri Hesaplanması

İnsülin için eşik (cut-off) değeri $\leq 10,1$ uU/L'dir. $\leq 10,1$ uU/L'den küçük değerler pozitif olarak değerlendirildi. Bu değerın duyarlılığı % 76,79, özgüllüğü % 46,67, $p=0.542$ idi.

Hastaların klinikopatolojik parametreleri ile eşik değerlerine göre kategorize edilmiş serum HIF-alfa, VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D, IGF-I ve İnsülin değerlerine bakıldığında;

Obez olanların 6'sında (%54) HIF-alfa değeri yüksektir. Obez olmayan hastaların 15'inde (% 9) HIF-alfa yüksekliği vardır. İstatiksel olarak da anlamlı şekilde obez olan hastalarda HIF-1alfa pozitifliği daha fazladır ($p=0,003$) (Tablo 7)

Obez olanların 1'inde VEGF-A yüksek (%9.1) olarak saptanmıştır. Obez olmayanların 14'ünde (% 31.1) VEGF-A yüksektir. Obezite ile VEGF-A pozitifliği anlamlı değildir (p=0,134) (Tablo 7)

Obez olanların 9'unda (% 81.8) VEGF-C değeri yüksektir. Obez olmayanların 39'unda (% 61,2) VEGF-C değeri yüksek bulunmuştur. İstatiksel olarak da anlamlı şekilde obez olan hastalarda VEGF-C yüksekliği daha fazladır (p=0,009). Ancak VEGF-C'nin eşik değerinden düşük olması pozitiflik anlamına geldiğinden obez hastalarda VEGF-C daha yüksek saptansa da obezite ile VEGF arasında istatistiksel anlamlı ters korelasyon vardır. (Tablo 7)

Obezite ile VEGF-D arasındaki ilişkiyi değerlendirecek olursak; Obez olan 7 hastada (% 63.6) VEGF-D değeri düşüktür. Obez olmayan 14 hastada (% 31.1) VEGF-D düşüktür. VEGF-D'nin eşik değerinden düşük olması pozitiflik anlamına geldiğinden istatistiksel olarak da anlamlı şekilde obez olan hastalarda VEGF-D pozitifliği daha fazladır (p= 0,046) (Tablo 7)

Obezite ile IGF ve insülin arasında herhangi bir anlamlı korelasyon bulunamamıştır. (Tablo 7)

Obez hastalarda HIF-alfa, VEGF-C ve VEGF-D değerlerinde, eşik değerlerine göre istatistik yapıldığında anlamlı bir negatif korelasyon vardır sonucu çıkarılmaktadır. Ayrıca patolojik değerlendirmede grade 3 olan hastaların istatistiksel anlamlı şekilde serum VEGF-C değerleri de yüksektir (p=0,048, R=0,411). Diğer parametreler arasında pozitif ya da negatif yönde herhangi bir anlamlı korelasyon bulunamamıştır. Ayrıca ROC eğrisi istatistiği HIF-1alfa, VEGF-A ve VEGF-C için anlamlı olmadığından dolayı (p=0,08), (p=1), (p=0,09) bu parametrelerin eşik değer belirleme sonrası klinikopatolojik parametrelerle ilişkisini değerlendirmek de anlamlı olmayacaktır. (Şekil 6,7,8,9,10,11) (Tablo 7)

Tablo 7 ROC eğrisine göre belirlenen eşik değerleri eşliğinde serum parametrelerinin klinikopatolojik parametrelerle karşılaştırılması

	HIF(>0,11)	VEGF-A(>128)	VEGF-C(≤143)	VEGF-D(≤103)	IGF(>23,2)	İNSÜLİN(≤10,1)
YAŞ	No %	No %	No %	No %	No %	No %
<50	14 77.8	1166.1	10 55.6	8 44.4	16 88.9	15 83.3
>50	33 86.8	8 21.1	16 42.1	13 34.2	35 92.1	10 26.3
p	p=0.388	p=0.159	p=0.346	p=0.460	p=0.693	p=0.424
OBEZİTE						
YOK	41 91	14 31.1	17 38.8	14 31.1	42 93.3	35 77.8
VAR	6 54.5	1 9.1	9 81.8	7 63.6	9 81.8	8 72.7
p	0.003	0.134	0.009	0.046	0.230	0.722
CA 15-3						
NORMAL	36 83.7	12 27.9	22 51.1	27 62.8	38 92.7	8 18.6
YÜKSEK	3 100	1 33.3	2 66.7	1 33.3	3 100	2 66.7
p	p=0.448	p=0.840	p=0.603	p=0.312	p=0.532	p=0.51
VİT D						
NORMAL	6 100	4 66.7	5 83,3	3 50	5 83.3	5 83.3
DÜŞÜK	31 86,1	10 27.8	18 50	22 61.1	34 94.4	9 25
p	p=0.321	p=0.403	p=0.316	p=0.837	p=0.524	p=0.262
METASTA-TİK LENF NODU						
YOK	21 77.8	21 77.8	13 48.1	10 55.6	16 88.9	3 16.7
VAR	26 89.7	9 31	17 58.6	25 65.8	35 92.1	10 26.3
p	p=0.227	p=0.457	p=0.432	p=0.629	p=0.700	p= 0.865
EVRE						
EVRE 1	6 85.7	6 85.7	3 42,9	6 85,7	7 100	6 85,7
EVRE 2	26 81.3	24 75	17 53,1	20 62,5	29 90.6	10 31,1
EVRE 3	13 86.7	6 40	10 66,7	9 60	13 86.7	13 86,7
EVRE 4	2 100	2 100	2 100	2 100	2 100	2 100
p	p=0.884	p=0.444	p=0.300	p=0.173	p=0.741	p=0.408
GRADE						
GRADE 1	17 94.4	15 83,3	14 77,8	15 83.3	17 94,4	13 72,2
GRADE 2	20 80	8 32	10 40	14 56	24 96	5 20
GRADE 3	7 100	2 28,6	4 57,1	4 57.1	6 85.7	1 13
p	p=0.204	p=0.520	p=0.048	p=0.152	p=0.596	p=0.722
ER						
YOK	10 90.9	2 18.2	6 54,5	7 63.6	11 100	1 9.1
VAR	37 82.2	13 28.9	24 53,3	28 62.2	40 88,9	12 26,7)
p	p= 0.482	p=0.472	p=0.942	p= 0.931	p=0.247	p=0.216
PR						

YOK	14 87.5	3 18.8	9 56.3	11 68.8	15 93,8.	3 18.8
VAR	33 82.5	12 30	21 52.5	24 60.	36 90	10 25
p	p=0.645	p=0.390	p=0.799	p=0.541	p=0.657	p=0.617
CERBB2						
YOK	25 83,3	5 16.7	17 56.7	19 63.3	26 87.7	21 70
VAR	21 84	9 36	13 52	15 60	24 96	4 16
p	p=0.947	p=0.101	p=0.729	p=0.800	p=0.231	p=0.224



7. TARTIŞMA

Çoğu solid tümörler, tümör büyüme hızının tümör ve peritümöral dokunun vasküler kapasitesini aşması nedeniyle hipoksiye girer ve genellikle tümörün santralinden başlayan nekroz alanları içerirler (61). Hipoksiye adaptasyon olarak gelişen en önemli mekanizmalardan biri HIF-1 (Hipoksi ile indüklenebilen faktör-1) transkripsiyonudur (62,63). HIF-1 transkripsiyon faktörü, hipoksiye adaptasyon cevabının gelişiminde anahtar rol oynayan düzenleyici bir proteindir (64). HIF in çeşitli subüniteleri bulunmaktadır. Bunlardan başlıcaları HIF-1 α ve HIF-1 β dir. Etkileri daha çok çalışılmış ve daha iyi bilinen HIF-1 α protein, hücrede O₂ düzeyi %1 olunca ortaya çıkar ve O₂ düzeyi %20'ye çıkınca ubiquitin/proteozomal yolağı ile kaybolur. Normoksik koşullarda inaktif bulunan HIF1 α ve HIF1 β heterodimerleri birleşerek upregülasyon oluşturduktan sonra, hipoksi hedef genlerinde HRE (hipoksi response element) ile kompleks oluşturur. Bu kompleksin oluşması hipoksideki hücrelerde birçok geni aktive edebilir. HIF-1 α proteini çok sayıda genin transkripsiyonunun düzenlenmesi, hücrelerin dediferansiyasyonu, neovaskülarizasyonu, otokrin büyüme faktörü üretimi, proliferasyonu, invazyonu ve metastazı, metabolik yeniden programlanması, tümör büyümesinden sorumludur (65,66). HIF-1 α aracılı yollar aktive olması ile hücrenin hipoksiye metabolik adaptasyonu, eritropoezisi, anjiyogenezi, vasküler tonusu, hücre büyümesi ve farklılaşması sağlanır, bu da hücrenin sağkalımını ve apoptozunu etkiler (67).

