



T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



**MEME KANSERİ HASTALARINDA DOKU VE KANDAKİ  
HİPOKSİYLE İNDÜKLENEN FAKTÖR 1 DÜZEYİNİN NEOADJUVAN  
KEMOTERAPİ YANITINA ETKİSİ**

**Doktora Tezi**

Aslı ECE SOLMAZ

Temel Onkoloji Anabilim Dalı

İzmir  
2025

T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**MEME KANSERİ HASTALARINDA DOKU VE KANDAKİ  
HİPOKSiYLE İNDÜKLENEN FAKTÖR 1 DÜZEYİNİN NEOADJUVAN  
KEMOTERAPİ YANITINA ETKİSİ**

Aslı ECE SOLMAZ

Danışman  
Prof. Dr. Vildan BOZOK

Temel Onkoloji Anabilim Dalı  
Kanser Biyolojisi ve İmmunolojisi

İzmir  
2025

## Tez Değerlendirme Kurulu Üyeleri

(Adı Soyadı)

(İmza)

**Başkan** : Prof.Dr. Vildan BOZOK .....

(Danışman)

**Üye** : Prof.Dr. Ayşe CANER .....

**Üye** : Prof.Dr. Senem ALANYALI .....

**Üye** : Prof.Dr. Ayça AYKUT .....

**Üye** : Prof.Dr. Tufan ÇANKAYA .....

**Üye** : Dr. Öğr. Üyesi Zekeriya DÜZGÜN .....

Doktora Tezinin kabul edildiği tarih: 29.08.2025

## Önsöz

Doktora yolculuğum planladığımdan uzun geçti. Bu sürece bir pandemi, bir doçentlik ve bolca değişim sığıdı. Doktora sürecimde tanıştığım farklı bilim dalları ve onu icra eden insanlar bana hayata bakışımı ilelebet değiştiren bir vizyon kazandırdı. Tez sürecim de uzun, zorlu ve biraz yorucu geçti. Ama zorluklar bizi geliştirme ve dönüştürmek içindir. Sonuç olarak içindeyken çokça söylenmeme rağmen bitiş çizgisinde dönüp baktığımda iyi ki dediğim bu yolculuk için teşekkür eder, sevgilerimi sunarım.

İzmir, 3.09.2025

Aslı ECE SOLMAZ



## Özet

### **Meme kanseri hastalarında doku ve kandaki hipoksiyle indüklenen faktör 1 düzeyinin neoadjuvan kemoterapi yanıtına etkisi**

Meme kanseri, dünya genelinde kadınlarda en sık görülen kanser ve kansere bağlı ölüm nedenidir; patogenezinde hipoksi ve bununla ilişkili HIF-1 $\alpha$  aktivasyonu önemli bir rol oynamaktadır. HIF-1 $\alpha$ 'nın tümör progresyonu, anjiyogenez, metastaz ve tedavi direncindeki merkezi konumu, onu potansiyel bir terapötik hedef haline getirmektedir. Bu tez, HIF-1 $\alpha$  ekspresyonunun tümör dokusundaki ve plazma düzeylerindeki değişimlerini neoadjuvan kemoterapi (NAKT) öncesi ve sonrası dönemde değerlendirerek, bu değişimlerin tedavi yanıtı ile ilişkisini incelemeyi hedeflemiştir.

Çalışmaya dahil edilen 10 hastadan NAKT öncesi ve sonrası olmak üzere plazma örnekleri alınmış, HIF-1 $\alpha$  ve VEGF düzeyleri ELISA yöntemi ile ölçülmüştür. Aynı hastalara ait tru-cut biyopsiler ile operasyon sonrası elde edilen tümör dokuları immünohistokimyasal olarak incelenmiş ve HIF-1 $\alpha$  ekspresyonu yarı kantitatif H-skor yöntemiyle değerlendirilmiştir.

NAKT sonrası tümör dokularında HIF-1 $\alpha$  ekspresyonunda anlamlı düzeyde azalma gözlenmiş ( $p=0,006$ ), bu durum biyobelirtecin tedavi yanıtı ile ilişkili olabileceğini düşündürmüştür. Plazma HIF-1 $\alpha$  düzeylerinde tedavi sonrası ortalama %30 oranında azalma saptanmış, ancak bu değişim istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p=0,064$ ). Plazma VEGF düzeyleri, hastaların büyük çoğunluğunda ölçülemeyecek kadar düşük olduğundan değerlendirilememiştir. Tedavi öncesi plazma HIF-1 $\alpha$  düzeyleri ile doku ekspresyon skoru arasında negatif yönlü orta düzeyde bir ilişki saptanmış, ancak bu korelasyon anlamlılığa ulaşmamıştır.

ROC analizi sonucunda, plazma HIF-1 $\alpha$  düzeylerinin tedavi yanıtını öngörmede sınırlı bir ayırt edici güce sahip olduğu ( $AUC=0.622$ ) gösterilmiştir. Ayrıca, tedavi sonrası HIF-1 $\alpha$  H-skorları ile tümör evresi ve lenf nodu pozitifliği arasında anlamlı pozitif korelasyon bulunmuştur. Bu bulgular, HIF-1 $\alpha$ 'nın prognostik açıdan değerli bir biyobelirteç olabileceğini ve tedavi yanıtını öngörmede potansiyel bir rol oynayabileceğini ortaya koymaktadır.

Sonuç olarak, meme kanserinde HIF-1 $\alpha$  ekspresyonunun hem sistemik hem de lokal düzeyde değerlendirilmesi, tedaviye yanıtın izlenmesi ve prognostik sınıflamada

yardımcı olabilecek önemli bir yaklaşımdır. HIF-1 $\alpha$ 'yı hedef alan tedavi stratejileri, gelecekte neoadjuvan tedaviye yanıtı artırmak ve kişiselleştirilmiş tedavi modelleri geliştirmek açısından umut vaat etmektedir.

**Anahtar Kelimeler;** Meme kanseri; Hipoksiyle İndüklenebilir Faktör 1 (HIF1); Neoadjuvan Tedavi



## Abstract

### **Impact of Hypoxia-Inducible Factor 1 Levels in Tissue and Blood on the Response to Neoadjuvant Chemotherapy in Breast Cancer Patients**

Breast cancer is the most commonly diagnosed cancer and the leading cause of cancer-related mortality among women worldwide. Hypoxia and the associated activation of hypoxia-inducible factor-1 alpha (HIF-1 $\alpha$ ) play a critical role in its pathogenesis. Due to its central role in tumor progression, angiogenesis, metastasis, and treatment resistance, HIF-1 $\alpha$  has emerged as a potential therapeutic target.

This thesis aimed to evaluate the changes in HIF-1 $\alpha$  expression levels in both tumor tissue and plasma before and after neoadjuvant chemotherapy (NACT), and to investigate the relationship between these changes and treatment response.

Plasma samples were collected from 10 patients before and after NACT, and HIF-1 $\alpha$  and VEGF levels were measured using the ELISA method. Tumor tissues obtained from tru-cut biopsies prior to treatment and post-treatment surgical specimens were examined immunohistochemically, and HIF-1 $\alpha$  expression was assessed semi-quantitatively using the H-score method.

A statistically significant decrease in HIF-1 $\alpha$  expression was observed in tumor tissues following NACT ( $p = 0.006$ ), suggesting that this biomarker may be associated with treatment response. Although an average reduction of approximately 30% in plasma HIF-1 $\alpha$  levels was observed post-treatment, this change did not reach statistical significance ( $p = 0.064$ ). Plasma VEGF levels were undetectable in the majority of patients and thus could not be evaluated. A moderate negative correlation was found between pre-treatment plasma HIF-1 $\alpha$  levels and tissue expression scores, although this correlation was not statistically significant.

Receiver operating characteristic (ROC) analysis indicated that plasma HIF-1 $\alpha$  levels had limited discriminatory power in predicting treatment response (AUC = 0.622). Additionally, post-treatment HIF-1 $\alpha$  H-scores were significantly and positively correlated with tumor stage and lymph node positivity. These findings suggest that HIF-1 $\alpha$  may be a valuable prognostic biomarker and could play a potential role in predicting response to treatment.

In conclusion, assessing HIF-1 $\alpha$  expression at both systemic and local levels in breast cancer may serve as an important approach for monitoring treatment response

and aiding in prognostic classification. Targeting HIF-1 $\alpha$  may hold promise for enhancing response to neoadjuvant therapy and developing personalized treatment strategies in the future.

**Keywords;** Breast Cancer; Hypoxia-Inducible Factor 1; Neoadjuvant Therapy



## İçindekiler

Önsöz.....	II
Özet.....	III
Abstract.....	V
İçindekiler .....	VII
Tablolar Dizini.....	VIII
Şekiller Dizini .....	IX
Kısaltma Listesi .....	X
Giriş.....	1
1.1. Araştırmanın Problemi.....	1
1.2. Araştırmanın Sorusu .....	1
1.3. Araştırmanın Hipotezleri .....	1
1.4. Araştırmanın Varsayımları.....	2
1.5. Araştırmanın Sınırlılıkları .....	2
1.6. Araştırmanın Amacı .....	2
Genel Bilgiler .....	3
2.1 Meme Kanseri: Epidemiyoloji, Risk Faktörleri ve Patofizyolojisi.....	3
2.2 Meme Kanserinin Moleküler Alt Tipleri .....	3
2.3 Meme Kanseri: Tarama, Tanı ve Yönetim .....	5
2.3.1 Neoadjuvan Kemoterapi.....	6
2.3.2 Meme Kanseri Cerrahisi .....	7
2.4 Tümör Hipoksisi.....	7
2.4.1 Hipoksiyle İndüklenebilir Faktörler (HIF).....	8
2.4.2 HIF-1 $\alpha$ 'nın Düzenlenmesi ve Kanserdeki Fonksiyonu .....	9
2.4.3 Meme Kanserinde Hipoksiye Bağlı Prognostik Faktörler .....	10
Gereç ve Yöntem .....	12
Bulgular.....	18
Tartışma .....	40
Sonuç ve Öneriler .....	51
Kaynaklar .....	54
Ekler .....	60
Teşekkür .....	64
Özgeçmiş .....	64

## Tablolar Dizini

Tablo 1. Meme kanserinin immünohistokimyasal alt tipleri .....	4
Tablo 2. TNM evrelendirmesi tanımları .....	5
Tablo 3. Neoadjuvan kemoterapi şeması .....	18
Tablo 4. Hastaların klinik ve patolojik özellikleri .....	20
Tablo 5. HIF-1 $\alpha$ ve VEGF ELISA sonuçları .....	22



## Şekiller Dizini

Şekil 1 VEGF için standart sulandırma aşamaları (Cusabio kullanım kılavuzundan alınmıştır).....	14
Şekil 2 HIF-1 $\alpha$ için standart sulandırma aşamaları (Cusabio kullanım kılavuzundan alınmıştır).....	15
Şekil 3. Tedavi yanıtı gruplarına göre yaş dağılımı grafiği .....	21



## Kısaltma Listesi

HIF-1 $\alpha$	:	Hipoksiyle İndüklenen Faktör 1 alfa
VEGF	:	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
NAKT	:	Neoadjuvan Kemoterapi
ER	:	Östrojen Reseptörü
PR	:	Progesteron Reseptörü
HER2	:	İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü 2
ELISA	:	Enzim Bağlantılı İmmünosorbent Analizi (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)
IHC	:	İmmünohistokimya
H&E	:	Hematoksilen-Eozin Boyama
ROC	:	Alicı Operatör Karakteristiği (Receiver Operating Characteristic)
AUC	:	Eğri Altı Alan (Area Under the Curve)
DCIS	:	Duktal Karsinoma In Situ
LCIS	:	Lobüler Karsinoma In Situ
TNBC	:	Üçlü Negatif Meme Kanseri
VHL	:	Von Hippel-Lindau
ARNT	:	Aryl Hidrokarbon Reseptör Nükleer Translokatorü (Aryl Hydrocarbon Receptor Nuclear Translocator)

## Giriş

Giriş; araştırmanın konusunu, problemini, sorusunu, hipotezlerini, varsayımlarını, sınırlılıklarını, tanımlarını, araştırmanın amacını ve ilgili literatürün bir bağlam çerçevesinde sunulduğu genel bilgileri içerir.

### 1.1. Araştırmanın Problemi

Meme kanseri, kadınlarda en sık görülen malignite olup hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde kanser kaynaklı ölümlerin başında gelmektedir. Hipoksi, tümörlerin büyüme, invazyon ve tedaviye direnç gibi kritik süreçlerinde temel bir rol oynamaktadır. Hipoksi ile ilişkili HIF-1 $\alpha$  (Hipoksiyle İndüklenen Faktör 1 alfa - Hypoxia-Inducible Factor-1 alpha) transkripsiyon faktörü, özellikle tümör mikroçevresinde adaptasyon mekanizmalarını düzenleyerek, tümör hücrelerinin hayatta kalmasını ve progresyonunu desteklemektedir. Mevcut literatür, HIF-1 $\alpha$ 'nın prognostik değer taşıyan bir biyobelirteç olabileceğini ve tedavi yanıtı üzerinde belirleyici olabileceğini ortaya koymaktadır. Ancak, HIF-1 $\alpha$  ekspresyonunun neoadjuvan kemoterapi (NAKT) sürecindeki dinamik değişimi ve bu değişimlerin tedavi yanıtı ile ilişkisinin kapsamlı olarak değerlendirildiği çalışmalar sınırlıdır. Bu araştırma, söz konusu boşluğu doldurmayı ve HIF-1 $\alpha$ 'nın klinik kullanıma yönelik potansiyelini ortaya koymayı amaçlamaktadır.

### 1.2. Araştırmanın Sorusu

NAKT uygulanan meme kanseri hastalarında, tedavi öncesi ve sonrası dönemde HIF-1 $\alpha$  ekspresyonunun plazma ve tümör dokusu düzeylerinde değişimi ve bu değişimlerin tedavi yanıtı ile ilişkisi nedir?

### 1.3. Araştırmanın Hipotezleri

- **H1:** Neoadjuvan kemoterapi plazma ve tümör dokusunda HIF-1 $\alpha$  ekspresyonunu etkiler.
- **H2:** Tedavi sonrası HIF-1 $\alpha$  düzeylerindeki değişim, tedavi yanıtı ile ilişkilidir.
- **H3:** HIF-1 $\alpha$  ifadesi, tümör evresi ve lenf nodu tutulumu gibi klinikopatolojik parametrelerle korelasyon gösterir.

#### **1.4. Araştırmanın Varsayımları**

- ELISA (enzim bağlantılı immünosorbent analizi) ve immünohistokimya yöntemleri, HIF-1 $\alpha$  ve VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor - Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü) düzeylerini doğru ve güvenilir bir şekilde ölçmektedir.
- Çalışmaya dahil edilen hastaların tedaviye uyumları ve uygulanan protokoller homojendir.
- Plazma ve doku örneklerinden elde edilen biyobelirteç düzeyleri, hastalığın biyolojik durumunu yansıtmaktadır.
- Klinik ve patolojik veriler eksiksiz ve doğru şekilde kaydedilmiştir.

#### **1.5. Araştırmanın Sınırlılıkları**

- Hasta sayısının sınırlı olması (n=10), istatistiksel güç üzerinde kısıtlayıcı bir etkendir.
- Bazı örneklerde biyopsi materyalinin yetersiz olması nedeniyle immünohistokimyasal analiz yapılamamıştır.
- HIF-1 $\alpha$  düzeyleri dışındaki hipoksik biyobelirteçlerin çalışılmaması, bulguların genellenebilirliğini kısıtlamaktadır.

#### **1.6. Araştırmanın Amacı**

Bu araştırmanın temel amacı, neoadjuvan kemoterapi alan meme kanseri hastalarında HIF-1 $\alpha$  ekspresyon düzeylerinin plazma ve tümör dokusunda tedavi öncesi ve sonrası dönemdeki değişimini değerlendirmek ve bu değişimlerin tedavi yanıtı ile ilişkisini ortaya koymaktır.

## Genel Bilgiler

### 2.1 Meme Kanseri: Epidemiyoloji, Risk Faktörleri ve Patofizyolojisi

Meme kanseri, dünya genelinde en sık teşhis edilen kanser türü olup, kadınlarda kansere bağlı ölümlerin başlıca nedenidir (Bray et al., 2024). Her 8 kadından 1'i yaşamı boyunca meme kanserine yakalanmaktadır; en sık 60–69 yaş aralığında gözlemlenmektedir. Yaş ve kadın cinsiyeti en yaygın risk faktörleri arasında yer almaktadır (Siegel, Giaquinto, & Jemal, 2024). Diğer risk faktörleri arasında erken menarş, geç menapoz, hiç doğum yapmamış olmak, ilk gebeliğin geç yaşta gerçekleşmesi, kişisel ve/veya ailesel meme kanseri öyküsü bulunmaktadır (Majeed et al., 2014).

Meme kanseri patolojisi genellikle meme kanallarına veya lobüllerine ait epitel hücrelerin hiperplazisi ile başlamakta ve zamanla invaziv karsinom gelişimine ilerlemektedir. Daha nadir olarak, anjiyosarkom, primer stromal sarkomlar ve filloid tümörler gibi invaziv meme karsinomları, destekleyici stromanın epitel dışı hücrelerinden kaynaklanmaktadır. Meme karsinomunun en yaygın alt tipi, in situ karsinomların yaklaşık %85'ini oluşturan duktal karsinom in situ (DCIS)'dir. DCIS genellikle mamografide tespit edilebilen mikrokalsifikasyonlar şeklinde belirti verir ve tipik olarak tek memede küçük, odaklanmış bir alanda bulunur. Buna karşılık, lobüler karsinom in situ (LCIS) meme lobüllerinden kaynaklanır, genellikle çok odaklı ve iki taraflıdır. LCIS mikrokalsifikasyon oluşturmadığı için mamografik olarak saptanması zordur. Hem DCIS hem de LCIS, invaziv karsinom gelişme riskini önemli ölçüde artırmaktadır (Majeed et al., 2014). İnvaziv karsinomların en yaygın tipi adenokarsinomdur; bunların %80'i invaziv duktal tipten kaynaklanır. Diğer histolojik varyantlar arasında lobüler karsinom, nadiren görülen ve invaziv kanserlerin %6'sını oluşturan medüller karsinom, papiller, tübüler ve müsinöz karsinomlar bulunmaktadır. İnflamatuvar meme kanseri, hızlı bir şekilde lenf nodlarına yayıldığı için agresif seyirli ve ölümcül bir kanser türüdür.

### 2.2 Meme Kanserinin Moleküler Alt Tipleri

Biyolojik belirteçlerin gen ekspresyon profiline dayalı olarak meme kanseri; luminal A, luminal B, Her-2 zenginleştirilmiş ve üçlü negatif ya da bazal benzeri olmak üzere

dört moleküler alt tipe ayrılmıştır (Howlader, Cronin, Kurian, & Andridge, 2018) (Tablo 1).

Luminal A, en yaygın alt tip olup tüm meme kanserlerinin yaklaşık %30–70'ini oluşturur. Bu tip; luminal epitelyal genlerin, östrojen reseptörü (ER) ve progesteron reseptörünün (PR) yüksek düzeyde, insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2'nin (Her-2) ise düşük düzeyde ya da Ki-67 proliferasyon indeksinin <%15 oranında düşük düzeyde ekspresyonu ile karakterizedir (Norum, Andersen, & Sørli, 2014). Luminal A tümörler genellikle iyi prognoza sahiptir ve hormon/endojen tedaviye iyi yanıt verir (Fragomeni, Sciallis, & Jeruss, 2018). Nüks oranı, diğer alt tiplere kıyasla belirgin şekilde daha düşüktür (van Maaren et al., 2019).

Tablo 1: Meme kanserinin immünohistokimyasal alt tipleri

Alt Tip	Tanım	Sıklık	Prognoz
Luminal A	ER/PR (+), Her-2 (-), düşük Ki-67 (<%15)	%30–70	İyi
Luminal B	ER/PR (+), Her-2 (-), yüksek Ki-67 (>%15)	%10–20	Orta
Her-2	ER/PR (-), Her-2 (+)	%5–15	Kötü
TNBC	ER, PR ve Her-2 (-)	%15–20	Kötü

Luminal B tümörler, meme kanserlerinin %10–20'sini oluşturur. Bu alt tip, yüksek düzeyde ER, PR ve Ki-67 ekspresyonu (> %15) ile Her-2 pozitif ya da negatif olarak tanımlanır (Norum et al., 2014). Luminal A'ya kıyasla, luminal B tümörler daha agresif fenotipe, daha yüksek histolojik dereceye, mitotik aktiviteye sahiptir ve daha kötü prognoz gösterirler (Creighton, 2012).

Dünya genelinde meme kanserlerinin yaklaşık %5–15'i Her-2 geninin aşırı ekspresyonunu gösterir. Her-2 pozitifliği, daha agresif biyolojik ve klinik özelliklerle ilişkilidir. Bu tümörler yüksek mitotik sayıya, yüksek tümör derecesine, lenf nodu pozitifliğine ve daha kötü klinik sonuçlara sahiptir (Nassar, Koor, Radhakrishnan, Radhakrishnan, & Cohen, 2014; van Maaren et al., 2019). Bu tümörler kemoterapiye

(Mueller, Haymond, Davis, Williams, & Espina, 2018) ve endokrin tedaviye (Leitzel et al., 1995) düşük yanıt verirler, ancak anti-Her-2 antikoları veya küçük molekül inhibitörleri ile tedavi edilebilirler (Dai et al., 2015).

Üçlü Negatif Meme Kanseri (TNBC) alt tipi, tüm meme kanserlerinin %15–20'sini oluşturur. TNBC, üç yaygın hedeflenen biyobelirteç olan ER, PR ve Her-2'nin ekspresyonunun negatif olmasıyla tanımlanır (Prat et al., 2014). Yüksek histolojik ve nükleer derece, zayıf tübül oluşumu, merkezi nekrotik ya da fibrotik bölgelerin varlığı, yüksek proliferatif indeks ve belirgin lenfosit infiltrasyonu ile ilişkilidir. Bu tümörlerin çoğu, agresif klinik davranış ile yüksek metastaz oranına sahip infiltratif duktal tümörlerdir (Heitz et al., 2009).

### **2.3 Meme Kanseri: Tarama, Tanı ve Yönetim**

Amerikan Kanser Ortak Komitesi'nin (AJCC) TNM evreleme sistemi, hem klinik hem de patolojik verileri kullanarak hastaların prognozunu belirlemeye yardımcı olur (Giuliano et al., 2017). Hastalar; birincil tümörlerin sayısı ve yeri, aksiller lenf nodu tutulumu ve uzak metastaz durumlarına göre evre 0'dan IV'e kadar sınıflandırılır (Tablo 2).

Tablo 2. TNM evrelendirmesi tanımları

<b>Evre</b>	<b>Primer Tümör</b>	<b>Bölgesel Lenf Nodu Durumu</b>	<b>Uzak Metastaz</b>
<b>0</b>	Tis (in situ tümör)	N0 (Bölgesel lenf nodlarında kanser yok)	M0 (Uzak metastaz yok)
<b>I</b>	T1 (Tümör ≤ 2 cm)	N0	M0
<b>I</b>	T0 (Primer tümör belirlenmemiş)	N1 (Bölgesel 1-3 lenf noduna metastaz)	M0
<b>IIA</b>	T1	N1	M0
<b>IIA</b>	T2 (Tümör ≥ 2 cm fakat < 5 cm)	N0	M0
<b>IIB</b>	T2	N1	M0
<b>IIB</b>	T3 (Tümör ≥ 5 cm)	N0	M0
<b>IIIA</b>	T0	N2 (Bölgesel 4-9 lenf noduna metastaz)	M0
<b>IIIA</b>	T1	N2	M0
<b>IIIA</b>	T2	N2	M0
<b>IIIA</b>	T3	N1 / N2	M0
<b>IIIB</b>	T4 (Herhangi bir boyutta tümör, göğüs duvarı veya deriye yayılım gösteren)	Herhangi bir N	M0
<b>IIIC</b>	Herhangi bir T	N3 (≥ 10 lenf noduna metastaz)	M0
<b>IV</b>	Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1 (Uzak metastaz var)

### 2.3.1 Neoadjuvan Kemoterapi

Neoadjuvan kemoterapi (NAKT), tümör boyutunu küçültmek ve meme koruyucu cerrahi oranını artırmak amacıyla cerrahiden önce uygulanan kemoterapiyi tanımlamak için kullanılır. Tarihsel olarak, NAKT erken evre ve lokal ileri evre kanserlerin, özellikle de opere edilemeyen ve inflamatuvar meme kanserlerinin tedavisinde kullanılmıştır (Sikov, 2000). Lokal ileri meme kanseri tedavisinde NAKT kullanımının çeşitli avantajları bulunmaktadır. Bunlar arasında cerrahiden önce tümör progresyonunun azaltılması, diğer kemoterapötik ajanlara karşı çapraz direnç oranının düşürülmesi ve operasyonla ilişkili morbiditenin azaltılması yer almaktadır. NAKT, hastaliksız sağkalım süresi ve genel sağkalım oranında artış ile ilişkilidir. Yapılan çalışmalarda, tümörün özelliklerine bağlı olarak %18 ila %50 arasında değişen patolojik tam yanıt oranları bildirmiştir (Cortazar et al., 2014).

### 2.3.2 Meme Kanseri Cerrahisi

Birincil tümörün cerrahi olarak çıkarılması, meme kanseri tedavisinin temel bileşenlerinden biri olmaya devam etmektedir. Geleneksel olarak, memenin ve aksiller lenf nodlarının tamamen çıkarıldığı radikal mastektomi cerrahinin temel hedefiydi. Ancak son on yılda, tedavi etkinliğini en üst düzeyde tutarken memenin korunmasına yönelik yaklaşımlar cerrahi uygulamalarda ön plana çıkmıştır. Yukarıda da tartışıldığı üzere, erken evre veya lokal olarak ileri evredeki meme kanseri olgularında cerrahi tedavi sıklıkla neoadjuvan kemoterapiyi takiben uygulanmaktadır. Tümör boyutunun küçültülmesi amacıyla uygulanan NAKT, meme koruyucu cerrahiye mümkün kılmaktadır (Daveau et al., 2011).

### 2.4 Tümör Hipoksisi

Tümör hipoksisi, hücrel oksijen tüketimi ile hücrelere sağlanan oksijen arzı arasındaki dengesizlikten kaynaklanmaktadır (Vaupel, 2008). Yapılan araştırmalar, solid tümörlerin yaklaşık %50–60'ının hipoksi bölgeleri içerdiğini ortaya koymuştur (Vaupel & Mayer, 2007). Daha önceki bir çalışmada ise, lokal olarak ileri evre meme kanserlerinin yaklaşık %25–40'ında hipoksi gözlemlendiği rapor edilmiştir (Lundgren, Holm, & Landberg, 2007). Hipoksi, perfüzyon veya difüzyonla ilişkili faktörlerden kaynaklanabilir. Perfüzyonla ilişkili (akut) hipoksi, yapısal ve işlevsel olarak anormal kanser damarlarının neden olduğu yetersiz kan akışı sonucunda gelişirken; difüzyonla ilişkili (kronik) hipoksi, tümörün büyümesiyle artan difüzyon mesafeleri nedeniyle ortaya çıkar (Vaupel, 2008). Kanser hücreleri, oksijen konsantrasyonlarının sürekli değiştiği bir ortamda yer alırlar ve bu nedenle solid tümörler üç farklı doku bölgesinden oluşur: normoksik, hipoksik ve nekrotik bölgeler. İşlevsel kan damarlarına yakın konumlanan normoksik hücreler genellikle canlı ve proliferatifken, kan damarlarından uzakta bulunan hücreler anoksik hale gelebilir ve bu durum nekroz alanlarının oluşmasına neden olabilir.

Hipoksi, tümör hücrelerinde hem proteomik hem de genomik düzeyde değişiklikleri tetikler. Kanser hücrelerinin hipoksik strese yanıtı, anaerobik glikolizi kolaylaştırarak düşmanca mikroskobik çevreden kaçmalarını sağlayan proteomik değişiklikleri içerir; bu yanıtlar artan proliferasyon, anjiyogenez, apoptoz ve diğer hücre ölüm sinyallerine karşı azalmış duyarlılık, bağışıklık sistemi saldırısından kaçış, sınırsız replikatif potansiyel kazanımı ve bu sayede invazyon ya da metastatik yayılım gibi süreçleri

kapsar (Vaupel & Harrison, 2004). Ayrıca hipoksi, genomik kararsızlığı artırarak mutasyon sayısının artmasına neden olur. Moleküler düzeyde bakıldığında, tümör hücrelerinin hipoksik strese adaptasyonu büyük ölçüde hipoksiyle indüklenen faktörler (HIF) tarafından düzenlenmektedir; bu faktörler, hipoksi kaynaklı stres yanıtının temel düzenleyicileridir.

#### 2.4.1 Hipoksiyle İndüklenebilir Faktörler (HIF)

İnsanlarda üç HIF ailesi üyesi tanımlanmıştır: HIF-1, HIF-2 ve HIF-3. Bu heterodimer yapılar, bir  $\alpha$  alt birimi ve bir  $\beta$  alt biriminden oluşmaktadır (Semenza, 2012). Bu üç izoformdan en sık olarak tümör hücrelerinde aşırı eksprese edilen HIF-1'dir (Weidemann & Johnson, 2008).

HIF-1, nükleer HIF-1 $\beta$  alt birimi olan ve sürekli olarak eksprese edilen aril hidrokarbon reseptörü nükleer translokatorü (ARNT) ile O<sub>2</sub>-regülasyonuna tabi olan HIF-1 $\alpha$  alt biriminden oluşan bir heterodimerdir (Wang, Jiang, Rue, & Semenza, 1995). HIF-1 $\alpha$  alt birimi, iki transaktivasyon domaini (C-TAD ve N-TAD) içerir. C-TAD, HIF-1 $\alpha$  hedef genlerinin transkripsiyonunu düzenlemek üzere CREB bağlayıcı protein (CBP)/P300 gibi ko-aktivatorlerle etkileşime girebilir. N-TAD ise HIF-1 $\alpha$ 'nın degradasyona karşı stabilizasyonunda rol oynar. Ayrıca, sadece HIF-1 $\alpha$  alt birimi, O<sub>2</sub>-bağımlı degradasyonu sağlayan oksijen-bağımlı degradasyon domaini içerir; HIF-1 $\beta$  bu domaini taşımaz. HIF ailesinin ilk tanımlanan üyesi HIF-1 $\alpha$  olup, 1992 yılında Semenza ve Wang tarafından keşfedilmiştir (Semenza & Wang, 1992).

HIF-2 $\alpha$ , HIF ailesinin tanımlanan ikinci üyesidir ve HIF-1 $\alpha$  ile yaklaşık %48 oranında amino asit dizisi benzerliği göstermektedir (Ema et al., 1997). Bu benzerlik, her iki proteinin de HIF- $\beta$  ile heterodimer oluşturma, hipoksi yanıt elementlerine bağlanma ve gen ekspresyonunu indükleme yeteneklerini açıklayabilir (Hu, Wang, Chodosh, Keith, & Simon, 2003). HIF-1 $\alpha$  yaygın olarak eksprese edilirken, HIF-2 $\alpha$  ekspresyonu daha çok belirli dokularla sınırlıdır (Hu et al., 2003). Genel olarak, bu iki izoform hipoksiye farklı biyolojik mekanizmalar aracılığıyla yanıt verir. HIF-1 $\alpha$  aracılığıyla işleyen mekanizmalar, tümör büyümesini, malign progresyonu ve çeşitli genlerin düzenlenmesini desteklerken (Vaupel, Mayer, Briest, & Höckel, 2005), HIF-2 $\alpha$  bazı HIF-1 $\alpha$  hedef genlerini aktive eder. HIF-1 $\alpha$  ve HIF-2 $\alpha$ , VEGF gibi bazı ortak hedeflere sahiptirler (Loboda, Jozkowicz, & Dulak, 2010).

## 2.4.2 HIF-1 $\alpha$ 'nın Düzenlenmesi ve Kanserdeki Fonksiyonu

Normoksik koşullarda HIF-1 $\alpha$ , oksijen-bağımlı degradasyon domaini içerisindeki prolin kalıntılarının (Pro402 ve/veya Pro564) prolin hidroksilazlar tarafından hidroksillenmesi sonucunda VHL (Von Hippel-Lindau) proteini tarafından tanınarak ubiquitin-proteazom yolu aracılığıyla hızla yıkıma uğrar (Masoud & Li, 2015).

Hipoksik koşullarda ise bu oksijen-bağımlı hidroksilasyon gerçekleşmez; bu durum HIF-1 $\alpha$ 'nın stabilizasyonuna, hücrede birikmesine ve nükleusa translokasyonuna yol açar. HIF-1 $\alpha$ , glukoz metabolizması, pH regülasyonu, hücre proliferasyonu, anjiyogenez, metastaz ve tedavi direnci gibi birçok biyolojik süreci yönlendiren genlerin ekspresyonunu indükler (Masoud & Li, 2015).