HIF aktivasyonu ile uyarılan yollar anjiyogenezi ve proliferasyonu stimule eden VEGF ve IGF gibi hedef genleri aktive eder. VEGF, VEGF reseptör FLT-1, adrenomedüllin, endotelin-1, NO sentaz-2, plazminojen aktivatör inhibitör-1 gibi anjiyogenez ve vasküler fizyoloji mediatörleri, eritropoetin, seruloplazmin, transferrin, transferrin reseptör mRNA gibi eritropoezis düzenleyicileri, BNIP3 ve CXCR4 gibi hücre proliferasyon ve apoptozis mediatörleri, GLUT 1-3 gibi glukoz transport molekülleri veya glikolitik enzimler ve MSH2 ve MSH6 gibi DNA tamir proteinlerini kodlayan genler bahsedilen hedef genler arasındadır. Artmış HIF-1 α , fosfatidilinozitol 3-kinaz/Akt (PI3K/Akt) sinyal yolağı ile büyüme faktörü reseptörlerinin (EGFR,HER2) amplifikasyonunu, aşırı sentezi oluşturur (68). Bu yolak,

tümör hücrelerinin proliferasyonu ve sağkalımı, migrasyon ve invazyon, tümör büyümesi ve anjiyogenez gibi karsinogenezde çok önemli yeri olan süreçlerin idamesinde rol oynayan moleküllerin aktivitelerini düzenler (68-69). PI3K/Akt yolağının aktivasyonu sonucunda mammarian target of rapamycin (mTOR) proteini HIF-1 alfa'nın sentezini artmaktadır. Bu yolağın negatif düzenleyicisi olan phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome 10 (PTEN) tümör baskılayıcı geninin mutasyonu, PI3K/Akt aracılı sinyal iletiminin denetimsiz bir aktivasyonuna bu da, HIF-1 transkripsiyon faktörünün aktivasyonu ile vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve diğer hedef genlerin ekspresyonunun artması ve anjiyogenezin hızlanması söz konusudur (70,71,72). Bütün bu yolakların aktivasyonu kanserli bir hücrenin yaşamını, metabolizmasını, anjiyogenezini, invazyon yeteneğini ayrıca kemoterapiye ve radyoterapiye olan direncini artırarak tümörün malign büyümesini uyarır.(73,74)

HIF-alfa'nın çok sayıda kanserde önemli rol oynadığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Bunlar arasında akciğer, prostat, meme, endometrium ve kolon kanserinde tümör anjiyogenezini ve HIF arasında direkt ilişki bulunduğu gösterilmiştir. (75,76) He ve ark yaptığı çalışmada küçük hücreli akciğer kanseri olgularının 5 yıllık sağkalımının plazma HIF-alfa düzeyiyle belirgin korelasyonu bulunduğu, HIF-alfa düzeyi düşük olan grupta %78.6 oranında 5 yıllık sağkalım saptanırken HIF-alfa düzeyi yüksek grupta 5 yıllık sağkalım %50 olarak saptanmıştır. Ayrıca aynı çalışmada küçük hücreli akciğer kanseri hastalarında prognostik faktörlerden TNM evrelemesinin HIF-alfa ile istatistiksel anlamlı korelasyon gösterdiği, diğer parametrelerin istatistiksel anlamlı olmadığı görülmüştür. Bu çalışma ile prognoz tahmininde HIF-alfa'nın bir parametre olarak kullanılabileceği görülmektedir (77).

Meme kanserinde, HIF-1 alfa ekspresyonunun arttığı ve bunun kötü prognoz ile ilişkili olduğu gösteren çalışmalar mevcuttur (78). Ancak HIF1 alfa'nın meme kanserinde prognoza olan etkisini kanıtlamış az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bos ve ark yaptığı bir retrospektif bir çalışmada; meme kanseri ve normal meme dokusunda HIF1 alfa protein, VEGF, p53, Ki-67, HER-2/neu ve östrojen reseptörleri immunohistokimyasal olarak incelenmiş; evre ilerledikçe HIF-alfa pozitif olan tümör

hücrelerin ekspresyonlarının arttığı, bu oranın kötü diferansiye invaziv karsinomlarda maksimuma ulaştığı görülmüştür. Ayrıca yüksek HIF-alfa düzeylerinin istatistiksel olarak belirgin şekilde VEGF ve ER proteinlerinin artmış ekspresyonuyla ilişkili olduğu görülmüştür (79). DCIS lezyonlarında artmış HIF-1 düzeylerinin istatistiksel olarak belirgin şekilde artmış mikrodamar yoğunluğuyla ilişkili olduğu görülmüştür. HIF-alfa'nın HER-2/neu ile borderline ilişkili ancak p53 ile ilişkili olmadığı gösterilmiştir. Bu çalışmada sonuç olarak patolojik evre ilerledikçe HIF-1 düzeyinin de arttığı, kötü diferansiye lezyonlarda iyi diferansiye lezyonlara kıyasla HIF-1 düzeylerinin daha yüksek bulunduğu, artmış HIF-1 düzeylerinin artmış VEGF ve ER proliferasyon ve ekspresyonuna neden olduğu gösterilmiştir. Kısaca bu çalışmada artmış HIF-1 düzeyleri saldırgan tümör doğası ile ilişkilendirilmiştir. (80)

HIF ile ilgili yapılan diğer çalışmalarda yüksek HIF değerlerinin kötü prognoza, yüksek metastaz ve nüks riskine neden olduğu bildirilmiştir. (81,82,83) Dales ve ark. yaptığı retrospektif bir çalışmada invaziv meme kanseri olan 745 hastada HIF 1alfa ekspresyonunun sağkalım, lokal nüks ve uzak metastaz üzerine etkilerini gözlemlediklerinde, lenf nodu negatif olan hastalarda bile yüksek HIF 1 alfa oranlarının yüksek metastaz riskiyle, kötü sağkalımla ve erken nüksle ilişkili bulunmuştur. Araştırmacılar bu gözlemleri sonucunda tedavi öncesinde HIF1 alfa düzeyini belirleyerek spesifik tedavilerden fayda görebilecek hastayı seçme konusunda adım atılabileceğini bildirmişlerdir. (84)

Feng-Feng Cai ve arkadaşları, yaptıkları 267 meme kanseri, 30 sağlıklı kontrol grubu bulunduran çalışmada, karşılaştırdıkları HIF-1alfa ve PGC-1alfa (peroxisome proliferator-activated receptor g coactivators 1a) serum değerlerinin ortalamalarının kontrol grubunda normale yakın olarak bulunurken hasta grubunda her iki değer de anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Ayrıca HIF-1alfa serum seviyesini klinikopatolojik özelliklerle karşılaştırmışlardır. Tümör büyüklüğü, cilt tutulumu (ödem, kızarıklık, nodülarite, ülserasyon), lenf nodu metastazı ve klinik evre serum HIF-1alfa değerleriyle belirgin şekilde korelasyon gösterdiğini tespit etmişlerdir. İnvaziv meme kanseri grubu ile duktal karsinoma in situ gruplarını karşılaştırdıklarında ise invaziv karsinom grubunda serum HIF-1alfa değerinin anlamlı

şekilde daha yüksek bulunduğunu göstererek tümörün agresifliği ve evresinin arttıkça serum HIF-1alfa seviyesinin de yüksek gözlemlendiği sonucuna ulaşmışlardır (85).

Anjiyogenez, önceden var olan bir damar sisteminden yeni kan damarlarının gelişimidir ve tümör büyümesinde önemli bir adımdır. Anjiyogenez olmazsa tümör 1-2 mm³ ten daha fazla büyüyemez çünkü tümörün merkezindeki oksijen eksikliği hücre apoptozisine ve nekrozuna neden olur. (86) Hipoksi anjiyogenezin başlamasında anahtar rol oynar ve hipoksi tarafından regüle edilen en önemli anjiyogenezis faktörü Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF)'dir (87). VEGF homodimerik, heparin-bağlayan glikoprotein yapısında bir molekül olup çeşitli alt grupları tanımlanmıştır. İnsan VEGF geni kromozom 6p21.3 te lokalizedir (88). VEGF A, B, C, D, E, ya da aminoasit sayılarına göre VEGF121, VEGF165, VEGF189, VEGF206 ve VEGF145 gibi izoformları bulunmaktadır (89). Kanda tespit edilen VEGF nin büyük bir kısmı VEGF165'tir (90). VEGF biyolojik aktivitesini temel olarak tirozin kinaz yapılı, endotel hücreleri üzerindeki VEGF-R1 (flt-1) ve VEGF-R2 (flk-1/KDR) ile lenf damarları üzerindeki VEGF R3 (flt-4) adlı üç reseptörü ile gerçekleştirir (91). Reseptör uyarımı sonucu reseptörün stoplazmik bölgesindeki tirozinden fosforillenme olur (92). Fosforillenme sonucu -SH2 domaini olarak bilinen polipeptit segmentlerinin bu fosforillenen yapıya bağlanmalarına olanak sağlanmış olur. Böylece ilgili birçok protein birbiriyle etkileşime girerek neticede kinaz kaskadının son hedefi olan transkripsiyon faktörleri fosforillenir ve gen transkripsiyonunda değişimler sonucunda anjiyogenezin uyarılması, vasküler permeabilitenin artması, mitojenez ve sağlıklı endotelial hücrelerin kemotaksisiyle ilgili genlerin ekspresyonu artar (93). VEGF reseptörlerinin aktivasyonu sonrasında fosfolipaz-C, fosfoinositol-3 kinaz ve ras/GTPaz aktivatör proteinleri gibi bir dizi hücre içi sinyal iletim proteinlerini fosforile ederek endotel hücrelerinin proliferasyon, migrasyon ve diferansiyasyonunu sağlamaktadır (94). Anjiyogenezin VEGF-bağımlı bir mediyatörü olan nitrik oksit (NO), VEGF'in NO sentaz enzimi üzerindeki uyarıcı etkisi sonucu oluşarak endotel hücre migrasyonunda rol alır.(95) Tüm bu genler transkripsiyonel bir kompleks olan HIF-1alfa nın kontrolü altındadır (96). Ayrıca kanser hücrelerinin VEGF ve glikolitik enzimlerin uyarımı sonrası yanıtı ve hipoksi altında yaşama yeteneği hipoksiye duyarlılığını belirler ve HIF i aktive eder. Gerçekten de gösterilmiştir ki, transforme

olan hücrelerde defektif HIF-1alfa sinyalizasyonu kötü invivo tümör büyümesiyle alakalıdır. (96-101) Bu yüzden denebilir ki HIF in upregülasyonu artmış VEGF indüksiyonu ve tümör büyümesi ile olmaktadır. Yine de Carmeliet ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada azalmış hipoksiyle indüklenen apoptozis ve artmış stresle indüklenen proliferasyon nedeniyle, HIF-1alfa artışı tümörlerin artmış anjiyogenez nedeniyle büyümesine neden olmaktadır. (102) HIF-1 α , VEGF mRNA düzey ve stabilitesini artırır. DNA tamir proteinlerinin HIF-1 α tarafından inhibe edilmesinin hipoksik strese giren hücrelerdeki genetik instabiliteden sorumlu olduğunu düşündürmektedir. Sitokinler, büyüme faktörleri, hormonlar ve diğerleri (NO, ısı, mekanik stres), oksijenden bağımsız olarak HIF-1 α 'yı aktive edebilir. Bu sinyal yolları HIF-1 aktivasyonu, VEGF salınımı ve retinal neovaskülarizasyonda anahtar rol oynadıkları gösterilmiştir. (103) Hipoksi dışı HIF-1 α uyarıcıları arasında IGF-1, VEGF salınımı için potent uyarıcıdır. (104) Vitreus IGF-1 düzeyi diyabetik retinopati varlığı ve şiddeti ile koreledir. İntravitreal IGF-1 enjeksiyonu HIF-1 α , Akt, JNK, NF- κ B, AP-1 aktivitesi ve VEGF düzeylerini artırır ve mikroanjiyopatiye neden olur. IGF-1, aynı zamanda retina hücresinde VEGF salınımını uyarır ve hayvan modelinde sistemik IGF-1 inhibisyonu ile etkileri tersine döner.

İnsülin HIF-1'i aktive eden başka bir faktördür. Akut agresif insulin tedavisi hayvan modelinde HIF-1 α aktivasyonu ile retinada VEGF mRNA ve protein seviyesini artırır. Akut ve agresif insülin tedavisinin geçici olarak diyabetik retinopatiyi kötüleştirdiği bilinmektedir ve bunun altında yatan mekanizmalardan birisi HIF-1 α aracılığı ile VEGF düzeylerinin yükselmesi olabilir (105). Anabolik ve mitojenik özellikleri nedeniyle IGF-I, HIF-1alfa, VEGF ve İnsülin arasında MAP Kinaz ve Fosfatidilinozitol 3P (PI3K) yollarının ortak olmasından kaynaklanan kuvvetli bir pozitif ilişki vardır (106) Yapılan çalışmalara baktığımızda kanser hücrelerinde VEGF-A'nın fazla ekspresyonu kolon, akciğer, pankreas, malign melanom gibi çoğu tümör tipinde kötü prognozla ilişkili bulunmuştur (107,108,109). Metastazlı dokunun da primer kanser dokusu gibi VEGF-A'yı aşırı eksprese ettiği bildirilmiştir (110). VEGF-A ekspresyonunun sadece invaziv kanser hücrelerinde değil aynı zamanda meme, serviks ve kolon gibi bazı kanserlerin prekürsör lezyonlarında da artış gösterdiği bildirilmektedir (111,112) Boneberg ve arkadaşlarının

yaptığı bir çalışmada benign meme hastaları grubu ile meme kanseri olguları karşılaştırılmış olup VEGF ekspresyonları benzer çıkmıştır (113). Bir başka çalışmada immunohistokimyasal yöntemle meme kanseri biyopsi örneklerinde %95 VEGF pozitifliği saptanırken bir başkasında bu oran %28 olarak bulunmuştur. (114,115) Ayrıca, noninvaziv lezyonlarda da VEGF ekspresyonu gözlenmiştir. İmmunohistokimyasal yöntemle doku VEGF ekspresyonunun değerlendirildiği iki çalışmada, VEGF'nin prognostik faktör olarak uygun bulunmadığı ifade edilmiştir (116,117).

Tümör yükü artmış, yaygın metastazı olan hastalarda dolaşımında VEGF-A'nın arttığı bildirilmiştir (110). Yüksek serum VEGF-A düzeyleri kanser progresyonu, kemoterapiye kötü yanıt, kötü sağkalım ile ilişkili bulunmuştur (117,118). Meme kanserli bir hastada serum VEGF-A düzeylerinin artışının tümörün büyümesi, rekürrensi, metastatik yayılımı belirlemede klinik olarak yararlı olabileceği, ancak minimal hastalığı olan kişilerde tarama aracı olarak yardımcı olamayacağı bildirilmektedir. Ek olarak Granato ve ark. nin çalışma- sında sağlıklı kadınlarda ve meme kanseri hastalarında saptanan serum VEGF düzeyle- rinin benzer olması nedeniyle meme kanserinde tanısal bir belirteç olarak yararlı olmayacağı bildirilmiştir (119).

Serum VEGF düzeylerinin araştırıldığı bir çalışmada benign meme tümörlü, lokalize ve metastatik meme kanseri hastalarında serum VEGF düzeyi ortancaları sırası ile 57, 104, 186 pg/mL saptanmıştır (120). Başka bir çalışmada benign lezyonlularda VEGF ortalaması 52.2 pg/mL, malign hastalarda 2136.3 pg/mL saptanmıştır (121). Özalp Y ve ark. yaptığı çalışmada ise üç grubun ortancaları benign grupta 193.5 pg/mL, metastazsız malign grupta 208.3 pg/mL, metastazlı malign grupta 331.2 pg/mL olarak saptanmıştır. Metastazlı grubun serum VEGF-A düzeyleri benign gruptan anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Serum VEGF-A düzeylerinin aksiller metastazlı hastalarda benign hastalara göre artmış olması, ayrıca metastatik lenf nodu sayısı ile korele bulunması prognostik faktör olarak kullanılabilceğini, VEGF'nin metastatik süreçte rolü olabileceğini desteklemektedir.

Yapılan çalışmalara baktığımızda kanser hücrelerinde VEGF-A' nın fazla ekspresyonu çoğu tümör tipinde kötü prognozla ilişkili bulunmuştur (107,108,109). Metastazlı dokunun da primer kanser dokusu gibi VEGF-A'yı aşırı eksprese ettiği bildirilmiştir (110). VEGF-A ekspresyonunun sadece invaziv kanser hücrelerinde değil aynı zamanda meme, serviks ve kolon gibi bazı kanserlerin prekürsör lezyonlarında da artış gösterdiği bildirilmektedir (110,111) Boneberg ve ark yaptığı bir çalışmada benign meme hastaları grubu ile meme kanseri olguları karşılaştırılmış olup VEGF ekspresyonları benzer çıkmıştır (113). Bir başka çalışmada immunohistokimyasal yöntemle meme kanseri biyopsi örneklerinde %95 VEGF pozitifliği saptanırken bir başkasında bu oran %28 olarak bulunmuştur. (114,115). Ayrıca, noninvaziv lezyonlarda da VEGF ekspresyonu gözlenmiştir. İmmunohistokimyasal yöntemle doku VEGF ekspresyonunun değerlendirildiği iki çalışmada, VEGF'nin prognostik faktör olarak uygun bulunmadığı ifade edilmiştir (114,115).

Son zamanlarda kanser tedavisi yaklaşımlarında VEGF ve/veya reseptörlerini hedeflemek ilgi çekici bir kanser tedavisi yaklaşımı olmuştur. (122) Yakın gelecekte VEGF ve meme kanseri ilişkisinin daha net ortaya konması ve kanser tedavisinde bu yaklaşımların faydalı olması beklenmektedir.

İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF) diğer bir adıyla somatomedinler sistemi IGF1, IGF2, IGF bağlayıcı proteinler (IGFBP1-6) ve IGF reseptörlerinden (IGF reseptörü 1 ve 2) oluşan, büyüme hormonunun anabolik ve mitojenik etkilerinin ortaya çıkmasına yardımcı olan bir peptid ailesidir. Tek zincirli polipeptid yapısında olup her iki IGF molekülü proinsüline benzer şekilde A ve B zincirlerine sahiptirler ve bu zincirler birbirlerine C peptidi adı verilen disülfid bağlarıyla bağlıdır. IGF1 ve IGF2 biyokimyasal formül ve aminoasit dizilimi olarak proinsülinle yakın bir benzerlik gösterir. Bu yüzden IGF molekülleri insülin reseptörlerine düşük affinite ile bağlanabilir. Diğer yandan yapısal farklılıklar insülinin IGF bağlayan proteinlere (IGFBP1-6) bağlanmasını önler. (123) İnsülin reseptörü, IGF reseptörü tip1 (IGF reseptörü1) ve tip2 (IGF reseptörü2) olmak üzere toplamda üç farklı IGF reseptörü tanımlanmıştır. IGF 1 reseptörü tirozin kinaz ailesine ait olup IGF 1'i insüline göre

yüz kat daha fazla affinite ile bağlar. IGF reseptör1 in alfa ve beta subüniteleri tiroiz otoposforilasyonu ile birleşir (124) IGF 1 reseptörü IGF 2 den daha yüksek bir affinite ile IGF 1 i bağlar. Bu yüzden büyüme yanıtlarının çoğunda esas aracılık eden faktör IGF 1 dir. (125) IGF reseptör2, mannoz 6 fosfat reseptörü (M6PR) olarak da bilinir. Endojen tirozin kinaz aktivitesinden yoksundur ve görevi IGF alım ve yıkımına aracılık etmektir. (126) IGF 2 ye bağlanarak IGF 2 yi hücre içerisine sokar ve lizozomlarda yıkılmasına aracılık eder. Her iki IGF molekülü de IGF 1 i aktive edebilirken, IGF 2 üçüncü bir reseptör olan IGF 2 reseptörüne bağlanırsa da hücre içi aktivasyonu bilinmemektedir. (127)

IGF ler plazmada IGF bağlayıcı proteinler (IGFBP) ile taşınır. IGF ve IGFBP'ler başta karaciğer olmak üzere birçok organda üretilirler. IGF nin dolaşımdaki yarı ömrünü uzatıp, IGF nin reseptörlerine ani bağlanmayı engelleyerek akut etkilerin ortaya çıkışını engellerler. Bunun yanısıra spesifik reseptörler aracılığı ile IGF lardan bağımsız olarak spesifik etkilerini oluştururlar. (128,129) IGFBP lerin 6 izotipi bulunmakla beraber fizyolojik açıdan en önemlisi tüm IGFBP lerin % 75 ini oluşturan IGFBP3 tür. Dolaşımda bulunan IGF'lerin %70 ila 90 ının transportundan sorumlu olup aynı zamanda potansiyel bir hücre büyüme inhibitörüdür. Çeşitli hücre kültürlerinde IGF olmadan da IGFBP3 ün muhtemelen p53 tümör supresör geni aracılığıyla DNA sentezini inhibe ettiği gösterilmiştir. P53 etkisi ile IGFBP3 ekspresyonunun indüklenmesi IGF1'in mitojenik etkisinin inhibisyonuna yol açmaktadır. (127,130)

İnsülin primer olarak karaciğer, kas ve yağ dokusunda etki gösterirken IGF'ler hemen hemen tüm organlarda etkilidirler. Embriyolojik gelişimde rolleri büyüktür. IGF 2 nin doğum sonrası rolü tam olarak bilinmezken IGF 1, hayat boyu büyümenin düzenlenmesinde aktif rol oynar. (131) İnsülin ve IGF 1 hücre içinde aynı ilk uyarıyı başlatsa da insülin metabolik fonksiyonlar üzerine, IGF'ler ise karbonhidrat ve protein anabolizması üzerinden büyüme ve farklılaşma üzerinde esas rolü oynar. IGF 1 nin bu etkiyi hücre siklusunda, sessiz fibroblastları G0 fazından G2 fazına geçmeleri için uyararak yaptığı, G1 den S fazına geçiş içinse IGF1 reseptörünün aktif rol oynadığı böylece hücre turnover ını artırarak hücrenel transformasyon riskini arttırdığı

gösterilmiştir. (132) Başta insülin olmak üzere tiroksin, gonadotropinler, seks steroidleri ve paratiroid hormon çeşitli dokularda IGF1 üretimini uyarıp mitotik ve proliferatif aktiviteyi arttırmaktadır.