Daha önce yapılan bir kanser hücre dizisi taramasına göre, tümörlerde normoksik koşullar altında HIF-1 $\alpha$  stabilizasyonunun yaklaşık %50 oranında gözlemlendiği bildirilmiştir (Robey, Lien, Welsh, Baggett, & Gillies, 2005). HIF-1 $\alpha$ , hipoksiden bağımsız olarak da stabilize edilebilir; örneğin, Krebs döngüsü metabolitlerinden süksinat ve fumaratın birikimi, prolin hidroksilaz aktivitesini inhibe ederek ya da hücre içi pirüvat ve laktat birikimi ile HIF-1 $\alpha$  stabilizasyonunu artırmaktadır (Semenza, 2010)(Ippolito, Morandi, Giannoni, & Chiarugi, 2019).

Buna ek olarak, HIF-1 $\alpha$  hipoksiden bağımsız olarak bazı onkogenlerin düzensizleşmesiyle de stabilize edilebilir. Örneğin, kanser hücrelerinde c-myc geninin amplifikasyonu, HIF-1 $\alpha$ 'nın pVHL kompleksiyle bağlanmasını azaltarak degradasyonunu engellemekte ve sonuç olarak meme tümör hücrelerinde normoksik koşullar altında HIF-1 $\alpha$ 'nın stabilizasyonuna yol açmaktadır (Doe, Ascano, Kaur, & Cole, 2012).

HIF-1 $\alpha$ , ayrıca mRNA transkripsiyonu ve protein sentezi yoluyla da düzenlenebilmektedir. PI3K/Akt/mTOR yolunun aktivasyonu, mTOR bağımlı HIF-1 $\alpha$  transkripsiyonunu ve translasyonunu artırarak bu süreci desteklemektedir (Zhong et al., 2000). Bu yolakta meydana gelen herhangi bir anormal uyarılma —hormonlar, büyüme faktörleri ya da artmış reaktif oksijen türleri (ROS) konsantrasyonları aracılığıyla— normoksik koşullarda bile HIF-1 $\alpha$ 'nın uyarılmasına neden olmaktadır (Zhong et al., 2000).

### 2.4.3 Meme Kanserinde Hipoksiye Bağlı Prognostik Faktörler

Tümör mikroçevresindeki hipoksi, hipoksi yolaklarının aktivasyonu ve agresif malign fenotipler arasındaki ilişkiler, çeşitli kanser türlerinde gözlemlenmiştir. Daha önceki çalışmalarda, HIF-1 $\alpha$  ve HIF-2 $\alpha$ 'nın birçok insan tümöründe sıklıkla aşırı eksprese edildiği bildirilmiştir (Talks et al., 2000). Meme kanserinde HIF-1 $\alpha$ 'nın aşırı ekspresyonunun; artmış tümör boyutu, ileri tümör evresi, yüksek histolojik grade, metastaz ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Yamamoto et al., 2008). Ayrıca hem lenf nodu pozitif hem de negatif hastalıkta Her-2 pozitif ve ER pozitif olgularla pozitif ilişki gösterdiği rapor edilmiştir (Bos et al., 2003; Generali et al., 2006a; Giatromanolaki et al., 2004; Schindl et al., 2002). Klinik olarak, yüksek HIF-1 $\alpha$  ekspresyonu, tümör progresyonu ve kötü prognoz ile ilişkilidir (Dales et al., 2005; Generali et al., 2006b; Kronblad, Jirström, Rydén, Nordenskjöld, & Landberg, 2006; Yamamoto et al., 2008). HIF-1 $\alpha$ 'nın aşırı ekspresyonu, ER pozitif meme kanserinde azalmış hastalısız sağkalım ile ilişkili bağımsız bir prognostik faktör olarak tanımlanmıştır (Shamis, Quinn, Mallon, Edwards, & McMillan, 2022). Üçlü negatif meme kanserleri, sıklıkla hipoksiye morfolojik kanıt oluşturan santral fibrozis ve nekroz gösterdiğinden, bu tümörlerde yüksek HIF-1 $\alpha$  ekspresyonu beklenmektedir (Yan, Rayoo, Takano, Thorne, & Fox, 2009). Sitotoksik kemoterapi ile HIF inhibitörlerinin kombinasyonunun, TNBC tedavisinde hasta sağkalımını iyileştirebileceğine dair çalışmalar mevcuttur (Semenza, 2016).

Hipoksinin kanser tedavilerine karşı direnç gelişimini teşvik edebileceği öne sürülmektedir (Generali et al., 2006a; Gilreath, Boerma, Qin, Hudson, & Wang, 2021). Bu nedenle, deneysel kanser araştırmaları ve klinik onkolojide, hipoksiyi tespit edebilecek güvenilir belirteçlerin geliştirilmesi uzun süredir hedeflenmektedir. İmmünohistokimya, tümör biyopsilerinde HIF-1 $\alpha$  endojen hipoksi belirteçlerinin değerlendirilmesi için güvenilir bir yöntemdir. Meme kanseri hastalarında plazma HIF-1 $\alpha$  düzeylerinin kontrol gruba göre yüksek olduğu tespit edilmiştir (Abdelgalil et al., 2024; Cai et al., 2016). Ayrıca meme kanseri hastalarında yüksek plazma HIF-1 $\alpha$  düzeylerinin daha agresif tümör özellikleriyle, daha kısa hastalısız ve genel sağkalım süreleriyle ilişkili olduğu gösterilmiştir (Cai et al., 2016). Kişiselleştirilmiş tıp çağında, anti-hipoksik ilaçların tek başına ya da mevcut tedavi rejimleriyle kombinasyon hâlinde meme kanseri hastalarının sağkalımını etkisini belirlemek için klinik

alışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bireysel hastalık seyirlerini daha derinlemesine anlayabilmek ve bunları daha doğru öngörebilmek için, hipoksinin meme kanseri gelişimindeki kritik rolünün araştırılması büyük önem taşımaktadır. Bu bilgi, ileride her bir hasta için uygun tedavi stratejilerinin geliştirilmesi ve uygulanmasında temel oluşturacaktır.



## Gereç ve Yöntem

### 3.1 Hasta seçimi

Çalışmamıza Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'ne Eylül 2023-Ocak 2025 tarihleri arasında başvuran uzak organ metastazı olmayan ancak cerrahi öncesi NAKT alması gereken hastalar dahil edilmiştir.

Çalışmamız için Ege Üniversitesi Tıbbi Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (Onay Kararı 22-12T/46). Çalışmaya dahil edilen kişiler sözlü ve yazılı olarak bilgilendirilmiş, tüm katılımcılardan imzalı bilgilendirilmiş gönüllü olur formu alınmıştır.

Araştırmada yer alan bireylerin/hastaların seçilme/ dahil edilme kriterleri:

- Cerrahi öncesi NAKT alma endikasyonu olması. Bunlar:
  - Lokal ileri meme kanseri tanısı almış olmak.
  - HER2 pozitif meme kanseri tanısı almış olmak.
  - Üçlü negatif meme kanseri tanısı almış olmak.
- 18 yaşından büyük olmak.
- Biyopsi örneğinde yeterli materyal bulunması.

Araştırmada yer alan bireylerin/hastaların çalışmadan dışlanma kriterleri:

- Uzak metastaz saptanması.
- 18 yaşından küçük olmak.
- Tanı anında ve altıncı ayda hastanın kan vermemesi.

### 3.2 Plazmadan ELISA ile HIF-1 $\alpha$ ve VEGF ölçümü

Hastalardan tanı anında ve altıncı ayda EDTA'lı tüplere periferik venöz kan örnekleri alındı. Kan tüpleri 30 dk. içinde 1000g'de 15 dakika santrifüj edildi. Plazma temiz bir ependorf tüpe toplandı ve çalışmaya kadar -20 °C'de saklandı.

VEGF ve HIF-1A için ELISA çalışmasının uygulanışı:

Reaktif hazırlığı (VEGF)

1. Biotin-konjuge antikor (1x):

Kullanımdan önce tüp santrifüjlendi.

Biotin-antikor 1:100 oranında seyreltildi.

2. HRP-avidin (1x):

Kullanımdan önce tüp santrifüjlendi.

HRP-avidin 1:100 oranında seyreltildi.

3. Yıkama Tamponu (1x):

500 ml 1x Yıkama Tamponu hazırlanması için 20 ml distile su ile seyreltildi.

4. Standart:

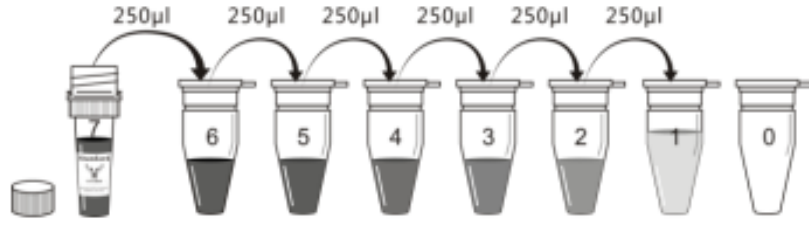
Standart tüpü 6000 rpm'de 30 saniye santrifüjlendi.

Liyofilize standart, 1 ml örnek seyreltici ile çözündürüldü.

Tamamen çözünmesini sağlamak için standart tüpü çalkalayıcıda 15 dakika bekletildi.

2000 pg/ml konsantrasyonunda bir stok standart oluşturuldu.

Seri dilüsyon hazırlığı için her tüpe (S0–S6) 250  $\mu$ l örnek seyreltici eklendi. Stok çözeltiden başlayarak 2 kat seri dilüsyonlar hazırlandı. Seyreltilmemiş standart, en yüksek standart olarak (2000 pg/ml) kullanıldı. Sıfır standart olarak yalnızca örnek seyreltici (0 pg/ml) kullanıldı (Şekil 1).



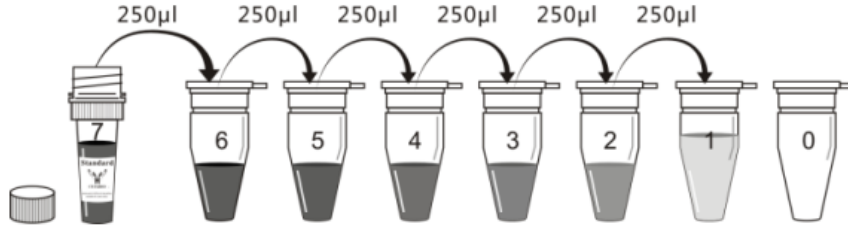
Tube	S7	S6	S5	S4	S3	S2	S1	S0
pg/ml	2000	1000	500	250	125	62.5	31.25	0

Şekil 1: VEGF için standart sulandırma aşamaları (Cusabio kullanım kılavuzundan alınmıştır)

#### Reaktif hazırlığı (HIF-1 $\alpha$ )

1. Biotin-konjuge antikor (1x):  
Kullanımdan önce tüp santrifüjlendi.  
Biotin-antikor 1:100 oranında seyreltildi.
2. HRP-avidin (1x):  
Kullanımdan önce tüp santrifüjlendi.  
HRP-avidin 1:100 oranında seyreltildi.
3. Yıkama Tamponu (1x):  
500 ml 1x Yıkama Tamponu hazırlanması için 20 ml distile su ile seyreltildi.
4. Standart:  
Standart tüpü 6000 rpm'de 30 saniye santrifüjlendi.  
Liyofilize standart, 1 ml örnek seyreltici ile yeniden çözündürüldü. Tamamen çözünmesini sağlamak için standart tüpü çalkalayıcıda 15 dakika bekletildi.  
4000 pg/ml konsantrasyonunda stok standart elde edildi.

Seri dilüsyon hazırlığı için her tüpe (S0–S6) 250 µl örnek seyreltici eklendi. Stok çözeltiden başlayarak 2 kat seri dilüsyonlar hazırlandı. Seyreltilmemiş stok standart, en yüksek standart olarak (4000 pg/ml) kullanıldı. Sıfır standart olarak yalnızca örnek seyreltici (0 pg/ml) kullanıldı (Şekil 2).



Tube	S7	S6	S5	S4	S3	S2	S1	S0
pg/ml	4000	2000	1000	500	250	125	62.5	0

Şekil 2: HIF-1 $\alpha$  için standart sulandırma aşamaları (Cusabio kullanım kılavuzundan alınmıştır)

#### ELISA Test prosedürü (VEGF ve HIF-1 $\alpha$ için)

Tüm reaktifler kullanmadan önce oda sıcaklığına (18–25 °C) getirilip bu sıcaklıkta en az 30 dakika bekletildi.

1. Reaktifler, çalışma standartları ve örnekler önceki bölümlerde tarif edildiği şekilde hazırlandı.
2. Kullanılacak kuyucuk sayısını belirlemek için test düzeni şeması hazırlandı. Tüm örnekler iki tekrarlı olarak çalışıldı.
3. Her bir kuyucuğa 100  $\mu$ l standart veya plazma örneği pipetlendi. Kit ile birlikte verilen yapışkan film ile plakanın üzeri kapatıldı. 37°C’de 2 saat inkübe edildi.
4. Tüm kuyucuklardaki sıvılar uzaklaştırıldı.
5. Tüm kuyucuklara 100  $\mu$ l Biotin-konjuge antikor (1x) eklendi. Yeni bir yapışkan film ile plakanın üzeri kapatıldı. 37°C’de 1 saat inkübe edildi.
6. Tüm kuyucuklardaki sıvı aspire edildikten sonra toplam üç kez yıkama işlemi gerçekleştirildi. Her yıkamada kuyucuklara 200  $\mu$ l yıkama tamponu eklenip 2 dakika bekletildi ve aspire edildi.
7. Her kuyucuğa 100  $\mu$ l HRP-avidin (1x) pipetlendi. Mikroplaka yeni bir yapışkan filmle kapatıldı ve 37°C’de 1 saat inkübe edildi.

8. Aspirasyon/yıkama işlemi altıncı adımda verilen şekilde beş kez tekrarlandı.
9. Her kuyucuğa 90 µl TMB substratı eklendi. 37°C’de karanlık ortamda 15–30 dakika inkübe edildi.
10. Her kuyucuğa 50 µl durdurma solüsyonu eklendi.
11. Mikrolaka spektrofotometre cihazına yerleştirildi. Beş dakika içinde her kuyucuktaki optik yoğunluk (OD) 450 nm dalga boyunda ölçüldü. Elde edilen standart eğrilere göre örneklerin içerdiği VEGF ve HIF-1α konsantrasyonları hesaplandı.

### **3.3 İmmunhistokimyasal olarak HIF-1α ölçümü**

Hastaların tanı için alınmış olan tru-cut biyopsi örneklerini ve mastektomi arşivinde tümör kesitlerini içeren slaytları tekrar değerlendirildi. Tümörü en iyi temsil ettiği düşünülen uygun slaytlar seçildikten sonra formalin tespitli parafin bloklardan 4 mikron kalınlığında kesitler hazırlandı. İmmunohistokimyasal boyama için HIF-1 Alfa poliklonal antikoru (1:300, cat. no: bs-0737R, Bioss) ve ultraView Universal DAB belirleme kiti (cat.no: 760-500, Roche) kullanıldı.

Uygulama Ventana Benchmark XP immünhistokimya cihazında aşağıda belirtilen aşamalarda yapıldı;

1. Kesitler 65 °C etüvde 2-4 saat deparafinize edildi.
2. Lamlar cihaza yüklendi ve otomatize olarak 75 °C’de deparafinizasyon işlemi yapıldı.
3. Örnekler 98 °C’de 36 dakika CC1 (Cell Conditioning 1, pH 8.5) buffer kullanılarak kaynatıldı.
4. Boyama öncesi arka plan sinyalini azaltmak amacıyla cihaz içinde %3'lük hidrojen peroksit içeren inhibitör uygulandı.
5. Primer antikor 1/300 dilüsyonda 37 °C’de 4 dakika uygulandı.
6. Sekonder antikor (ultraView Universal DAB) damlatılarak kesit minimum 36 dk bekletildi.

7. Hematoksilen ile nükleer karşı boyama yapıldı, ardından Bluing Reagent ile renk stabilizasyonu sağlandı.
8. Tüm adımlar arasında tampon solüsyonlarla otomatik yıkamalar gerçekleştirildi.
9. Boyama sonrası lamalar cihaz dışına alınarak artan alkol ve ksilen serileriyle dehidrate edilip balsam ve lamel ile kapatıldı.

İmmunhistokimyasal incelemede sitoplazmik membranöz boyanma içeren hücrelerin yüzdesi ve boyanma şiddeti (0, +1, +2, +3) değerlendirildi ve sonrasında boyanma yüzdesi ve boyanma şiddeti çarpılarak H skoru elde edildi.