Fetal yaşamda özellikle IGF2, postnatal yaşamda ise IGF1 büyüme hormonu ile ilişkili büyüme ve mitojenik aktivitede en önemli mediatördür. (133) Fetal dönemde farklılaşma ve büyüme, postnatal dönemde anti apoptotik etki, proliferasyon, hücrelerel diferansiyasyon ve mitotik aktiviteden sorumludurlar. Mitotik aktivitelerinin bulunması nedeniyle bozulmuş stimülasyon, malign büyümenin gelişimi ve progresyonuna katkıda bulunabilirler. Yapılmış çok sayıda çalışmada, antimitotik bir faktör olan IGFBP3 ün düşük, IGF1'in ise artmış düzeylerinin meme, prostat, kolon ve akciğer gibi pek çok kanser için artmış risk ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle IGF1 reseptör antagonistlerinin ve IGFBP3 fonksiyonlarını arttıran girişimlerin insan solid tümörlerinin gelişimini durdurduğu gösterilmiştir. (134) IGF reseptör sentezini arttıran faktörler; steroidler, östrojenler, growth hormon, FSH, LH, tiroid hormonları, büyüme faktörleri (esas fibroblast büyüme faktörü bFGF) platelet derive büyüme faktörü (PDGF), ve epidermal büyüme faktörü (EGF) olmakla beraber IGF reseptör sentezini azaltan faktörler olarak p53, Wilm Tumor-1, BRCA-1 gibi tümör supresör genleridir. Ayrıca yüksek IGF1 seviyeleri otoinhibisyon mekanizmalarıyla negatif feedback ile IGF reseptör sentezini azaltmaktadırlar. (135) IGF2' nin ise, IGF1'in aksine, kendisine bir ligand bağlandığında Transformig Growth Factor (Transforme Edici Büyüme Faktörü-TGF-beta) aktivasyonu ile antimitotik, antiproliferatif ve proapoptotik bir etki gösterdiği, adeta bir tümör baskılayıcı gibi davrandığı görülmektedir (136). Tümör supresyon mekanizmalarından p53 ise DNA hasarlanmasına yanıt olarak IGFBP3 ü aktive ederek IGF nin yarıömrünün uzamasını, IGF nin hücre üzerinde etki süresinin uzun vadeye yayılarak azalmasını, dolayısıyla antiproliferatif ve proapoptotik etki göstererek hücre siklusunun kontrolsüz çoğalarak kanserojenik etkilere açık hale gelmesini engeller. (137) Hemşire sağlık çalışması grubu tarafından yürütülen, Hankinson SE ve arkadaşlarının meme kanseri ile ilgili yaptığı olgu kontrol çalışmasında meme kanseri tanısı konan kadın hastaların serum örneklerinde kontrol grubuna kıyasla IGF1 düzeyleri yüksek, IGFBP3 düzeyleri ise düşük olarak saptanmıştır. (138) Ayrıca yüksek IGF, düşük IGFBP oranına sahip

kadınların daha yüksek insitu duktal karsinom riskine sahip olduğu gösterilmiştir. (139) Meme kanseri dışında prostat (140) , akciğer (141), mide (142), kolon (143) , hepatoselüler karsinom (144,145,146), over (146) , serviks (147) ve endometrium (11/31) kanserlerinde de bu oranın saptanması kanser tedavisinde İnsülin Büyüme Faktörü'nün gelecekte önemli rol oynayacağını göstermektedir.

Çalışmamızda amacımız meme kanseri ile sağlıklı kadınlardaki serum HIF-1alfa düzeyinin farklılığını saptamak, klinikopatolojik parametrelerle ve varsa VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D, IGF-I ve İnsülin ile olan ilişkisini göstermektir.



8. SONUÇ

Yaptığımız çalışmanın sonucunda meme kanserli hastalarda HIF-1alfa düzeyinin sağlıklı kadınlara göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bu da literatür bilgisi ile uyumludur (85). Çalışmalarda yaş artıkça HIF düzeyinin arttığı belirtilmiştir (referans). Bizim çalışmamızda yaş ile HIF düzeyi arasında ilişki saptanmamıştır. Her ne kadar yapılan çalışmalarda yaş ile birlikte HIF düzeyinin arttığı belirtilse de bizim çalışmamızı destekleyen Liu Q ve ark. yaptığı bir metaanalizde, 1422 glioma hastasında HIF düzeyi bakılmıştır. Bu çalışmada HIF-1 ekspresyonunun yaş ile ilgili olmadığı saptanmıştır (150)

Çalışmamızdaki meme kanserli hastalarımızın ortalama vücut kitle indeksi 27.11 kg/m² olarak saptanmıştır. Hastalarımızın ortalama vücut kitle indeksi yüksektir. Çalışmamızda obez hastalarda (VKİ >30 kg/m²) ortalama HIF, VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D ve IGF-I değerlerinin normal kilolu hastalara göre daha düşük olduğu saptanmıştır. Bu anlamlılık sadece HIF, VEGF-A, VEGF-C ve IGF-I değerleri için istatistiksel anlamlıdır. Hastaların VKİ artıkça VEGF-C ve IGF-I değerleri azalmaktadır, negatif korelasyon mevcuttur.

Literatürde HIF-1 alfanın adipoz yağ hücrelerinde erken dönemde doku inflamasyonuna yol açtığı, bununda insulin resistansına sebep olduğu gösterilmiştir. (151)

Bizim çalışmamızda HIF-1 düzeyinin klinikopatolojik parametreler ile ilişkisi bulunamamıştır. İleri evrede, lenf nodu metastazı varlığında ve ileri grad'da HIF-1 düzeyi farklılık göstermemektedir.

HIF-1alfa ile VEGF-C ve VEGF-D arasında anlamlı pozitif korelasyon görülmüştür. Erken evre meme kanserleriyle yapılan istatistikte HIF-1alfa ile IGF-I arasında da pozitif bir korelasyon olduğu saptanmıştır. Klinikopatolojik parametrelerle yapılan korelasyon çalışmalarında ise obezite haricinde diğer klinikopatolojik parametrelerle arasında anlamlı pozitif ya da negatif yönde korelasyon saptanmazken

obezite ile HIF-1alfa arasında cut-off değeri saptanarak yapılan istatistikte negatif korelasyon bulunduğu görülmüştür. HIF-1alfa'nın yanında VEGF-A ve VEGF-C nin de obezite ile anlamlı negatif korelasyon gösterdiği görülmüştür. Sarnaiz ve ark. yaptıkları çalışmada HIF-1alfa'nın transkripsiyonunu yaptığı COX5B geninin mitokondriyal kompleks IV (CIV) ile birlikte represe edilmesi (susturulması durumunda) hücrede yağ birikiminin arttığı saptanmıştır. Bu nedenle HIF-alfa etkisinin dolaylı olarak ortadan kalktığı bir durumda hücrede yağ asitlerinin artması bizim çalışmamızdaki negatif korelasyon sonucuyla benzerlik taşımaktadır (152) Bu çalışmanın sonucu bizim HIF-1alfa obezite korelasyonumuzla rtse de öte yandan Lee Y.S. ve ark. nin yaptığı çalışmada obez ratlarda adipoz dokuda oksijen kullanımının artışıyla HIF-1alfa nın da artarak inflamasyonu ve insülin rezistansını arttırdığını göstermiştir (153) Bu çalışmanın sonucunun yorumu bizim çalışmamızda elde ettiğimiz HIF-1alfa ve obezite ters korelasyonu ile örtüşmemektedir. Ayrıca Garcia-Fuentes ve ark. 'nın yaptığı çalışmada da visseral adipoz doku (VAT) oranı yüksek olan morbid obez rat ve insanlarda HIF-1alfa mRNA ekspresyonu kontrol grubuna göre daha yüksektir. (154)

Yaptığımız çalışmanın sonucunda; serum HIF-alfa, VEGF-D, IGF-I ve İnsülin ortalama değerleri hasta grubunda, kontrol grubu ortalamalarına kıyasla anlamlı derecede farklı bulunmuştur. Serum HIF-alfa, VEGF-A ve IGF-I ortalamaları hasta grubunda yüksek bulunurken serum VEGF-D ve İnsülin ortalamaları hasta grubunda daha düşüktür. Bu farklılıklar serum HIF-alfa, VEGF-D, IGF-I ve İnsülin ortalama değerlerinde anlamlı bulunmuştur. Yine bahsedilen patofizyolojik mekanizma ile uyumlu Şekilde serum HIF-alfa ile VEGF-C ve HIF-alfa ile VEGF-D arasında anlamlı pozitif korelasyon, VEGF-A ile VEGF-D arasında anlamlı pozitif korelasyon, VEGF-C ile VEGF-D arasında anlamlı pozitif korelasyon, IGF-I ile İnsülin arasında anlamlı negatif korelasyon bulunmuştur. Bradbury ve ark yaptığı bir çalışmada da çalışmamızla benzer Şekilde vücut kitle indeksi 30 ve üzerinde olan obez kadınlarda plazma IGF-I ortalaması daha düşük bulunmuştur. Erkeklerin de bulunduğu başka çalışmalarda da sonuç bu yöndedir. Ayrıca 2000 post menopozal kadın ile yapılan bu çalışmada günlük total protein alımıyla IGF-I arasında ilişki bulunmuştur. (155-158)

Sonuç olarak HIF-1 alfa, VEGF-D ve IGF-I değerleri meme kanseri ile sağlıklı kadınların ayırımında kullanılabilir bir belirteç olabilir. HIF-alfa VEGF-C, VEGF-D ve IGF-I değerleri arasındaki korelasyon bize HIF'in VEGF ve IGF-I üzerinden tümör progresyonunu etkilediğini gösterebilir. Bu alanda yapılacak çalışmaların, incelenen hasta sayılarının artması, araştırmada yöntem ve grup standardizasyonlarının sağlanması ile bu faktörlerin prognozu belirlemede de kullanılabilir değeri düşünölmektedir.



9. KAYNAKLAR

- (1). U.S. Cancer Statistics SEER Data 2016
- (2). T.C.Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Türkiye Kanseri İstatistikleri Ankara 2016
- (3). Joensuu H, Toikanen S, Klemi PJ. DNA index and S phase fraction and their combinations as prognostic factors in operable ductal breast carcinoma. *Cancer*. 1990; 66: 331-40
- (4). Sener SF, Lee LH. Staging of Breast Cancer. In: Singletary SE, Robb GL. *Advanced Therapy of Breast Disease*. Philadelphia: BC Decker Inc, 2000: 113-9.
- (5). Robbins GF, Leis HP Jr, Hutter Rup. A rational approach to and result of women with breast carcinoma. *J Breast* 1997; 3: 9-13
- (6). Crowe JR, JP Gordon NH, Shenk RR, Zolliger Jr. RM, Brumberg DJ and Shuck JM. Primary tumor size. Relevance to Breast Cancer Survival. *Arch Surg* 1992; 127: 910-5. 48. Robbins GF, Leis HP Jr, Hutter Rup. A rational approach to and result of women with breast carcinoma. *J Breast* 1997; 3: 9-13
- (7). Saez RA, Clark GM, Mc Guire WL. Prognostic factors in breast cancer. *Semin Surg Oncol* 1989; 5: 99-102.
- (8). Fisher B, Boyer M, Wickerham DL et al. Relation of number of positive axillary nodes to the prognosis of patients with primary breast cancer: An NSABP update. *Cancer*. 1983; 52: 1551-7.
- (9). Green S, Chambon P. The oestrogen receptor from perception to mechanism. In: Parker MG. *Nuclear hormon receptors*. London: AcademicPress,1991:15-38.
- (10). Klein-Hitpass L, Scharpp M, Wagner J, Ryffel GJ. An oestrogen responsive element derived from the 5. region. *Cell*. 1986; 46: 1053-61.
- (11). King WJ, De Sambre ER, Jensen EV, Greene GL. Comparison of immunocytochemical and steroid binding assays for estrogen receptors in human breast tumors. *Cancer Research*. 1985; 45: 293-9.

- (12). Tavanssol F. Pathology of the breast. 2nd Ed. Stamford, Connecticut: Appleton & Lange, 1999; 52-3.
- (13). Jakesz R, Reiner A, Bieglmaier C, Reiner G, Krisch K, Kolb R, Spana J, Schemper M. Tumor histology and steroid receptors in breast carcinoma. *Oncologic*.1981; 4: 73-8.
- (14). Giri DD, Dundas SAC, Nothingam JF, Underwood JCE. Oestrogen receptors in benign epithelial lesions and intraductal carcinomas of the breast: An immunohistological study. *Histopathology*. 1989; 574-84.
- (15). Hull MT, Seo IS, Battersby JS, et al. Signet-ring cell carcinoma of the breast: A clinicopathologic study of 24 cases. *Am J Clin. Pathol* 1980; 73: 31-5
- (16). Haybittle JL, Blamey RW, Elston CW, Johnson J, Doyle PJ, Campbell FC, Nicholson RI, Griffiths K. A prognostic index in primary breast cancer. *British journal of cancer*. 1982 Mar; 45(3):361-6.)
- (17). Merino MJ, Livolsi JA. Signet-ring carcinoma of the female breast: A clinicopathologic analysis of 24 cases. *Cancer* 1981; 48: 1830-7.
- (18). Sachdev D, Yee D. Inhibitors of insulin-like growth factorsignaling: a therapeutic approach for breast cancer. *J MammaryGland Biol Neoplasia* 2006;11:27–39.
- (19). Kuwai T, Kitadai Y, Tanaka S et al. Expression of hypoxia-inducible factor-1alpha is associated with tumor vascularization in human colorectalcarcinoma *Int J Cancer* 2003; 105: 176–81.Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor.*Endocr Rev* 1997; 18: 4–25
- (20). Aggarwal BB. Nuclear factor-kappaB: the enemy within. *Cancer Cell* 2004; 6:203–8.van Uden P, Kenneth NS, Rocha S. Regulation of hypoxia-inducible factor-1alpha by NF-kappaB. *Biochem J* 2008; 412: 477–84.
- (21). Shin A, Ren Z, Shu XO, Cai Q, Gao YT, Zheng W. Expressionpatterns of insulin-like growth factor 1 (igf-i) andits receptor in mammary tissues and their associationswith breast cancersurvival. *Breast Cancer Res Treat*2007;105:55–61.

- (22). Untch M, Rezai M, Loibl S, Fasching PA, Huober J, Tesch H, et al. Neoadjuvant treatment of HER-2 overexpressing primary breast cancer with trastuzumab given concomitantly to epirubicin/ cyclophosphamide followed by docetaxel & capecitabine. First analysis of efficacy and safety of the GBG/AGO multicenter intergroup study Gepar Quattro Eur J Cancer 2008;6(7) 47 (PMID:20308670)
- (23). Slamon DJ, Godolphin W, James CA et al: Studies of the Her-2/neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer. Science. 1989; 244: 707-12.
- (24). Paik S, Byyant J, Park C et al. Erb B-2 and response to doxorubicin in patients with axillary lymph node-positive, hormone receptor-negative breast cancer. J Cancer Inst. 1998; 90: 1361-70.
- (25). de Ostrovich KK, Lambertz I, Colby JK, et al. Paracrine overexpression of insulin-like growth factor-1 enhances mammary tumorigenesis in vivo. Am J Pathol 2008;173:824-34.
- (26). Int. J. Cancer: 116, 734-739 (2005)' 2005 Wiley-Liss, Inc. Overexpression of hypoxia-inducible factor HIF-1 α predicts early relapse in breast cancer: Retrospective study in a series of 745 patients Jean-Philippe Dales1, Stephane Garcia, Severine Meunier-Carpentier, Lucile Andrac-Meyer, Olivier Haddad, Marie-Noëlle Lavaut, Claude Allasia, Pascal Bonnier and Colette Charpin, Faculté de Médecine, Marseilles, France
- (27). Liu L, Ning X, Sun L, Zhang H, et al. Hypoxia-inducible factor-1 α contributes to hypoxia-induced chemoresistance in gastric cancer. Cancer Sci 2008;99:121-128. 6. Airley RE, Mobasher A. Hypoxic regulation of glucose transport, anaerobic metabolism and angiogenesis in cancer: novel pathways and targets for anticancer therapeutics. Chemotherapy 2007;53:233-256.

- (28). Nedim Karagenç, Duygu Meydancı, Hakan Küçüksayan Dicle Tıp Dergisi / 2015; 42 (3): 361-367 Dicle Medical Journal Doi: 10.5798/Diclemedj.0921.2015.03.0590 Akciğer Kanseri Hücre Dizilerinde Hipoksi İndüklenebilir Faktör -1 alfa ve Paraoksonaz Enzim İlişkisinin Araştırılması Association Of Hypoxia Inducible Factor 1 (Hif-1) And Paraoxonase Enzyme In Lung Cancer Cell Lines Dicle Tıp Derg / Dicle Med J www.diclemedj.org Cilt / Vol 42, No 3, 361-367)
- (29). Wiesener, M. S., Turley, H., Allen, W. E., Willam, C., Eckardt, K. U., Talks, K. L., Wood, S. M., Gatter, K. C., Harris, A. L., Pugh, C. W., Ratcliffe, P. J., and Maxwell, P. H. Induction of endothelial PAS domain protein-1 by hypoxia– characterization and comparison with hypoxia-inducible factor-1-a. Blood, 92: 2260–2268, 1998.
- (30). Christine Blancher, John W. Moore, Kate L. Talks, Sue Houlbrook, and Adrian L. Harris Cancer Research 60, 7106–7113, December 15, 2000 Relationship of Hypoxia-inducible Factor (HIF)-1a and HIF-2a Expression to Vascular Endothelial Growth Factor Induction and Hypoxia Survival in Human Breast Cancer Cell Lines. Imperial Cancer Research Fund, Molecular Oncology Unit, Institute of Molecular Medicine, John Radcliffe Hospital, Oxford OX3 9DS, United Kingdom
- (31). Biff F. Palmer , Deborah J. Clegg Oxygen sensing and metabolic homeostasis Molecular and Cellular Endocrinology Volume 397, Issues 1–2, November 2014, Pages 51–58 Cellular energy sensors and endocrine function <http://dx.doi.org/10.1016/j.mce.2014.08.001>
- (32). Holmes, Katherine; Roberts, Owain Ll; Thomas, Angharad M.; Cross, Michael J. (2007). "Vascular endothelial growth factor receptor-2: Structure, function, intracellular signalling and therapeutic inhibition". Cellular Signalling. 19 (10): 2003–12. [doi:10.1016/j.cellsig.2007.05.013](https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2007.05.013). PMID 17658244.)
- (33). Ali, Ibne; et al. (2013). "Expression and localization of locally produced growth factors regulating lymphangiogenesis during different stages of the estrous cycle in corpus luteum of buffalo (Bubalus bubalis)". Theriogenology. 81: 428–436. [doi:10.1016/j.theriogenology.2013.10.017](https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.10.017).

- (34). Brown LF, Berse B, Jackman RW, Tognazzi K, Guidi AJ, Dvorak HF, et al. Expression of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) and its receptors in breast cancer. *Hum Pathol* 1995; 26(1): 86-91.
- (35). Wong MP, Cheung N, Yuen ST, Leung SY, Chung LP. Vascular endothelial growth factor is up-regulated in the early pre-malignant stage of colorectal tumour progression. *Int J Cancer* 1999; 81(6): 845-50.
- (36). Gasparini G, Toi M, Gion M, Verderio P, Dittadi R, Hanatani M, et al. Prognostic significance of vascular endothelial growth factor protein in node-negative breast carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1997;89:139-47.
- (37). Linderholm B, Lindh B, Tavelin B, Grankvist K, Henriksson R. p53 and vascular- endothelial-growth-factor (VEGF) expression predicts outcome in 833 patients with primary breast carcinoma. *Int J Cancer* 2000;89:51-62. 72- Linderholm B, Tavelin B, Grankvist K, Henriksson R. Does vascular endothelial growth factor (VEGF) predict local relapse and survival in radiotherapy-treated node- negative breast cancer? *Br J Cancer* 1999;81:727-32.)
- (38). Linderholm B, Grankvist K, Wilking N, Johansson M, Tavelin B, Henriksson R. Correlation of vascular endothelial growth factor content with recurrences, survival, and first relapse site in primary node-positive breast carcinoma after adjuvant treatment. *J Clin Oncol* 2000;18:1423-31
- (39). Rosen LS. Clinical experience with angiogenesis signaling inhibitors: focus on vascular endothelial growth factor (VEGF) blockers. *Cancer Control* 2002;9:36-44.
- (40). Ferrara N. Vascular endothelial growth factor as a target for anticancer therapy. *Oncologist* 2004;9 Suppl 1:2-10. 69- 70-Linderholm B, Grankvist K, Wilking N, Johansson M, Tavelin B, Henriksson R. Correlation of vascular endothelial growth factor content with recurrences, survival, and first relapse site in primary node-positive breast carcinoma after adjuvant treatment. *J Clin Oncol* 2000;18:1423-31.