### **3.4 İstatistiksel analizler**

Bu çalışmada elde edilen verilerin analizinde çeşitli istatistiksel yöntemlerden yararlanılmıştır. Pre- ve post-NAKT dönemlerine ait plazma HIF-1 $\alpha$  düzeyleri ile immünohistokimyasal HIF-1 $\alpha$  ekspresyon skorlarının karşılaştırılmasında parametrik varsayımlar doğrultusunda bağımlı örneklemeler t-testi kullanılmıştır. Klinikopatolojik değişkenler ve biyobelirteç düzeyleri arasındaki ilişkiler Pearson veya Spearman korelasyon analizleri ile değerlendirilmiştir. Ayrıca, tedavi yanıtını öngörmede plazma HIF-1 $\alpha$  düzeylerinin ayırt edici gücünü belirlemek amacıyla ROC (Receiver Operating Characteristic) analizi yapılmış ve AUC (Area Under the Curve) değeri hesaplanmıştır. Tüm istatistiksel analizler SPSS (v25.0) yazılımı ile gerçekleştirilmiş; anlamlılık düzeyi  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir.

## Bulgular

Bu çalışmada, neoadjuvan kemoterapi planlanan 10 meme kanseri hastasının tanı anında ve 6. ayda HIF-1 $\alpha$  ve VEGF plazma düzeylerinin ELISA ile ölçümü; ayrıca tru-cut biyopsi ve mastektomi dokularında HIF-1 $\alpha$  ekspresyonunun immünohistokimyasal (IHC) incelemesi yapılmıştır. Sonuçların fonksiyonel analizleri yapılmış ve bulgular korelasyon analizleri üzerinden sunulmuştur.

Hastalar, moleküler alt tiplerine uygun NAKT rejimleri ile tedavi edilmiş olup, uygulanan tedavi protokolleri Tablo 3'te özetlenmiştir. Hastaların demografik verileri ile klinik ve patolojik özellikleri Tablo 4'te gösterilmiştir. Histolojik olarak olguların çoğunluğu (%70) invaziv duktal karsinom (İDK) veya İDK + duktal karsinoma in situ (DKİS) iken, bir olgu invaziv lobüler karsinom (İLK) ve bir olgu invaziv apokrin karsinom olarak saptanmıştır. Tru-cut biyopsi sonuçlarına göre, olguların %80'i östrojen reseptörü pozitif, %60'ı progesteron reseptörü pozitif, %50'si HER2 pozitif olup, Ki-67 proliferasyon indeksi %5 ile %70 arasında değişmiştir. TNM sınıflamasına göre iki olgu evre 2A, beş olgu evre 2B, iki olgu evre 3B ve bir olgu evre 3C olarak değerlendirilmiştir.

Tablo 3: Neoadjuvan kemoterapi şeması

Moleküler Alt Tip	NAKT Rejimi
<b>Hormon Pozitif</b>	4 siklus doksorubisin+siklofosfamid + 12 siklus paklitaksel
<b>Üçlü Negatif</b>	4 siklus doksorubisin+siklofosfamid + 12 siklus paklitaksel + pembrolizumab
<b>HER2 Pozitif</b>	4 siklus doksorubisin+siklofosfamid + 12 siklus paklitaksel +transtuzumab + pertuzumab

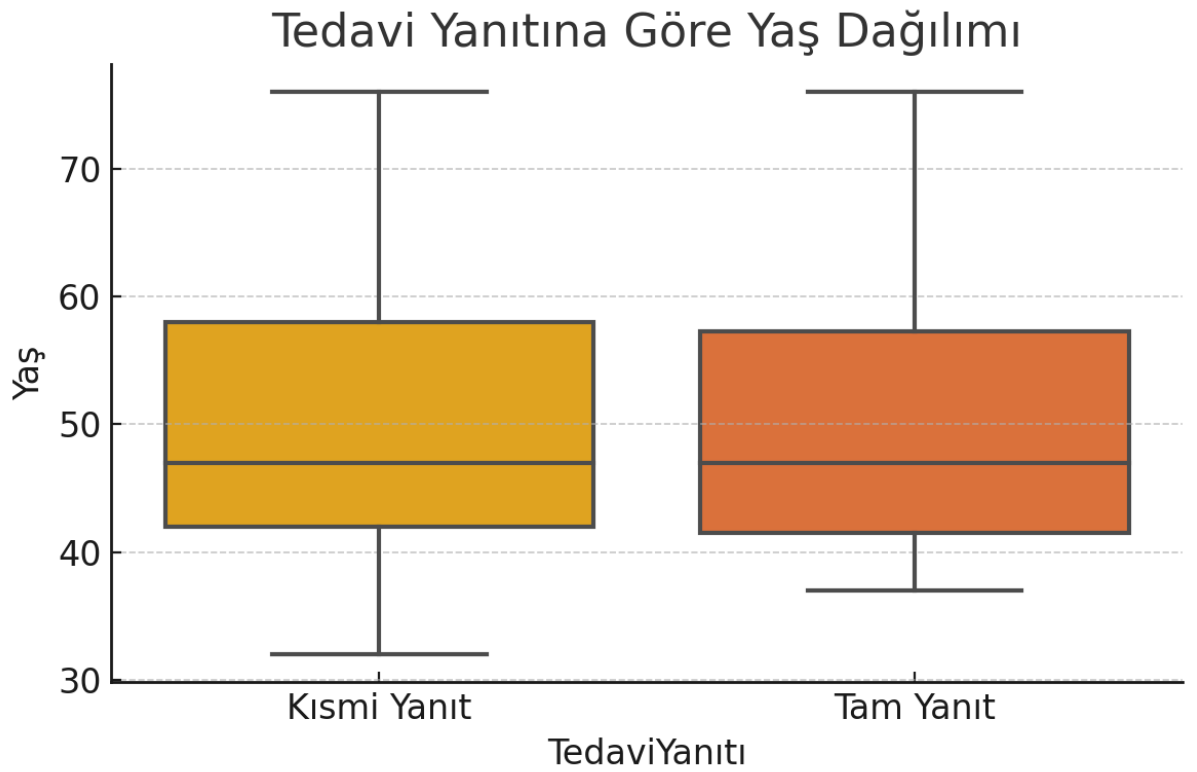
NAKT sonrası tedavi yanıtında dört hastada tam yanıt, altı hastada ise kısmi yanıt elde edilmiştir. Tam yanıt veren hastaların mastektomi materyallerinde tümör dokusu bulunmadığından, bu olgularda immünohistokimyasal inceleme gerçekleştirilememiştir. Ayrıca, 7 ve 8 numaralı hastaların tru-cut biyopsilerinde yeterli doku elde edilemediği için bu örnekler analizlere dahil edilmemiştir.



Tablo 4: Hastaların klinik ve patolojik özellikleri

Hasta no	Yaş	Tru-cut biyopsi patoloji					Mastektomi patoloji					TNM	Evre	Tedavi yanıtı
		ER	PR	HER2	Ki67	Tip	ER	PR	HER2	Ki67	Tip			
1	76	%100	%2	POZ	%25	İDK	%100	%5	NEG	%60	İDK+DKİS	T2N1M0	2B	Kısmi yanıt
2	41	%90	%5	POZ	%50	İDK	%90	NEG	NEG	%30	İDK	T1CN2M0	3B	Kısmi yanıt
3	45	%80	%30	NEG	%40	İLK	%100	%90	NEG	%15	İLK	T2N3M0	3C	Kısmi yanıt
4	37	NEG	NEG	POZ	%30	İDK+DKİS	NEG	NEG	NEG	%5	DKİS	T2N1M0	2B	Tam yanıt
5	61	%100	%80	NEG	%12	İDK	%100	%80	NEG	%20	İDK	T4N1M0	3B	Kısmi yanıt
6	76	NEG	NEG	NEG	%70	İDK	%20	%5	NEG	%20	DKİS	T2N1M0	2B	Tam yanıt
7	32	%5	NEG	POZ	%35	İDK	%5	NEG	POZ	%8	İDK	T2N1M0	2B	Kısmi yanıt
8	49	%100	NEG	NEG	%50	İDK	%35	NEG	NEG	-	İDK	T2N1M0	2B	Kısmi yanıt
9	43	%10	%10	POZ	%70	İNVAZİV APOKRİN KARSİNOM	-	-	-	-	-	T2N0M0	2A	Tam yanıt
10	51	%100	%70	NEG	%25	İDK+DKİS	%100	%70	NEG	%30	DKİS	T1CN1M0	2A	Tam yanıt

Çalışmaya dahil edilen 10 hastanın yaşları 32 ile 76 yıl arasında değişmekte olup, ortanca yaş 48 yıl, ortalama yaş ise 51,1 yıl olarak hesaplanmıştır. Tedavi yanıtına göre yaş dağılımları Şekil 3'te gösterilmiştir. Örneklem sayısının düşük olması nedeniyle, gruplar arasındaki fark Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiş ve sonuçlar, yaş açısından tam yanıt ve kısmi yanıt grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığını göstermiştir ( $p = 1,0$ ).



Şekil 3: Tedavi yanıtı gruplarına göre yaş dağılımı grafiği

HIF-1 $\alpha$  ve VEGF plazma düzeyleri ELISA yöntemi ile en az iki kez ölçülmüş olup, elde edilen ortalama değerler ve standart sapmalar Tablo 5'te sunulmuştur. VEGF düzeyleri, tedavi öncesinde yalnızca iki hastada, tedavi sonrasında ise üç hastada ölçülebilir sınırdan tespit edildiğinden, hastalar arası değişim oranları hesaplanamamıştır.

Tablo 5: HIF-1 $\alpha$  ve VEGF ELISA sonuçları

Hasta no	HIF-1 $\alpha$ Tedavi öncesi	HIF-1 $\alpha$ Tedavi sonrası	VEGF Tedavi öncesi	VEGF Tedavi sonrası
1	1502,43 $\pm$ 381,16	1219,70 $\pm$ 211,67	0	0
2	1597,89 $\pm$ 326,23	1992,67 $\pm$ 313,21	52,89 $\pm$ 14,36	26,97 $\pm$ 21,83
3	1002,26 $\pm$ 229,69	299,92 $\pm$ 137,55	0	0
4	2707,58 $\pm$ 851,74	854,02 $\pm$ 218,97	0	0
5	746,57 $\pm$ 220,44	239,59 $\pm$ 171,40	161,45 $\pm$ 27,99	0
6	1165,16 $\pm$ 193,67	1141,41 $\pm$ 10,72	0	0
7	2569,75 $\pm$ 576,95	570,60 $\pm$ 115,28	0	0
8	1368,55 $\pm$ 313,32	1838,83 $\pm$ 156,82	0	58,58 $\pm$ 19,90
9	1088,17 $\pm$ 15,35	1012,12 $\pm$ 14,06	0	0
10	2250,12 $\pm$ 145,77	1052,04 $\pm$ 270,82	0	73,74 $\pm$ 7,13

Standart sapma değerleri  $\pm$  olarak verilmiştir,

HIF-1 $\alpha$  düzeylerinin tedavi öncesi ve sonrasında hasta bazlı değişimi grafiksel olarak değerlendirilmiş ve Şekil 4'te sunulmuştur.



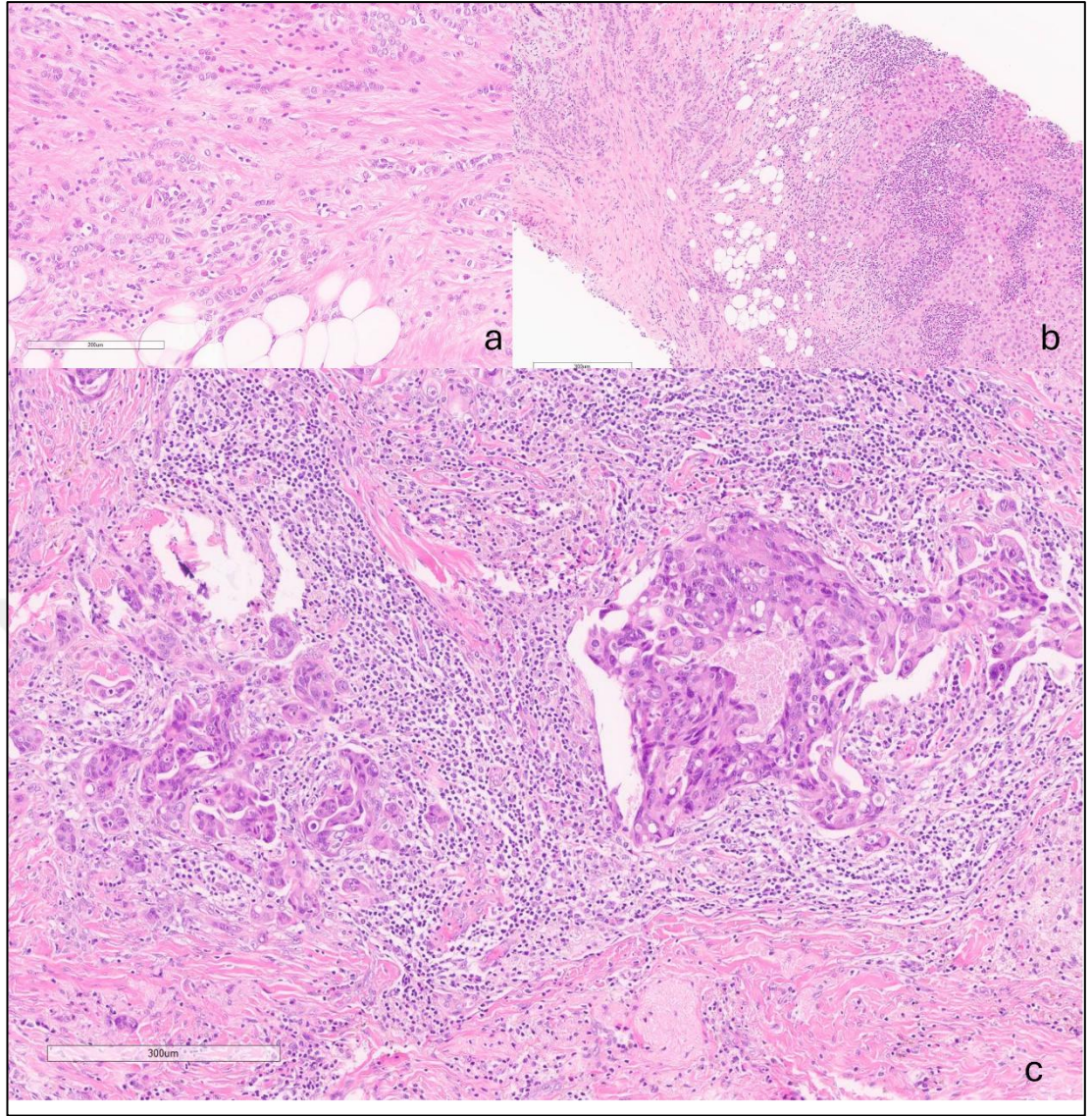
Şekil 4: HIF-1 $\alpha$  düzeylerinin tedavi öncesi ve sonrasında değişim grafiği. Hasta numaraları ilgili grafiğin üzerinde yer almaktadır,

Tru-cut biyopsi ve mastektomi örneklerinde gerçekleştirilen immünohistokimyasal HIF-1 $\alpha$  incelemesi sonucunda elde edilen H-skorumları Tablo 6’da sunulmuştur.