- (41). Marc J. Gunter , Donald R. Hoover , Herbert Yu , Sylvia Wassertheil-Smoller, Thomas E. Rohan , JoAnn E. Manson , Jixin Li , Gloria Y. F. Ho , Xiaonan Xue , Garnet L. Anderson , Robert C. Kaplan , Tiffany G. Harris , Barbara V. Howard , Judith Wylie-Rosett , Robert D. Burk , Howard D. Strickler Insulin, Insulin-Like Growth Factor-I, and Risk of Breast Cancer in Postmenopausal Women
- (42). Bonneterre J, Peyrat JP, Beuscart R, Demaille A (1990) Prognostic significance of insulin-like growth factor 1 receptors in human breast cancer. *Cancer Res* 50:6931–6935.
- (43). Pollak M (2008) Insulin and insulin-like growth factor signalling in neoplasia. *Nat Rev Cancer* 8: 915–928.
- (44). Abuzzahab MJ, Schneider A, Goddard A, Grigorescu F, Lautier C, et al. (2003) IGF-I receptor mutations resulting in intrauterine and postnatal growth retardation. *N Engl J Med* 349: 2211–2222.
- (45). Liu JP, Baker J, Perkins AS, Robertson EJ, Efstratiadis A (1993) Mice carrying null mutations of the genes encoding insulin-like growth factor I (Igf-1) and type 1 IGF receptor (Igf1r). *Cell* 75: 59–72.
- (46). Insulin, Insulin-Like Growth Factor-I, and Risk of Breast Cancer in Postmenopausal Women Marc J. Gunter , Donald R. Hoover , Herbert Yu , Sylvia Wassertheil-Smoller , Thomas E. Rohan , JoAnn E. Manson , Jixin Li , Gloria Y. F. Ho , Xiaonan Xue , Garnet L. Anderson , Robert C. Kaplan , Tiffany G. Harris , Barbara V. Howard , Judith Wylie-Rosett , Robert D. Burk Howard D. Strickler)
- (47). Lee AV, Weng CN, Jackson JG, Yee D. Activation of estrogenreceptor-mediated gene transcription by igf-i in human breastcancer cells. *J Endocrinol* 1997;152:39
- (48). Gliozzo, B., Sung, C. K., Scalia, P. L., Papa, V., Frasca, F., Sciacca, L., Giorgino, F., Milazzo, G., Goldfine, I. D., Vigneri, R., And Pezzino, V. (1998) *J. Cell. 16 Biochem.* 70, 268-280

- (49). Chappell, J., Golovchenko, I., Wall, K., Stjernholm, R., Leitner, J., Goalstone, M., and Draznin, B. (2000) *Journal of Biological Chemistry* 275, 31792-31797
- (50). Frittitta, L., Vigneri, R., Stampfer, M. R., and Goldfine, I. D. (1995) *J. Cell. Biochem.* 57, 666-669
- (51). Kaleko, M., Rutter, W. J., and Miller, A. D. (1990) *Mol. Cell. Biol.* 10, 464-473
- (52). Mountjoy, K. G., Finlay, G. J., and Holdaway, I. M. (1987) *Cancer Res.* 47, 6500-6504
- (53). Benson, E. A., and Holdaway, I. M. (1982) *Cancer Res.* 42, 1137-1141
- (54). Belfiore, A., Frittitta, L., Costantino, A., Frasca, F., Pandini, G., Sciacca, L., Goldfine, I. D., and Vigneri, R. (1996) *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 784, 173-188
- (55). Goodwin, P. J., Ennis, M., Pritchard, K. I., Trudeau, M. E., Koo, J., Madaranas, Y., Hood, N., Hartwick, W., and Hoffman, B. (2000) *American Association of Clinical Oncology online*
- (56). Won-Kyung Cho, Seungbum Kang, Hyunsu Choi, Chang Rae Rho, Topically Administered Gold Nanoparticles Inhibit Experimental Corneal Neovascularization in Mice, *Cornea*, 2015, 34, 4, 456)
- (57). Jianchu Chen, Ashley Creed, Allen Y Chen, Haizhi Huang, Zhaoliang Li, Gary O Rankin, Xingqian Ye, Guihua Xu, Yi Charlie Chen, Nobiletin suppresses cell viability through AKT Pathways in PC-3 and DU-145 prostate cancer cells, *BMC Pharmacology and Toxicology*, 2014, 15, 1
- (58). Wooyoung Jeong, Fuller W. Bazer, Gwonhwa Song, Jinyoung Kim, Expression of hypoxia-inducible factor-1 by trophoblast cells in response to hypoxia and epidermal growth factor, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2016, 469, 2, 176
- (59). Ruma Sarkar, Sutapa Mukherjee, Jaydip Biswas, Madhumita Roy, Phenethyl isothiocyanate, by virtue of its antioxidant activity, inhibits invasiveness and metastatic potential of breast cancer cells: HIF-1 α as a putative target, *Free Radical Research*, 2016, 50, 1, 84

- (60). Moulton KS, Heller E, Konerding MA, Flynn E, Palinski W, Folkman J. Angiogenesis inhibitors endostatin or TNP-470 reduce intimal neovascularization and plaque growth in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* 1999;99:1726-32.
- (61). Brahimi-Horn MC, Chiche J, Pouyssegur J. Hypoxia and cancer. *J Mol Med (Berl)*. 2007;85(12):1301–1307.
- (62). Chiche J, Ricci JE, Pouyssegur J. Tumor hypoxia and metabolism—towards novel anticancer approaches. *Ann Endocrinol (Paris)*. 2013;74(2):111–114.
- (63). Brahimi-Horn MC, Pouyssegur J. The hypoxia-inducible factor and tumor progression along the angiogenic pathway. *Int Rev Cytol*. 2005;242:157–213.
- (64). Semenza GL. Oxygen sensing, homeostasis, and disease. *N Engl J Med* 2011; 365(6):537-47.
- (65). Patiar S, Harris AL. Role of hypoxia-inducible factor-1 α as a cancer therapy target. *Endocrine-Related Cancer* 2006; 13:61-75.
- (66). Semenza GL. Evaluation of HIF-1 inhibitors as anticancer agents. *Cancer Lett* 2007;12(19-20):853-59.
- (67). Maxwell PH, Pugh CW, Ratcliffe PJ. Activation of the HIF pathway in cancer. *Curr Opin Genet Dev* 2001;11:293-299.
- (68). Metzzen E, Zhou J, Jelkmann W, et al. Nitric oxide impairs normoxic degradation of HIF-1 α by inhibition of prolyl hydroxylases. *Mol Biol Cell* 2003;14:3470-3481.
- (69). Peyssonaux C, Johnson RS. An unexpected role for hypoxic response: oxygenation and inflammation. *Cell Cycle* 2004;3:168-171.
- (70). Sang N, Stiehl DP, Bohensky J, Caro J. MAPK signaling up-regulates the activity of hypoxia-inducible factors by its effects on p300. *J Biol Chem* 2003;278:14013-14019.
- (71). Agani FHP, Pichiule JC, Chavez, LaManna JC. The role of mitochondria in the regulation of hypoxia-inducible factor 1 expression during hypoxia. *J Biol Chem* 2000;275:35863- 35867.
- (72). Chandel NS, McClintock DS, Feliciano CE, et al. Reactive oxygen species generated at mitochondrial complex III stabilize hypoxia-inducible factor-1 α during hypoxia: a mechanism

- (73). Kaelin W G Jr. Cancer and altered metabolism: potential importance of hypoxia - inducible factor and 2- oxoglutarate- dependent dioxygenases. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* 2011;76:335–345.
- (74). Mimeault M, Batra SK. Molecular biomarkers of cancer stem/progenitor cells associated with progression, metastases, and treatment resistance of aggressive cancers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2014;23(2):234–254.
- (75). Zhong H, De Marzo AM, Laughner E, Lim M, Hilton DA, Zagzag D, Buechler P, Isaacs WB, Semenza GL, Simons JW. Overexpression of hypoxia-inducible factor 1alpha in common human cancers and their metastases. *Cancer Res* 1999;59:5830–5.
- (76). Ravi R, Mookerjee B, Bhujwalla ZM, Sutter CH, Artemov D, Zeng Q, Dillehay LE, Madan A, Semenza GL, Bedi A. Regulation of tumor angiogenesis by p53-induced degradation of hypoxia-inducible factor 1alpha. *Genes Dev* 2000;14:34–44.
- (77). He et al. HIF-1alpha prognosis in small lung cancer Bos R, Zhong H, Hanrahan CF, Mommers EC, Semenza GL, Pinedo HM, Abeloff MD, Simons JW, van Diest PJ, van der Wall E. Levels of hypoxia-inducible factor-1 alpha during breast carcinogenesis. *J Natl Cancer Inst* 2001;93:309–14.
- (78). Bos R, van der Groep P, Greijer AE, Shvarts A, Meijer S, Pinedo HM, Semenza GL, van Diest PJ, van der Wall E. Levels of hypoxia-inducible factor-1alpha independently predict prognosis in patients with lymph node negative breast carcinoma. *Cancer.* 2003; 97:1573-1581.
- (79). Bos R, Zhong H, Hanrahan CF, Mommers EC, Semenza GL, Pinedo HM, Abeloff MD, Simons JW, van Diest PJ, van der Wall E. Levels of hypoxia-inducible factor-1 alpha during breast carcinogenesis. *J Natl Cancer Inst* 2001;93:309–14.
- (80). Liu ZJ, Semenza GL, Zhang HF. Hypoxia-inducible factor 1 and breast cancer metastasis. *J Zhejiang Univ Sci B.* 2015; 16:32-43.
- (81). Ryan HE, Lo J, Johnson RS. HIF-1 alpha is required for solid tumor formation and embryonic vascularization. *EMBO J* 1998;17:3005–15.