Tablo 6: HIF-1 $\alpha$  immünohistokimya sonuçları

Hasta no	Biyopsi HIF-1 $\alpha$ H-skoru	Mastektomi HIF-1 $\alpha$ H-skoru
1	290	220
2	170	70
3	300	280
4	240	Tümör yok
5	300	300
6	180	Tümör yok
7	Yeterli doku yok	200
8	Yeterli doku yok	70
9	220	Tümör yok
10	160	Tümör yok

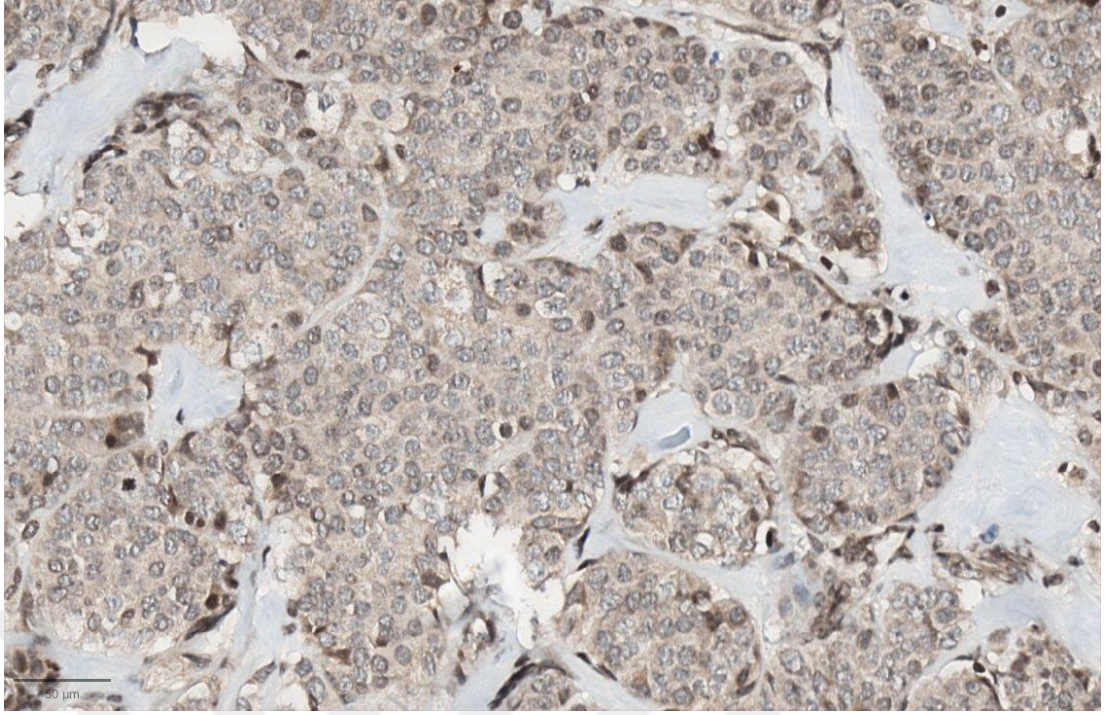
Hastaların tru-cut biyopsi ve mastektomi örneklerinden elde edilen patolojik kesitlerde Hematoksilen-Eozin (H&E) boyası ile invaziv duktal karsinom, invaziv lobüler karsinom ve NAKT’ye kısmi yanıt gösteren invaziv duktal karsinom bulguları saptanmış olup, örnek preparatlar Şekil 5’te sunulmuştur.



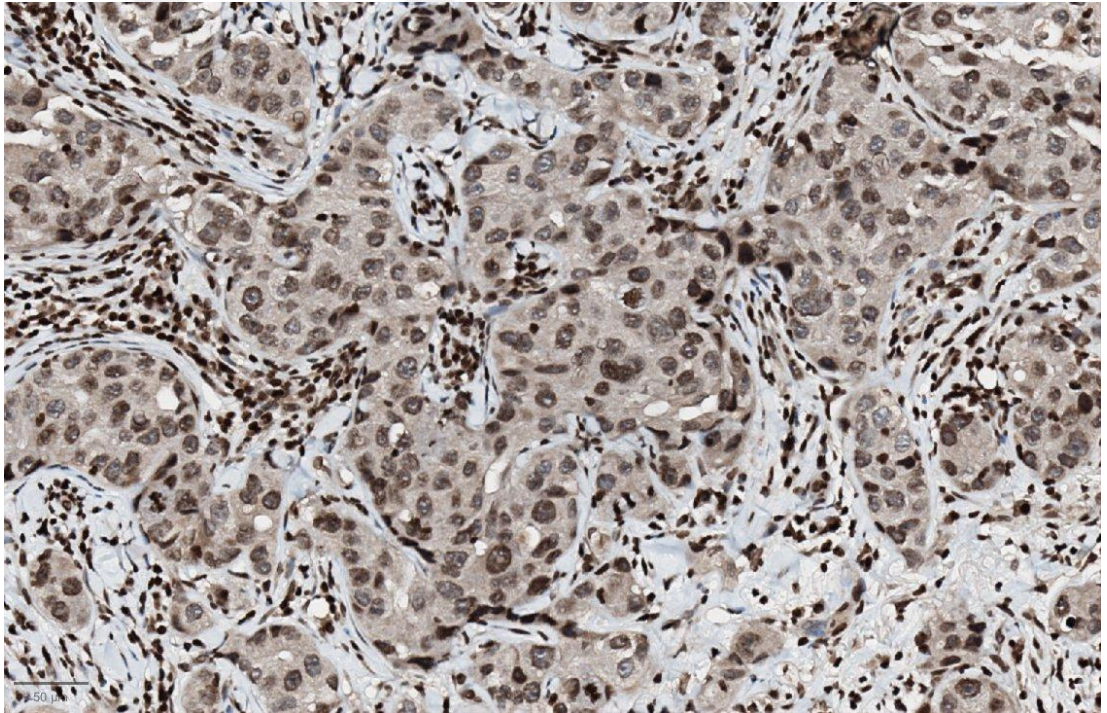
Şekil 5: Biyopsi ve mastektomi örneklerinden patolojik değerlendirme görüntüleri (H&E boyama).

- a. Mastektomi materyalinde invaziv lobüler karsinom
- b. Meme tru-cut biyopsisinde invaziv duktal karsinom
- c. Neoadjuvan sistemik tedavi sonrasında mastektomi materyalinde tedaviye kısmi yanıt bulguları gösteren invaziv duktal karsinom.

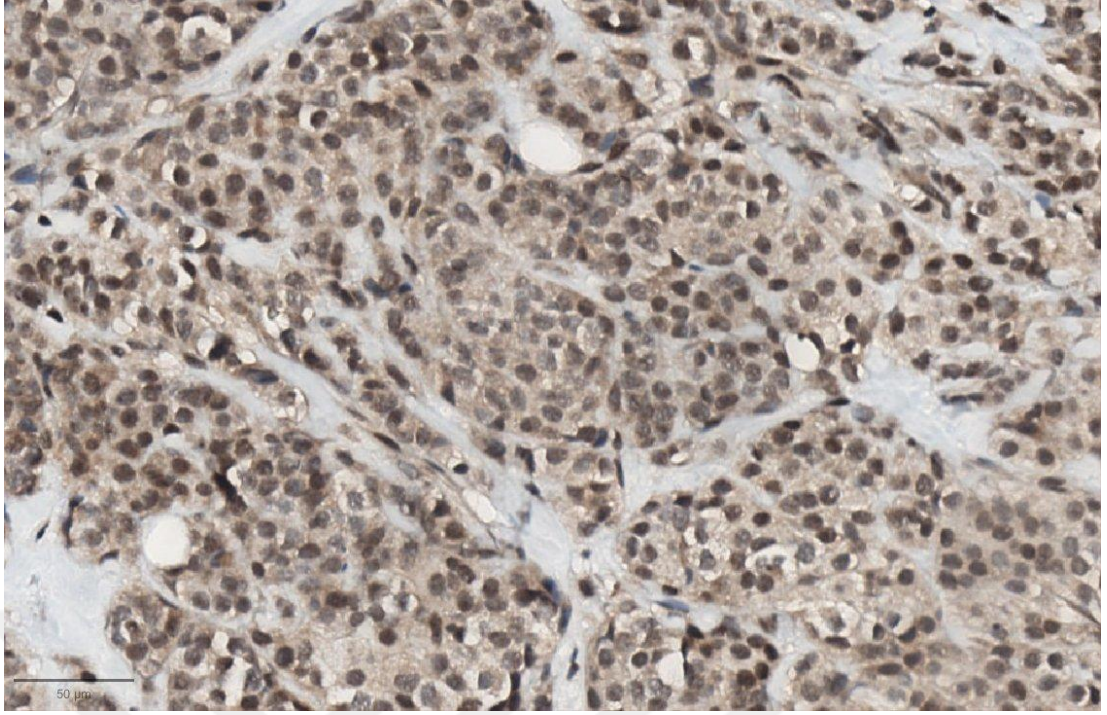
Hastaların tru-cut biyopsi ve mastektomi örneklerinden HIF-1 $\alpha$  ekspresyonunun immünohistokimyasal olarak değerlendirildiği preparatlardan örnekler şekil 6-7-8-9-10'da gösterilmiştir,



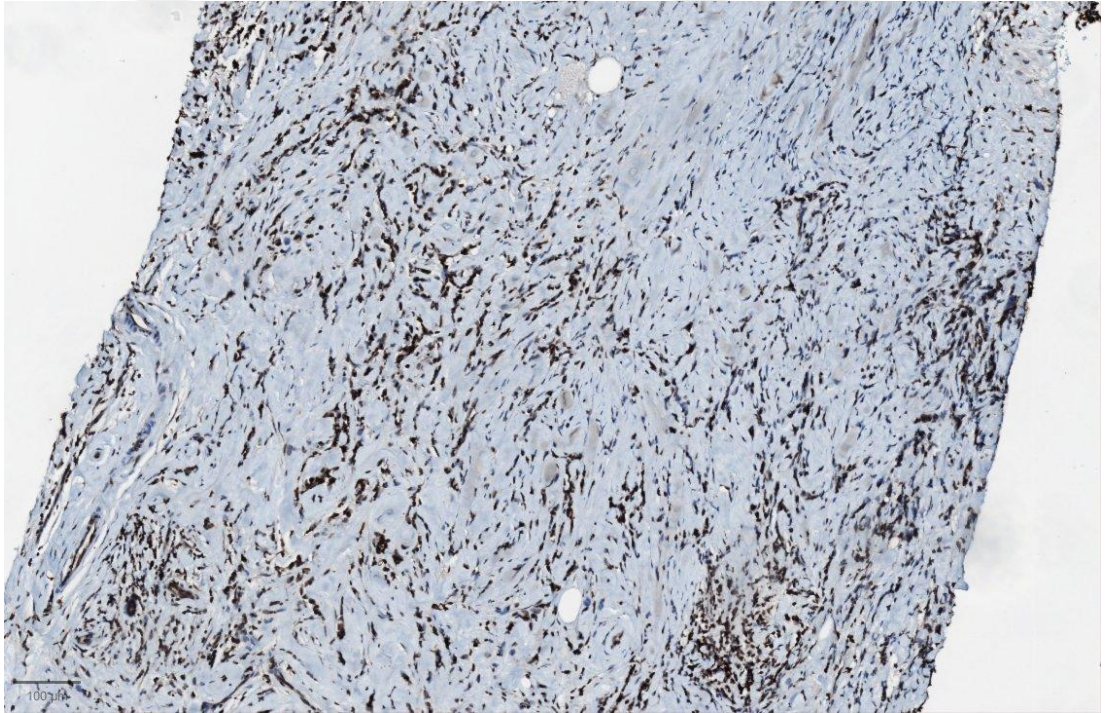
Şekil 6: HIF-1 $\alpha$  ile ağırlıklı olarak negatif ve 1+ nükleer boyanma gösteren invaziv duktal karsinom alanı



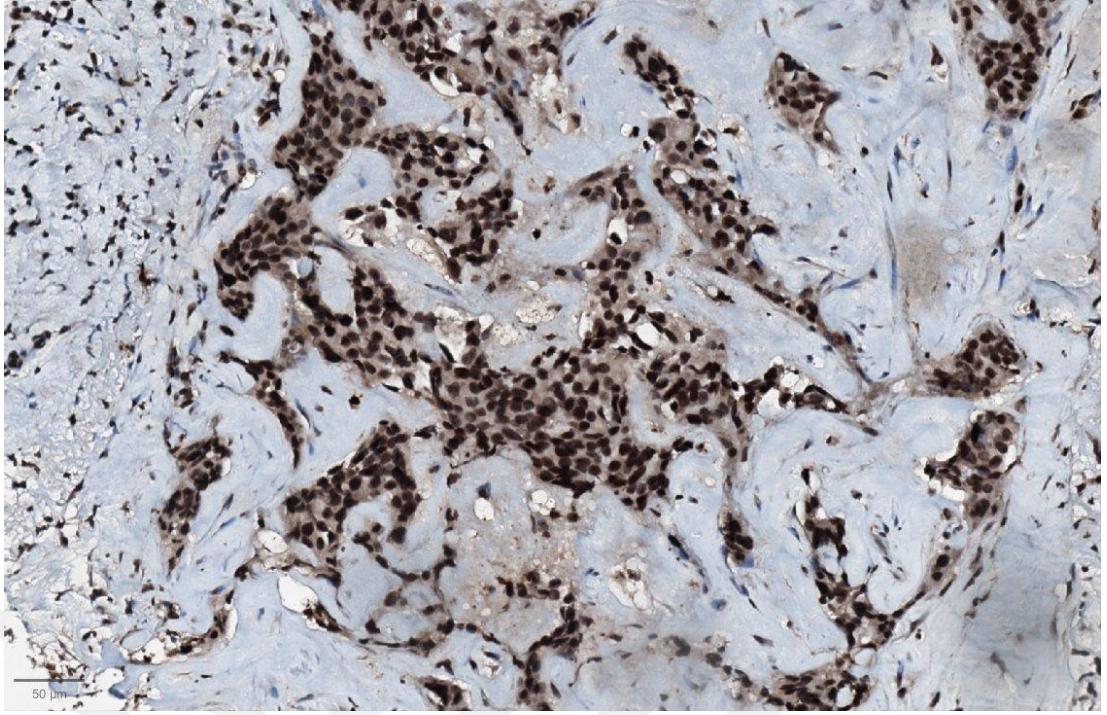
Şekil 7: HIF-1 $\alpha$  ile ağırlıklı olarak 2+ ve 1+ nükleer heterojen boyanma gösteren invaziv duktal karsinom alanı



Şekil 8: HIF-1 $\alpha$  2+ nükleer boyanma gösteren invaziv duktal karsinom

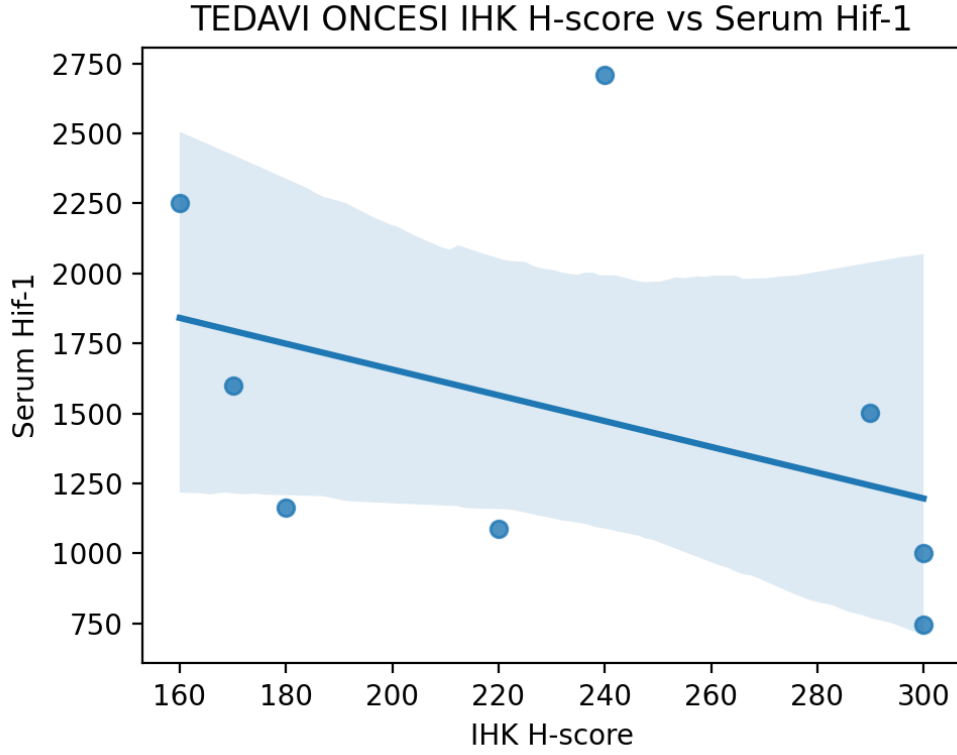


Şekil 9: Meme tru-cut biyopsisinde HIF-1 $\alpha$  3+ nükleer boyanma gösteren invaziv lobüler karsinom



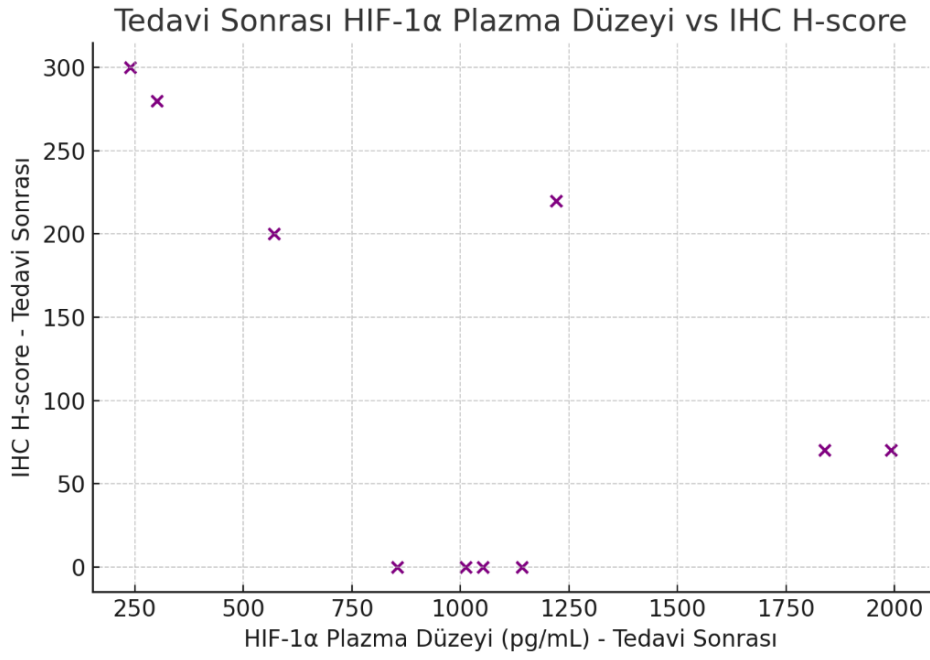
Şekil 10: HIF-1 $\alpha$  3+ nükleer boyanma gösteren invaziv duktal karsinom

Hastaların tedavi öncesi ve sonrası kandan ölçülen HIF-1 $\alpha$  düzeyleri ile dokudan ölçülen IHC H-skorları arasındaki korelasyon Spearman korelasyon yöntemi ile değerlendirildi. Tedavi öncesi plazma HIF-1 $\alpha$  düzeyi ile tümör dokusunda saptanan immünohistokimyasal H-skoru arasında negatif yönlü orta şiddette bir korelasyon belirlendi (Spearman  $\rho = -0,63$ ;  $p = 0,091$ ) (Şekil 11).



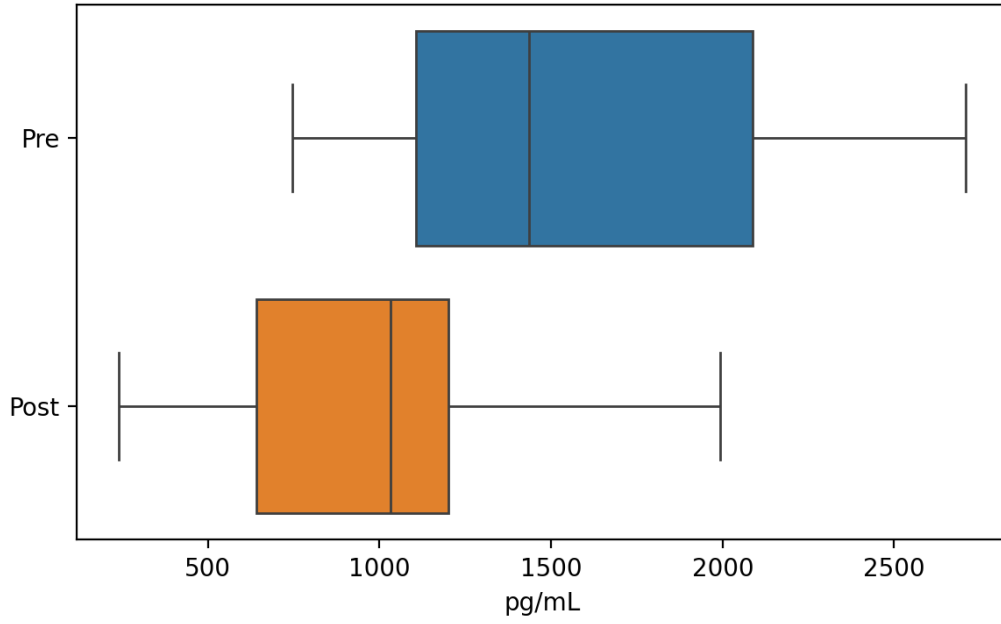
Şekil 11: Tedavi öncesi plazma HIF-1 $\alpha$  düzeyi ile tümör dokusunda saptanan IHC H-skor ilişkisi

Tedavi sonrası plazma HIF-1 $\alpha$  düzeyi ile tümör dokusundaki immünohistokimyasal H-skoru arasında zayıf düzeyde negatif bir korelasyon saptanmıştır (Spearman  $\rho = -0,38$ ,  $p = 0,28$ ) (Şekil 12). Ancak bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.



Şekil 12: Tedavi sonrası plazma HIF-1 $\alpha$  düzeyi ile tümör dokusunda saptanan IHC H-skor ilişkisi

Hastaların tedavi öncesi ve sonrası plazma HIF-1 $\alpha$  düzeylerinin ortalama değerleri ve dağılımları değerlendirildi. Tedavi öncesi ortalama HIF-1 $\alpha$  düzeyi yaklaşık 1600 pg/mL iken, tedavi sonrası ortalama değer yaklaşık 1020 pg/mL olarak saptandı. Normal dağılım sağlandığından eşleştirilmiş t-testi ile yapılan analizde, klinik olarak belirgin bir azalma izlense de, örnek sayısının düşük olması nedeniyle istatistiksel güç sınırlı kaldı ( $p = 0,064$ ) (Şekil 13).



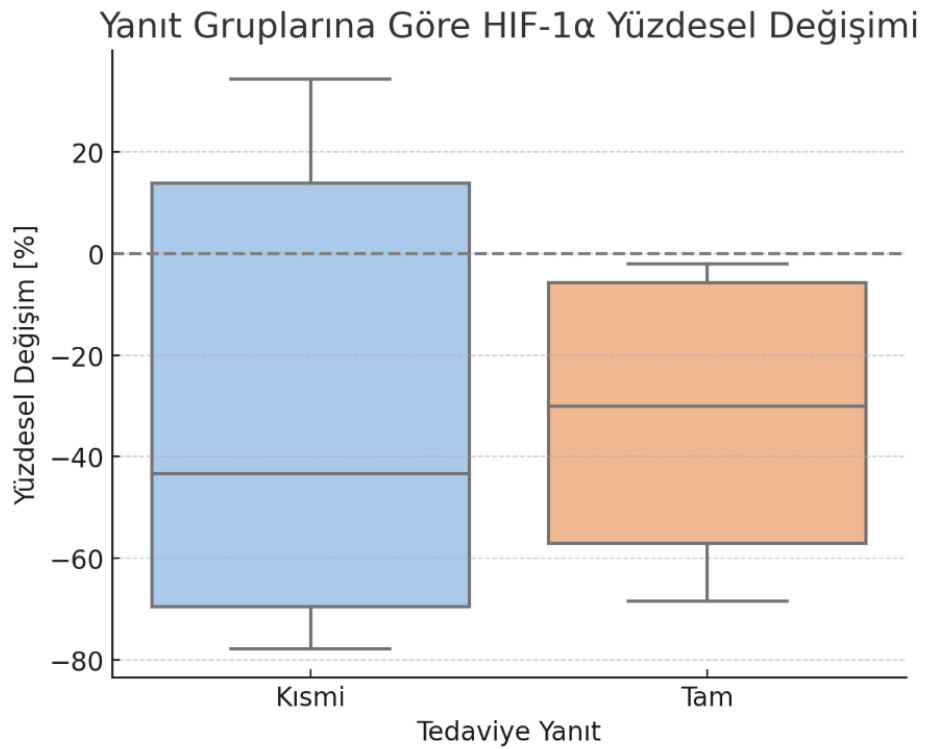
Şekil 13: Tedavi öncesi ve sonrası kandan ölçülen HIF-1 $\alpha$  düzeylerinin ortalaması ve dağılımları

Tedavi öncesi ve sonrası plazma HIF-1 $\alpha$  düzeyleri üzerinden hesaplanan yüzdesel değişim, tam yanıt ve kısmi yanıt grupları arasında karşılaştırılmıştır (Tablo 7). İlgili grafik Şekil 14'te sunulmuştur. Her iki grupta da HIF-1 $\alpha$  düzeyinde ortalama %30 civarında bir azalma gözlenmiş olup, azalma oranları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı bir fark saptanmamıştır (Student's t-testi,  $p = 0,90$ ). Normal dağılım varsayımı ise Shapiro-Wilk testi ile doğrulanmıştır ( $p > 0,05$ ).

Tablo 7: Tedavi öncesi ve sonrası plazma HIF-1 $\alpha$  düzeylerinin tam yanıt ve kısmi yanıt gruplarında yüzdesel değişimi

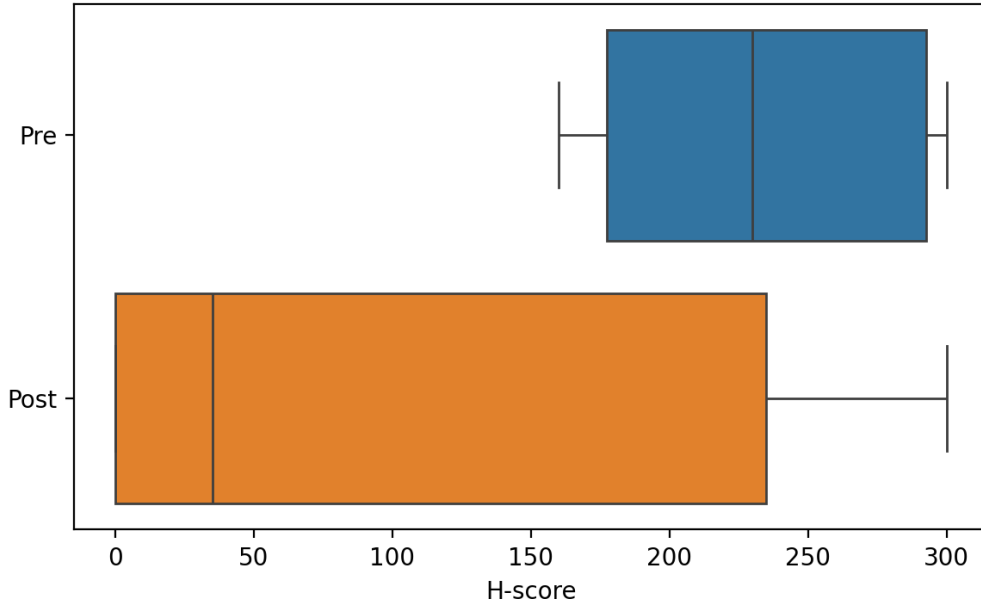
Yanıt grubu	Ortalama (%)	Medyan (%)	Standart sapma	Min (%)	Max (%)
Kısmi yanıt	-29,25	-43,36	50,17	-77,80	+34,36
Tam yanıt	-32,68	-30,12	33,18	-68,46	-2,04

Saptanan değişimlerde azalma yönlü değişimler (-) ve artma yönlü değişimler (+) ile gösterilmiştir,



Şekil 14: Tam yanıt ve kısmi yanıt gruplarında tedavi öncesi-sonrası plazma HIF-1 $\alpha$  düzeylerinin yüzdesel değişim grafiği

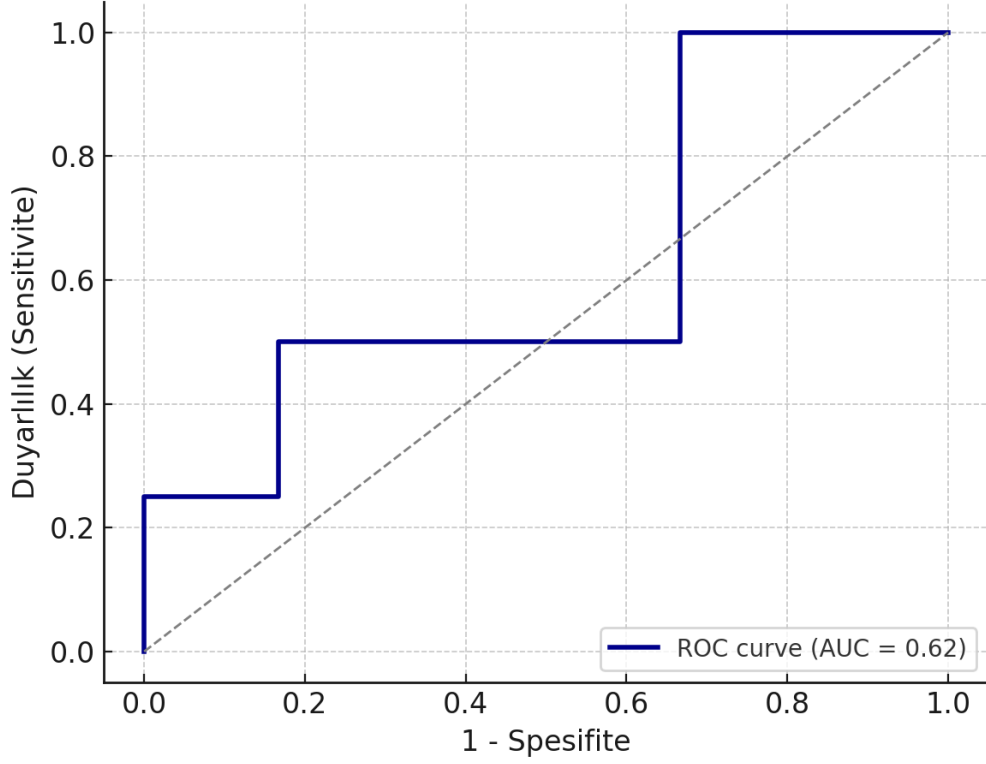
Hastaların tedavi öncesi ve sonrası tümör dokusunda saptanan İHK H-skoru ortalaması ve dağılımları değerlendirildi. Tedavi öncesi HIF-1 $\alpha$  düzeylerinin ortalaması ~ 233 iken tedavi sonrası ortalaması ~ 109 olarak saptandı. Medyan değerlerinin ise tedavi öncesi 230'dan, tedavi sonrası 35'e düştüğü görüldü. Eşleştirilmiş t-testi ile yapılan analizde bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p = 0,006$ ) (Şekil 15).



Şekil 15: Tedavi öncesi ve sonrası İHK H-skoru ortalaması ve dağılımları

Tedavi öncesi plazma HIF-1 $\alpha$  düzeyinin tam yanıt öngörmedeki tanısal gücünü değerlendirmek için ROC analizi yapıldı (Şekil 16). ROC eğrisinin altında kalan alan (AUC = 0,63) istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p=0,61$ ). Eşik (*cut-off*) değeri 2250,1 pg/mL olarak belirlendi; bu değerin üzerinde olan olgularda tam yanıt olasılığı düşük saptandı. Bu eşik değeri, tam yanıt elde edemeyecek hastaları doğru tanımda özgüllüğü yüksek, ancak duyarlılığı düşük olarak değerlendirildi (Tablo 8).