- (82). Talks KL, Turley H, Gatter KC, Maxwell PH, Pugh CW, Ratcliffe PJ, Harris AL. The expression and distribution of the hypoxia-inducible factors HIF-1alpha and HIF-2alpha in normal human tissues, cancers, and tumor-associated macrophages. *Am J Pathol* 2000;157:411–2121.
- (83). Semenza GL. HIF-1 and human disease: one highly involved factor. *Genes Dev* 2000;14:1983–91.
- (84). Jean-Philippe Dales, Ste'phane Garcia, Se'verine Meunier-Carpentier, Lucile Andrac-Meyer, Olivier Haddad, Marie-Noo'le Lavaut, Claude Allasia, Pascal Bonnier and Colette Charpin Overexpression of hypoxia-inducible factor HIF-1a predicts early relapse in breast cancer: Retrospective study in a series of 745 patients. *Int. J. Cancer*: 116, 734–739 (2005)
- (85). Feng-Feng Cai, Cheng Xu, Xin Pan, Lu Cai, Xiao-Yan Lin, Su Chen, Ewelina Biskup Prognostic value of plasma levels of HIF-1a and PGC-1a in breast cancer www.impactjournals.com/oncotarget Oncotarget, Advance Publications 2016
- (86). Morrow, C. S., and Cowan, K. H. Antineoplastic drug resistance and breast cancer. *Ann. NY Acad. Sci.*, 698: 289–312, 1993.
- (87). Wenger, R. H., and Gassmann, M. Oxygen(es) and the hypoxia-inducible factor-I. *Biol. Chem.*, 378: 609–616, 1997.
- (88). Broll, R., Erdmann, H., Duchrow, M., Oeverman, E., Schwandner, O., Markert, U., Bruch, H.P., Windhovel, U. 2001. Vascular endothelial growth factor (VEGF)- a valuable serum tumour marker in patients with colorectal cancer? *Eur J Surg Oncol* 27:37-42.
- (89). Ema, M., Taya, S., Yokotani, N., Sogawa, K., Matsuda, Y., and Fujiikuriyama, Y. A novel bHLH-PAS factor with close sequence similarity to hypoxia-inducible factor 1-a regulates the VEGF expression and is potentially involved in lung and vascular development. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94: 4273–4278, 1997.
- (90). Karayiannakis, A.J., Syrios, K.N., Polychronidis, A., Zbar, A., Kouraklis, G., Simopoulos, C. and Karatzas, G. 2002. Circulating VEGF levels in the serum of gastric cancer patients. *Annals of Surgery*. Vol. 236, No.1, 37-42.

- (91). Yilmaz Ozalp, Merih Giray Durak, Sezer Uysal, Ali Sevin, Serdar Saydam, Tülay Canda, Banu Önvural, Tissue and Serum VEGF-A, Endostatin and S100A4 Levels in Women with Breast Tumour *Türk Klinik Biyokimya Derg* 2012; 10(1): 9-20
- (92). Carpenter, C.L., Cantley, L.C. 2001. Editors; Vincent T.DeVita, Jr., Hellman, S., Rosenberg, S.A. *Cancer Principles&Practice of Oncology* 6th edition. page 32.
- (93). Iqbal, S., Lenz, H.J. 2004. Integration of novel agents in the treatment of colorectal cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 54(Suppl 1): S32-S39.
- (94). Xudong Tang, Qunzhou Zhang, Shihong Shi, Yen Yun, Xiangyong Li, Yuefei Zhang, Keyuan Zhou, and Anh D. Le, Bisphosphonates suppress insulin-like growth factor 1-induced angiogenesis via the HIF-1 α /VEGF signaling pathways in human breast cancer cells, *Int J Cancer* . 2010 January 1; 126(1): 90–103. doi:10.1002/ijc.24710.
- (95). Bilgiç C İ , Tez M Serum VEGF levels in gastric cancer patients: correlation with clinicopathological parameters Department of General Surgery, Ankara Numune Research and Training Hospital, Ankara, Turkey *Turk J Med Sci* (2015) 45: 112-117 Tübitak doi:10.3906/sag-1401-15
- (96). Wang, G. L., Jiang, B. H., Rue, E. A., and Semenza, G. L. Hypoxia-inducible factor-1 is a basic-helix-loop-helix-pas heterodimer regulated by cellular O₂ tension. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92: 5510–5514, 1995
- (97). Maxwell, P. H., Dachs, G. U., Gleadle, J. M., Nicholls, L. G., Harris, A. L., Stratford, I. J., Hankinson, O., Pugh, C. W., and Ratcliffe, P. J. Hypoxia-inducible factor-I modulates gene expression in solid tumors and influences both angiogenesis and tumor growth. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94: 8104–8109, 1997.
- (98). Maltepe, E., Schmidt, J. V., Baunoch, D., Bradfield, C. A., and Simon, M. C. Abnormal angiogenesis and responses to glucose and oxygen deprivation in mice lacking the protein ARNT. *Nature (Lond.)*, 386: 403–407, 1999

- (99). Wood, S. M., Wiesener, M. S., Yeates, K. M., Okada, N., Pugh, C. W., Maxwell, P. H., and Ratcliffe, P. J. Selection and analysis of a mutant cell line defective in the hypoxia-inducible factor-1 α -subunit (HIF-1- α)—characterization of HIF-1- α -dependent and HIF-1- α -independent hypoxia-inducible gene expression. *J. Biol. Chem.*, 273: 8360–8368, 1998
- (100). Iyer, N. V., Kotch, L. E., Agani, F., Leung, S. W., Laughner, E., Wenger, R. H., Gassmann, M., Gearhart, J. D., Lawler, A. M., Yu, A. Y., and Semenza, G. L. Cellular and developmental control of O₂ homeostasis by hypoxia-inducible factor 1- α . *Genes Dev.*, 12: 149–162, 1998
- (101). Ryan, H. E., Lo, J., and Johnson, R. S. HIF-1- α is required for solid tumor formation and embryonic vascularization. *EMBO J.*, 17: 3005–3015, 1998.
- (102). Carmeliet, P., Dor, Y., Herbert, J. M., Fukumura, D., Brusselmans, K., Dewerchin, M., Neeman, M., Bono, F., Abramovitch, R., Maxwell, P., Koch, C. J., Ratcliffe, P., Moons, L., Jain, R. K., Collen, D., and Keshet, E. Role of HIF-1- α in hypoxia-mediated apoptosis, cell-proliferation and tumor angiogenesis. *Nature (Lond.)*, 394: 485–490, 1998.
- (103). Metzén E, Zhou J, Jelkmann W, et al. Nitric oxide impairs normoxic degradation of HIF-1 α by inhibition of prolyl hydroxylases. *Mol Biol Cell* 2003;14:3470-3481.
- (104). Poulaki V, Jousen AM, Mitsiades N. Insulin-like growth factor-I plays a pathogenetic role in diabetic retinopathy. *Am J Pathol* 2004;165:457-69.
- (105). Poulaki V, Qin W, Jousen AM. Acute intensive insulin therapy exacerbates diabetic blood-retinal barrier breakdown via hypoxia-inducible factor-1 α and VEGF. *J Clin Invest* 2002;109:805-15
- (106). Ryo Fukuda et al. Insulin-like Growth Factor 1 Induces Hypoxia-inducible Factor 1-mediated Vascular Endothelial Growth Factor Expression, Which is Dependent on MAP Kinase and Phosphatidylinositol 3-Kinase Signaling in Colon Cancer Cells *J Biol Chem.* 2002 Oct 11;277(41):38205-11. Epub 2002 Jul 30.

- (107). Eppenberger U, Kue ng W, Schlaeppli JM, Roesel JL, Benz C, Mueller H, et al. Markers of tumor angiogenesis and proteolysis independently define high and low-risk subsets of node-negative breast cancer patients. *J Clin Oncol* 1998; 16(9): 3129-36.
- (108). Hazelton D, Nicosia RF, Nicosia SV. Vascular endothelial growth factor levels in ovarian cyst fluid correlate with malignancy. *Clin Cancer Res* 1999; 5(4): 823-9.
- (109). Tjalma W, Weyler J, Weyn B, Van Marck E, Van Daele A, Van Dam P, et al. The association between vascular endothelial growth factor, microvessel density and clinicopathological features in invasive cervical cancer. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2000; 92(2): 251-7.
- (110). Dvorak HF. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: A critical cytokine in tumor angiogenesis and a potential target for diagnosis and therapy. *J Clin Oncol* 2002; 20(21): 4368-80.
- (111). Brown LF, Berse B, Jackman RW, Tognazzi K, Guidi AJ, Dvorak HF, et al. Expression of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) and its receptors in breast cancer. *Hum Pathol* 1995; 26(1): 86-91.
- (112). Wong MP, Cheung N, Yuen ST, Leung SY, Chung LP. Vascular endothelial growth factor is up-regulated in the early pre-malignant stage of colorectal tumour progression. *Int J Cancer* 1999; 81(6): 845-50.
- (113). Boneberg EM, Legler DF, Hoefler MM, Ohlschlegel C, Steininger H, Fuzesi L, et al. Angiogenesis and lymphangiogenesis are downregulated in primary breast cancer. *Br J Cancer* 2009; 101(4): 605-14.
- (114). Fuckar D, Dekanic A, Stifter S, Mustac E, Krstulja M, Dobrila F, Jonjic N. Vegf expression is associated with negative estrogen receptor status in patients with breast cancer. *Int J Surg Pathol* 2006; 14(1): 49-55.
- (115). Ludovini V, Sidoni A, Pistola L, Bellezza G, De Angelis V, Gori S, et al. Evaluation of the prognostic role of vascular endothelial growth factor and microvessel density in stages i and ii breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2003; 81(2): 159-68.