## HIF-1 $\alpha$ (Tedavi Öncesi) ROC Eğrisi - Tam Yanıtı Öngörme

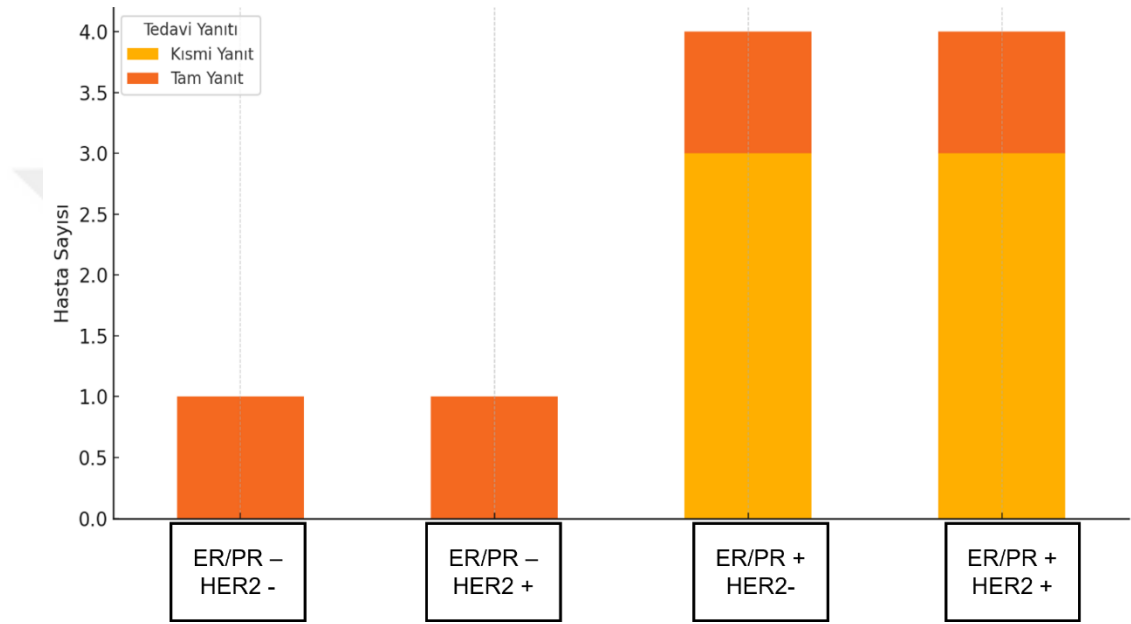


Şekil 16: Tedavi öncesi plazma HIF-1 $\alpha$  düzeyinin tam yanıtı öngörmedeki tanısal gücünü değerlendirmek için yapılan ROC analizi

Tablo 8: ROC analiz değerleri

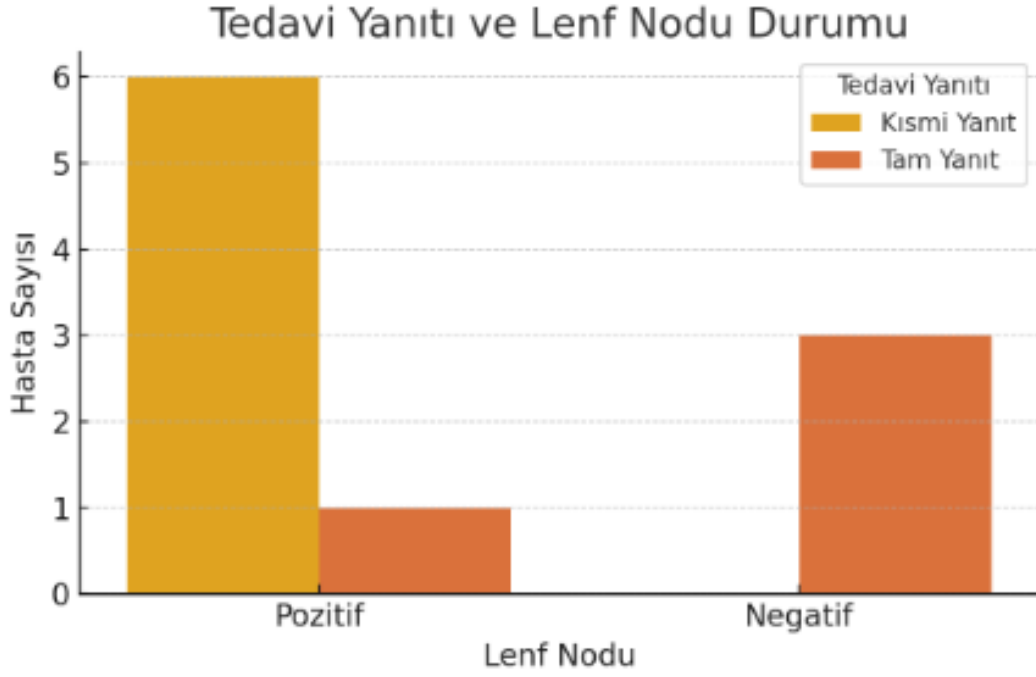
ROC ÖLÇÜTÜ	DEĞER
AUC (EĞRİ ALTI ALAN)	0,63
EN İYİ CUT-OFF DEĞERİ	2250,1 pg/mL
DUYARLILIK (SENSİTİVİTE)	0,50
ÖZGÜLLÜK (SPESİFİTE)	0,83

Tedavi öncesi tümörün patolojik parametrelerinin tedavi yanıtıyla ilişkisi incelendiğinde hormon pozitif HER2 pozitif gruptaki 4 hastadan 1'i (%25), hormon pozitif HER2 negatif gruptaki 4 hastadan 1'i (%25), hormon negatif HER2 pozitif gruptaki 1 hasta (%100) ve üçlü negatif gruptaki 1 hastanın (%100) tam yanıt verdiği görülmüştür (Şekil 17). Ancak örnek sayısının yetersiz olması nedeniyle istatistiksel anlamlılık değerlendirmesi yapılamamıştır.



Şekil 17: Tedavi öncesi tümörün patolojik parametrelerinin tedavi yanıtıyla ilişkisi

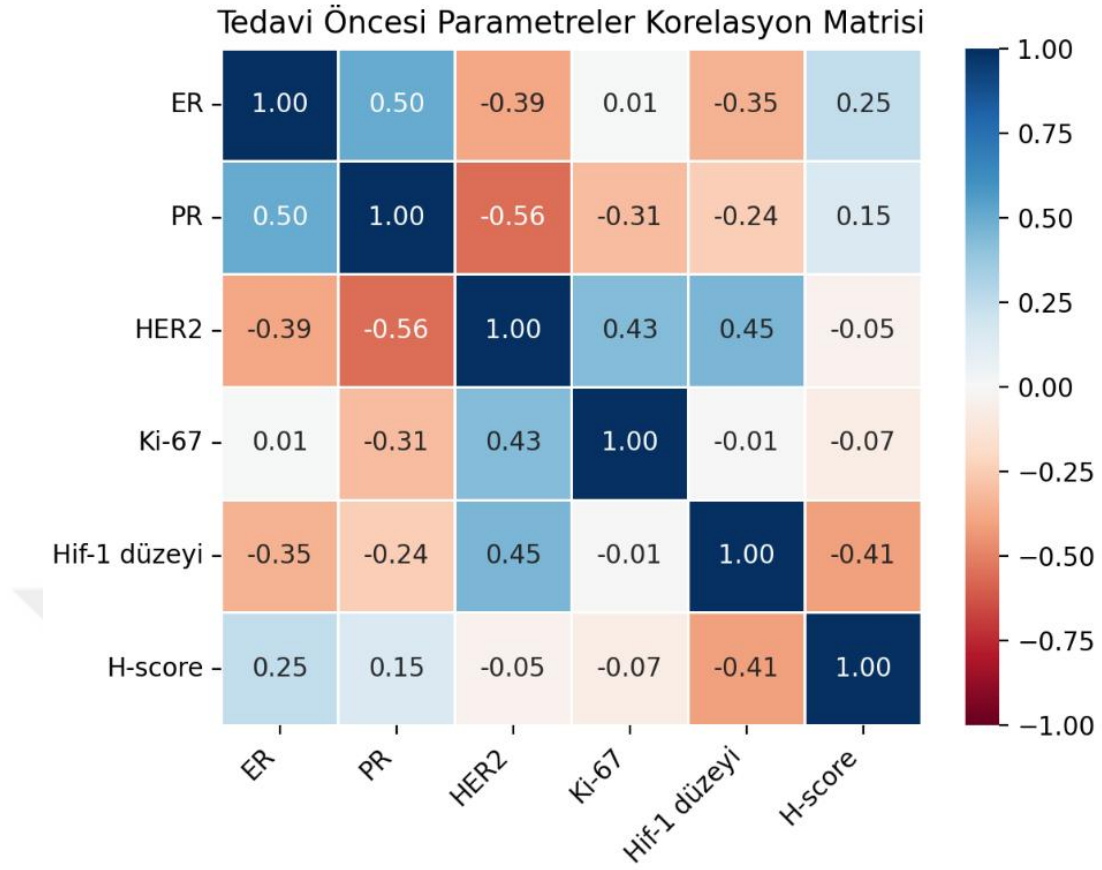
Lenf nodu durumu ile tedavi yanıtı karşılaştırıldığında, lenf nodu pozitif hastalarda tam yanıt oranı düşük bulunmuş (1/7), buna karşın lenf nodu negatif olan hastaların tamamında tam yanıt saptanmıştır (Şekil 18).



Şekil 18: Lenf nodu durumu ile tedavi yanıtının değerlendirilmesi

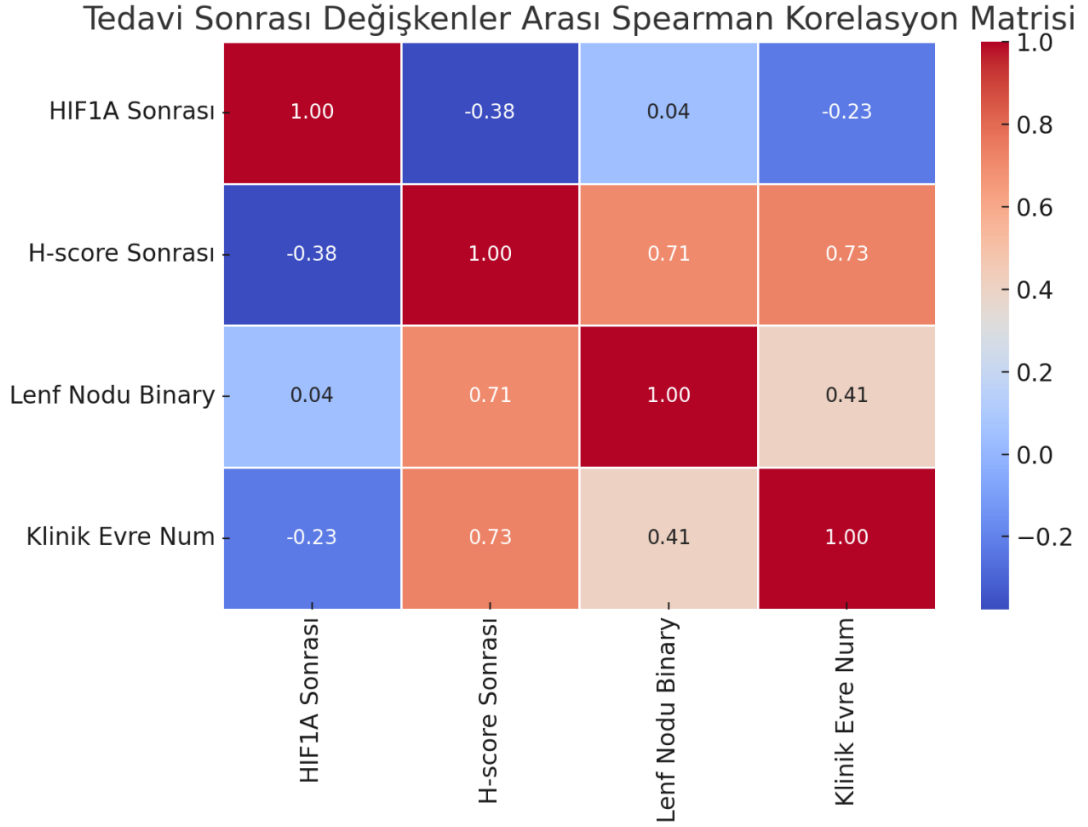
Hastaların tedavi öncesi plazma HIF-1 $\alpha$  düzeyleri, tümör dokusundan elde edilen immünohistokimyasal H-skorumları ve patolojik parametreleri arasında Spearman korelasyon analizi yapılmış ve korelasyon matrisi oluşturulmuştur (Şekil 19). Elde edilen korelasyon katsayıları özetle şu şekildedir:

- ER-PR (+0,50): Hormon reseptörleri birlikte pozitifleşme eğilimindedir.
- HER2-ER/PR (-0,39, -0,56): HER2 pozitifliği genellikle hormon reseptör negatifliği ile birlikte ve aralarında ters yönlü ilişki vardır.
- HER2-Ki-67 (+0,43): HER2 pozitif tümörlerde proliferasyon indeksi daha yüksektir.
- HER2-HIF-1 $\alpha$  düzeyi (+0,45): Hipoksi göstergesi olan HIF-1 $\alpha$ , HER2 pozitif tümörlerde artış eğilimindedir.
- H-skoru: Diğer parametrelerle zayıf ilişkilidir; histokimyasal skor bağımsız görünmektedir.



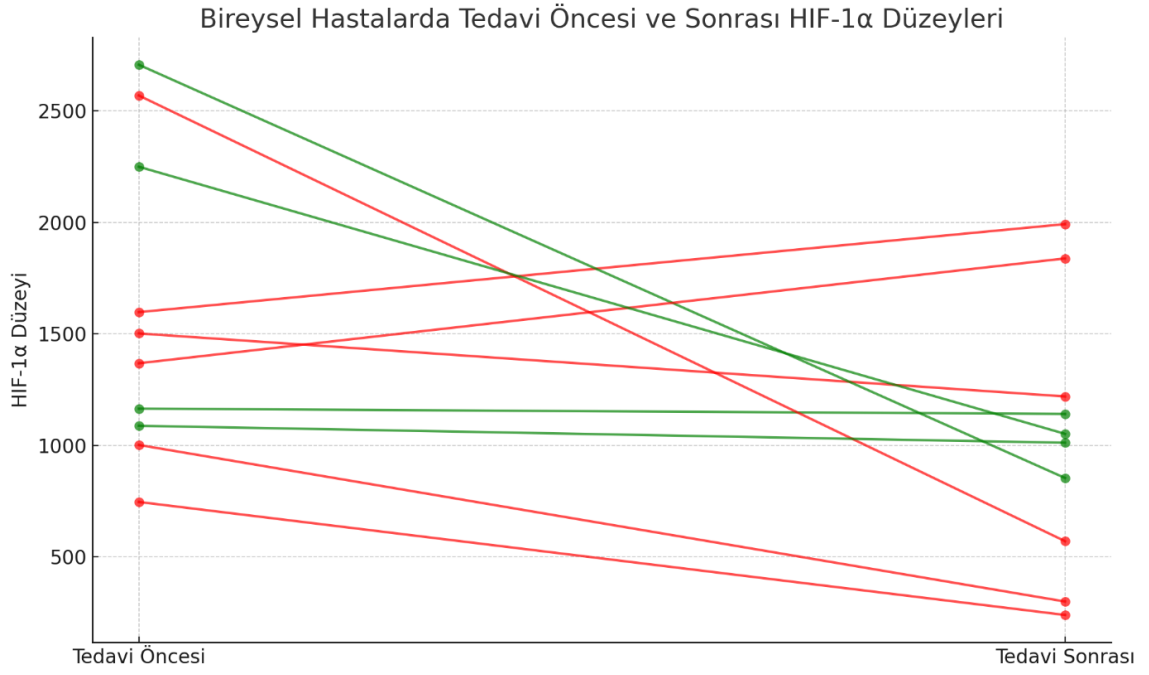
Şekil 19: Tedavi öncesi kandan ölçülen HIF-1 $\alpha$  düzeyleri, IHC H-skorları ve tümörün patolojik parametrelerinin korelasyon haritası [Koyu kırmızı: negatif ilişki (-1'e yakın), koyu mavi: pozitif ilişki (+1'e yakın) ve beyaza yakın: zayıf ilişki (~0)].

Hastaların tedavi sonrası kandan ölçülen HIF-1 $\alpha$  düzeyleri, dokudan ölçülen IHC H-skorları ile tümörün evresi ve lenf nodu durumunun Spearman korelasyon analizi yapılarak ısı haritası oluşturuldu (Şekil 20). Analiz sonuçlarına göre, H-skoru ile lenf nodu pozitifliği ( $\rho = 0,71$ ) ve klinik evre ( $\rho = 0,73$ ) arasında yüksek düzeyde pozitif korelasyon saptandı.



Şekil 20: Tedavi sonrası kandan ölçülen HIF-1 $\alpha$  düzeyleri, IHC H-skorları ile tümörün evresi ve lenf nodu durumunun Spearman korelasyon ısı haritası [Koyu kırmızı: pozitif ilişki (+1'e yakın), koyu mavi: negatif ilişki (-1'e yakın)]

Her bir hastanın tedavi öncesi ve sonrası HIF-1 $\alpha$  düzeyleri karşılaştırmalı olarak incelenmiş ve bireysel eğim grafiği ile görselleştirilmiştir (Şekil 21). Analiz sonucunda, tam yanıt veren hastalarda HIF-1 $\alpha$  düzeylerinde belirgin ve keskin düşüşler gözlenirken; kısmi yanıt veren hastalarda daha sınırlı azalmalar veya bazı olgularda artışlar (ör. hasta no: 2 ve 8) saptanmıştır.