- (116). De Paola F, Granato AM, Scarpi E, Monti F, Medri L, Bianchi S, et al. Vascular endothelial growth factor and prognosis in patients with node-negative breast cancer. *Int J Cancer* 2002; 98(2): 228-33.
- (117). Adams J, Carder PJ, Downey S, Forbes MA, MacLennan K, Allgar V, et al. Vascular endothelial growth factor (vegf) in breast cancer: Comparison of plasma, serum, an tissue vegf and microvessel density and effects of tamoxifen. *Cancer Res* 2000; 60(11): 2898-905
- (118). Chin KF, Greenman J, Gardiner E, Kumar H, Topping K, Monson J. Pre-operative serum vascular endothelial growth factor can select patients for adjuvant treatment after curative resection in colorectal cancer. *Br J Cancer* 2000; 83(11): 1425-31.
- (119). Granato AM, N anni O, Falcini F, Folli S, Mosconi G, De Paola F, et al. Basic fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor serum levels in breast cancer patients and healthy women: Useful as diagnostic tools? *Breast Cancer Res* 2004; 6(1): R38-
- (120). Salven P, Perhoniemi V, Tykka H, Maenpaa H, Joensuu H. Serum vegf levels in women with a benign breast tumor or breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1999; 53(2): 161-6.
- (121). Shivakumar S, Prabhakar BT, Jayashree K, Rajan MG, Salimath BP. Evaluation of serum vascular endothelial growth factor (vegf) and microvessel density (mvd) as prognostic indicators in carcinoma breast. *J Cancer Res Clin Oncol* 2009; 135(4): 627-36.
- (122). Jubb AM, Oates AJ, Holden S, Koeppen H. Predicting benefit from anti-angiogenic agents in malignancy. *Nat Rev Cancer* 2006; 6: 626–635.
- (123). Daughaday WH, Rotwein P. Insulin-like growth fac-tors I and II: peptide, messenger ribonucleic acid and gene structures, serum and tissue concentrations. *Endocr Rev* 1989; 10: 68-91.
- (124). Kato H, Faria TN, Stannart B, et al. Role of tyrosine kinase activity in signal transduction by the insulin-like growth factor-I (IGF-I) receptor. *J Biol Chem* 1993; 265: 2655-2661.

- (125). Frattali AL, Pessin JE. Relationship between alpha subunit legant occupancy and beta subunit autophos-phorylation in insülin/insulin-like growth factor-I hybrid receptors. *J Biol Chem* 1993; 268: 7393-7400.
- (126). MacDonald RG, Pfeffer SR, Coussens L, et al. A sin-gal receptor binds both insulin-like growth factor-II and mannose 6-phosphate. *Science* 1988; 239: 1134-1137.
- (127). Jones JI, Clemmons DR. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocr Rev* 1995; 16: 3-34.
- (128). MacDonald RG, Pfeffer SR, Coussens L, et al. A sin-gal receptor binds both insulin-like growth factor-II and mannose 6-phosphate. *Science* 1988; 239: 1134-1137.
- (129). Lamson G, Giudice L, Rosenfelt RG. The insulin-like growth factor binding proteins structural and molecular relationships. *Growth Factors* 1991; 5: 19-28.
- (130). Buckbinter L, Talbott R, Velasco-Miquel S, et al. Induction of the growth inhibitor IGFBP-3 by p53. *Nature* 1995; 377: 646-649.
- (131). LeRoith D, Werner H, Beitner-Johnson D, Roberts CT Jr. Molecular and cellular aspects of the insulin-like growth factor I receptor. *Endocr Rev* 1995; 16: 143-164
- (132). Giovannucci E. Insulin-like growth factor-I and their binding protein-3 and risk of cancer. *Horm Res* 1999; 51(suppl 3): 34-41.
- (133). Jerome L, Shiry L, Jones BL. Deregulation of the IGF axis in cancer: epidemiological evidence and potential therapeutic interventions. *Endocr Relat Cancer* 2003;10: 561-578.
- (134). Fürstenberger G, Senn HJ. Insulin-like growth fac-tors and cancer. *Lancet Oncol* 2002; 3: 298-302.
- (135). Yu H, Rohan T. Role of the insulin-like growth fac-tor family in cancer development and progression. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 1472-1489.
- (136). Nolan CM, Kyle JW, Watanabe H, Sly WS. Binding of insulin-like growth factor II (IGF-II) by human cation-independent mannose 6-phosphate receptor/IGF-II receptor expressed in receptor-de cient mouse L cells. *Cell Regul* 1990; 1: 197-213.

- (137). Barreca A, Artini PG, Cesarone A, Arvigo M, D'Ambrogio G, Genazzani AR, Giordano G, Minuto F. Interrelationships between follicle stimulating hormone and the growth hormone-insulin-like growth factor. IGF-binding proteins axes in human granulosa cells in culture. *J Endocrinol Invest* 1996; 19: 35-42.
- (138). Hankinson SE, Willett WC, Colditz GA, et al. Circulating concentrations of insulin-like growth factor 1 and risk of breast cancer. *Lancet* 1998; 351: 1393-1396.
- (139). Li BD, Khosravi MJ, Berkel HJ, Diamandi A, Dayton MA, Smith M Yu H. Free insulin-like growth factor-I and breast cancer risk. *Int J Cancer* 2001; 91: 736-739
- (140). Chan JM, Stampfer MJ, Giovannucci E, et al. Plasma insulin-like growth factor-I and prostate cancer risk: a prospective study. *Science* 1998; 279: 563-566.
- (141). L Yu H, Spitz MR, Mistry J, Gu J, Hong, WK, Wu X. Plasma levels of insulin-like growth factor-I and lung cancer risk: a case-control analysis. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91: 151-156.
- (142). Lee DY, Yang DH, Kang CW, Kim SJ, Joo CU, Cho SC, Kim JS. Serum Insulin-like Growth Factors (IGFs) and IGF Binding Protein (IGFBP)-3 in Patients with Gastric Cancer: IGFBP-3 protease activity induced by surgery. *J Korean Med Sci* 1997; 12: 32-39.
- (143). Giovannucci E, Pollak MN, Platz EA, Willett WC, Stampfer MJ, Majeed N, Colditz GA, Speizer FE, Hankinson SE. Aprospective study of plasma insulin-like growth factor-I and binding protein-3 and risk of colorectal neoplasia in women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000; 9: 345-349.
- (144). Huynh H, Chow PK, Ooi LL, Soo KC. A possible role for insulin-like growth factor-binding protein-3 autocrine/paracrine loops in controlling hepatocellular carcinoma cell proliferation. *Cell Growth Differ* 2002; 13: 115-122.
- (145). Parker AS, Cheville JC, Janney CA, Cerhan JR. High expression levels of insulin-like growth factor-I receptor predict poor survival among women with clear-cell renal cell carcinomas. *Hum Pathol* 2002; 33: 801-805.

- (146). Maiorano E, Ciampolillo A, Viale G, Maisonneuve P, Ambrosi A, Triggiani V, Marra E, Perlino E. Insulin-like growth factor 1 expression in thyroid tumors. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2000; 8: 110-119.
- (147). Lukanova A, Lundin E, Toniolo P, Micheli A, Akhmedkhanov A, Rinaldi S, Muti P, Lenner P, Biessy C, Krogh V, Zeleniuch-Jacquotte A, Berrino F, Hallmans G, Riboli E, Kaaks R. Circulating levels of insulin-like growth factor-I and risk of ovarian cancer. *Int J Cancer* 2002; 101: 549-554.
- (148). Steller MA, Delgado CH, Bartels CJ, Woodworth CD, Zou Z. Overexpression of the insulin-like growth factor-1 receptor and autocrine stimulation in human cervical cancer cells. *Cancer Res* 1996; 56: 1761-1765.
- (149). Ayabe T, Tsutsumi O, Sakai H, Yoshikawa H, Yano T, Kurimoto F, Taketani Y. Increased circulating levels of insulin-like growth factor-I and decreased circulating levels of insulin-like growth factor binding protein-1 in postmenopausal women with endometrial cancer. *Endocr J* 1997; 44: 419-424.
- (150). . Liu Q. Et al. *Int J. Clin Exp Med.* 2015; 15(8): 2073-83.
- (151). . Yun Sok Lee. Et al. Increased Adipocyte O₂ Consumption Triggers HIF-1 α Causing Inflammation and Insulin Resistance in Obesity. *Cell.* 2014 June 5; 157(6): 1339–1352).
- (152). Soro-Arnaiz et al., 2016, *Cell Reports* 16, 2991–3002 September 13, 2016 a 2016 The Authors. <http://dx.doi.org/10.1016/j.celrep.2016.08.041>
- (153). Lee YS, Kim J, Osborne O, et al. Increased Adipocyte O₂ Consumption Triggers HIF-1 α Causing Inflammation and Insulin Resistance in Obesity. *Cell.* 2014;157(6):1339-1352. doi:10.1016/j.cell.2014.05.012
- (154). García-Fuentes E, Santiago-Fernández C, Gutiérrez-Repiso C, et al. Hypoxia is associated with a lower expression of genes involved in lipogenesis in visceral adipose tissue. *Journal of Translational Medicine.* 2015;13:373. doi:10.1186/s12967-015-0732-5
- (155). Kasprzak A and Adamek A: Role of hepatitis C virus proteins (C, NS3, NS5A) in hepatic oncogenesis. *Hepatol Res* 38: 1-26, 2008.
- (156). Nielsen SU, Bassendine MF, Burt AD, Bevitt DJ and Toms GL: Characterization of the genome and structural proteins of hepatitis C virus resolved from infected human liver. *J Gen Virol* 85: 1497-1507, 2004.

- (157). Cho JW, Baek WK, Suh SI, Yang SH, Chang J, Sung YC and Suh MH: Hepatitis C virus core protein promotes cell proliferation through the upregulation of cyclin E expression levels. *Liver* 21: 137-142, 2001.
- (158). Huynh H, Chow PKH, Ooi LLP and Soo KC: A possible role for insulin-like growth factor-binding protein-3 autocrine/paracrine loops in controlling hepatocellular carcinoma cell proliferation. *Cell Growth Differ* 13: 115-122, 2002.



ÖZGEÇMİŞ

Kemal GÜNDOĞDU 18.09.1984 te Ankara da doğdu. TED Kayseri Koleji, Kayseri Nuh Mehmet Küçükçalık Anadolu Lisesi, İzmir Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden mezun oldu. Kayseri 112 Acil Sağlık Hizmetleri'nde mecburi hizmetini tamamladı 2011 yılında Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi Ana Bilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak çalışmaya başladı.