Şekil 21: Hastaların tedavi öncesi ve sonrası HIF-1 $\alpha$  düzeylerinin bireysel eğim grafiği ile gösterilmesi (Kırmızı çizgiler: kısmi yanıt veren hastalar, yeşil çizgiler: tam yanıt veren hastalar)

## Tartışma

Meme kanseri, kadınlarda en sık görülen malign tümörlerden biri olup dünya genelinde kansere bağlı mortalitenin önde gelen nedenlerinden biridir (Bray et al., 2021). Günümüzde yalnızca histopatolojik değerlendirme değil, tümör mikroçevresinin biyolojik özellikleri de prognozun belirlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Bu mikroçevre içerisinde en çok dikkat çeken unsurlardan biri hipoksidir. Hipoksi, tümör dokusundaki yetersiz oksijenlenme sonucu ortaya çıkmakta ve tümör progresyonunda merkezi rol oynayan bir dizi hücresel yanıtı tetiklemektedir (Vaupel & Mayer, 2007). Hipoksiye hücresel yanıtın başlıca düzenleyicisi olan HIF-1 $\alpha$ , glikolitik metabolizmayı aktive ederek, anjiyogenezi uyararak, invazyon ve metastaz süreçlerini kolaylaştırarak tümör hücrelerinin adaptasyonunu sağlamaktadır (Semenza, 2012; Masoud & Li, 2015).

HIF-1 $\alpha$ 'nın yüksek ekspresyon düzeylerinin, meme kanserinde yüksek histolojik grade, HER2 pozitiflik, lenf nodu tutulumu ve tedaviye direnç gibi olumsuz prognostik özelliklerle ilişkili olduğu bildirilmiştir (Bos et al., 2003; Dales et al., 2005; Yamamoto et al., 2008). Bununla birlikte, dolaşımdaki HIF-1 $\alpha$  düzeylerinin değerlendirilmesi, doku biyopsisine invaziv olmadan alternatif bir yol sunması açısından önem kazanmakta ve non-invaziv biyobelirteç olarak kullanım potansiyeli araştırılmaktadır (Cai et al., 2016; Abdelgalil et al., 2024).

Neoadjuvan kemoterapi, özellikle lokal ileri evre meme kanserlerinde tümör boyutunu küçülterek cerrahi seçenekleri artırmakta ve sistemik hastalık kontrolünü erken dönemde sağlamaktadır (Cortazar et al., 2014). NAKT yanıtın önceden tahmin edilmesi, tedavi planlamasında kritik rol oynamaktadır. Bu bağlamda HIF-1 $\alpha$  gibi hipoksi ile ilişkili biyobelirteçlerin tedavi öncesi ve sonrası düzeylerinin değerlendirilmesi, tedaviye biyolojik yanıtın izlenmesi açısından değerli olabilir.

Bu çalışmada, uzak organ metastazı olmayan ancak cerrahi öncesi NAKT alması gereken meme kanseri hastalarından tanı anında ve tedavi sonrasında plazmadaki HIF-1 $\alpha$  ve VEGF düzeyleri ile biyopsi ve mastektomi örneğinden HIF-1 $\alpha$  ekspresyonunun immünohistokimyasal incelemesi değerlendirilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen hastaların yaşları 32 ile 76 yaş arasında olup ortalaması 51,1 yıl olarak hesaplanmıştır. Hastaların tümörlerinin patolojik özelliklerine baktığımızda

bir olgunun invaziv lobüler karsinom, bir olgunun invaziv apokrin karsinom tanısı varken kalan hastaların invaziv duktal karsinom tanısı mevcuttur.

Tru-cut biyopsi materyallerindeki patolojilerine göre 4 hasta hormon pozitif-HER2 negatif (%40), 5 hasta HER2 pozitif (%50) ve 1 hasta üçlü negatif (%10) olarak tanı almıştır. Toplumda meme kanserlerinde en sık hormon pozitif hastalık görülmesine rağmen bizim çalışmamızda HER2 pozitif hasta grubu daha yüksek görülmesinin sebebi hormon pozitif hastalıkta cerrahi seçenekler ilk planda iken HER2 hastalıkta NAKT'nin öncelikli tercih olması olarak düşünülmüştür.

Literatürdeki bazı çalışmalarda NAKT alan meme kanseri grubu seçim kriterlerinde bulunmadığından patolojik ve klinik olarak hasta dağılımı farklılık gösterebilmektedir (Cai et al., 2016; Yamamoto et al., 2008a; Yan et al., 2009). Çalışma planında hasta seçiminin patolojik alt tiplere göre ayrılmaması sonuçlarda farklı grupların farklı oranlarda temsil edilmesine sebep olmuştur. Literatürde bizim çalışmamıza benzer şekilde NAKT alan meme kanseri hastalarında dokudan HIF-1 $\alpha$  ekspresyonu bakılan çalışmalarda ise hasta popülasyonlarının dağılımı farklılık göstermektedir. Ramírez-Tortosa ve ark.'nın çalışmasında Luminal A %32,6, Luminal B %29,5, HER2 hastalık %21 ve üçlü negatif %13,7 olarak dağılırken; Nie ve ark.'nın çalışmasında oranlar sırasıyla %36, %57,7, %7 ve %16 olarak sıralanmaktadır (Nie et al., 2018; Ramírez-Tortosa et al., 2022). Sonraki çalışmalarda her bir alt tip için ayrı örneklem yapılması istatistik analizlerde daha doğru sonuçlar elde edilmesini sağlayacaktır.

Çalışmada öncelikle neoadjuvan kemoterapinin tümör dokusunda HIF-1 $\alpha$  ekspresyonuna etkisi IHC skorları üzerinden incelenmiştir. NAKT uygulaması sonrasında tümör dokusundaki HIF-1 $\alpha$  ekspresyonunda belirgin düzeyde azalma saptanmıştır. Ortalama H-skoru değerinin 233'ten 109'a düşmesi (p=0,006), tedavinin hipoksik yanıt mekanizmaları üzerinde baskılayıcı bir etki oluşturduğunu göstermektedir. Sonuçlar istatistiksel olarak anlamlıdır. Bu durum, HIF-1 $\alpha$ 'nın hipoksi ile ilişkili olarak artan ekspresyonunun, kemoterapiye bağlı hücre ölümü ve tümör kitlesinde regresyonu takiben azaldığını düşündürmektedir.

Literatürde bizim çalışmamıza benzer şekilde tedavi öncesi ve sonrası HIF-1 $\alpha$  ekspresyonu immünohistokimya ile incelen nadir çalışma vardır. Generali ve ark.'nın çalışmasında 118 meme kanseri hastasının tümör dokusunda neoadjuvan kemoterapi

öncesi ve sonrası HIF-1 $\alpha$  ekspresyonu immünohistokimya ile incelenmiştir. Kemoterapi öncesi yüksek HIF-1 $\alpha$  ekspresyonu olan hastalarda, tedavi sonrası ekspresyonun anlamlı şekilde azaldığı gösterilmiştir ve düşen HIF-1 $\alpha$  düzeyleri, tam patolojik yanıt oranlarının daha yüksek olmasıyla ilişkili bulunmuştur (Generali et al., 2006a). Bu veriler bizim sonuçlarımızı desteklemektedir. Ayrıca Dales ve ark., invaziv meme kanserlerinde HIF-1 $\alpha$  ekspresyonunun tümör boyutu ve evresiyle pozitif korelasyon gösterdiğini ve kemoterapi sonrası ekspresyon düzeylerinin azaldığını belirtmişlerdir (Dales et al., 2005). Benzer şekilde Kronblad ve ark.'nın yayınında, HIF-1 $\alpha$ 'nın tümör hücrelerinin proliferasyonunu destekleyen ve tedaviye direnç geliştirmeye katkıda bulunan bir faktör olduğu ileri sürülmüştür (Kronblad et al., 2006). Dolayısıyla, tümör dokusundaki HIF-1 $\alpha$  ekspresyonundaki azalmanın kemoterapinin etkinliğini dolaylı olarak gösterdiğini düşündürmektedir.

Hastalarımızın plazma HIF-1 $\alpha$  düzeyleri incelendiğinde, tedavi öncesi ortalama değer yaklaşık 1600 pg/mL iken, tedavi sonrası bu değer yaklaşık 1020 pg/mL'ye düşmüştür. Eşleştirilmiş t-testi sonucu istatistiksel olarak anlamlılığa ulaşmasa da ( $p=0,064$ ), güçlü bir azalma eğilimi dikkat çekmektedir. Sonuçlar istatistiksel anlamlılığa çok yakın ancak örnek sayısı küçük olduğu için istatistiksel gücü sınırlıdır. Literatürde meme kanser hastalarında NAKT öncesi ve sonrası plazma HIF-1 $\alpha$  düzeylerinin ölçülerek bireysel klinik yanıt ile değerlendirildiği bir çalışma bulunmamaktadır. Bu konuda en benzer çalışma Manginstar ve ark.'nın 2022 yılında yayınlanan 11 meme kanseri olgusunda NAKT öncesi ve sonrası plazma HIF-1 $\alpha$  ve CA15-3 düzeylerini ELISA ile ölçerek değerlendirdiği çalışmadır. Bu çalışmada ortalama HIF-1 $\alpha$  düzeylerinin anlamlı olarak ( $p=0,005$ ) düştüğü gösterilmiştir. HIF-1 $\alpha$  düzeylerinin tedavi yanıtıyla ilişkisi de belirli bir düşüş gösterse bile istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Ancak bu çalışmada hastaların bireysel HIF-1 $\alpha$  düzeyleri değerlendirilmemiş ve hasta bazında tedavi yanıtı incelenmemiştir (Manginstar et al., 2022). Plazma HIF-1 $\alpha$  düzeyleri NAKT yanıtı açısından bizim çalışmamızla uyumludur.

Literatüre baktığımızda Cai ve ark.'nın yaptığı çalışmada, meme kanseri hastalarının plazma HIF-1 $\alpha$  düzeyleri benign meme tümörü olanlarla kıyaslanmış; meme kanseri grubunda, kontrol grubuna göre daha yüksek plazma HIF-1 $\alpha$  düzeylerinin olduğu ve agresif tümör özellikleri ile pozitif korelasyon gösterdiği bulunmuştur (Cai et al.,

2016). Bu sonuçlar, kemoterapinin sistemik hipoksik stres yanıtı üzerinde etkili olabileceğini desteklemektedir.

Çalışmamızda ilgi çeken bir diğer bulgu ise plazma HIF-1 $\alpha$  düzeyi ile tümör dokusundaki ekspresyon arasındaki korelasyonun negatif yönde sınırlı olmasıdır. Tedavi öncesi plazma HIF-1 $\alpha$  düzeyi ile tümör dokusundaki immünohistokimyasal H-skoru arasında orta düzeyde negatif korelasyon saptanmış olsa da (Spearman  $\rho = -0,63$ ,  $p = 0,091$ ), istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaşamamıştır. Tedavi sonrası ise korelasyon daha da zayıflamış ( $\rho = -0,38$ ,  $p = 0,28$ ), iki ölçüm arasında doğrudan bir ilişki kurulamamıştır. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa bile elde ettiğimiz bulgular plazma ve doku arasındaki hipoksinin lokal ve sistemik etkilerinin ilişkisini değerlendirebilmek için düşündürücüdür. Bu bulgu, sistemik dolaşımdaki hipoksi yanıtının, lokal tümör mikroçevresi ile birebir örtüşmeyebileceğini göstermektedir. Çalışmamızda olduğu gibi plazma ve doku HIF-1 $\alpha$  düzeylerinin karşılaştırmalı olarak incelendiği başka bir çalışma bulunmadığından, mevcut verilerin yorumlanması güçtür ve bu konuda ek çalışmalara ihtiyaç vardır.

Hipoksi göstergelerinin kanda ve dokuda farklı olması farklı sebeplerle ilişkili olabilir. HIF-1 $\alpha$  sitoplazmada sentezlenir ve hipoksi koşullarında nükleusa transloke olarak transkripsiyonu başlatır. Ancak normoksik koşullarda prolin hidroksilazlar tarafından hızla ubiquitinlenir ve proteozomlar tarafından yıkılır (Semenza, 2012). Bu nedenle, dolaşımdaki formu ya kısa süreli bulunabilir ya da parçalanmış olabilir. Bu durum plazma düzeylerinde ölçüm farklılıklarına sebep olabilir. Bir diğer sebep HIF-1 $\alpha$ 'nın doğrudan hücre dışına salınan bir protein olmamasıdır. VEGF gibi diğer hipoksik biyobelirteçlerin de sekresyon özelliği sınırlıdır. Heikal ve ark'nın çalışmasında belirtildiği şekilde HIF-1 $\alpha$  hücre dışı ortamda oldukça kararsızdır ve serum düzeyleri doku düzeyindeki ekspresyonu mutlak olarak yansıtmayabilir (Heikal, Ghezzi, Mengozzi, & Ferns, 2018).

Yapılan bazı çalışmalarda HIF-1 $\alpha$ 'nın oksijen konsantrasyonuna duyarlı bir transkripsiyon faktörü olmakla birlikte, ekspresyonunun çeşitli mekanizmalarla düzenlenebileceği gösterilmiştir. Özellikle kanser hücrelerinde PI3K/Akt/mTOR yolağının aktivasyonu veya reaktif oksijen türleri (ROS) gibi hipoksiden bağımsız faktörlerin HIF-1 $\alpha$  düzeyini artırabileceği bildirilmiştir (Ippolito et al., 2019; Zhong et al., 2000), Bu değişkenler ışığında, plazma düzeyleri bağımsız bir sistemik yanıt

göstergesi olarak değerlendirilmelidir ve tek başına tümör dokusunun durumunu yansıtması beklenmemelidir.

Çalışmamızın dikkat çekici bulgularından biri, tam yanıt veren hastalarda plazma HIF-1 $\alpha$  düzeylerinde daha keskin düşüşlerin gözlenmesidir. Özellikle bireysel hasta düzeyinde karşılaştırma yapıldığında, tam yanıt grubundaki eğimlerin negatif yönde ve daha belirgin olduğu grafiksel olarak da ortaya konmuştur (Şekil 21). Plazma HIF-1 $\alpha$  düzeyi sadece iki hastada NAKT sonrası artış gösterdi (2 ve 8 no'lu hastalar) ve her ikisi de kısmi yanıt grubunda yer almaktaydı. Tam yanıt grubunda NAKT sonrası değişen düzeylerde düşüş saptandı. Totalde %80 hastada NAKT sonrası plazma HIF-1 $\alpha$  düzeylerinde düşüş izlendi. Bu sonuçlar, HIF-1 $\alpha$  düzeylerindeki değişimin tedavi yanıtının bir göstergesi olabileceğini ortaya koymaktadır. Ayrıca hipoksinin azaldığı ortamlarda tümör proliferasyonunun ve invazyon potansiyelinin baskılandığını düşündürmektedir.

Literatürde yüksek HIF-1 $\alpha$  ekspresyonu, kötü prognoz ve tedaviye direnç ile ilişkilendirilmiştir (Cai et al., 2016; Semenza, 2016). Semenza ve ark'nın çalışmasında, TNBC gibi agresif fenotiplere sahip tümörlerde HIF-1 $\alpha$ 'nın terapötik bir hedef olabileceği ve kemoterapi ile birlikte HIF inhibitörlerinin kullanılmasının hasta sağkalımını iyileştirebileceği belirtilmiştir (Semenza, 2016). Bizim çalışmamızdaki tam yanıt ve HIF-1 $\alpha$  düşüşü arasındaki ilişki, bu görüşü klinik olarak desteklemektedir. HIF-1 $\alpha$ 'nın regülasyonu, tümör hücrelerinin apoptotik yanıt verme kapasitesini de etkileyebileceği için, bu düşüşün yalnızca pasif bir değişim değil, aktif bir tedavi etkisi yansımaları olduğu söylenebilir.

Manginstar ve arkadaşlarının çalışmasında daha önce belirtildiği üzere, HIF-1 $\alpha$  düzeylerinde anlamlı bir düşüş gözlenmiş ve solid tümör yanıt değerlendirmesine göre tümörlerde gerileme saptanmıştır; ancak bu değişim ile tedavi yanıtı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki kurulamamıştır (Manginstar et al., 2022). Benzer şekilde, bizim çalışmamızda da tam yanıt ve kısmi yanıt grupları arasındaki HIF-1 $\alpha$  düzeylerinde gözlenen azalma, tedavi yanıtından bağımsız olarak benzer oranlarda gerçekleşmiştir. Bu bulgu, HIF-1 $\alpha$  biyobelirteç düzeylerindeki mutlak düşüşün tedavi yanıtını öngörmede anlamlı bir ayırım sağlamadığını düşündürmektedir.

Bu durumun olası nedeni, her iki çalışmada da hasta sayısının azlığı ve örneklemin homojen olmamasıdır; bu faktörler istatistiksel anlamlılığın ortaya çıkmasını engellemiş olabilir. Mevcut bulgular, HIF-1 $\alpha$ 'nın hem prognostik hem de prediktif biyobelirteç olarak potansiyel rolünü desteklemekle birlikte, hasta sayısının azlığı bu yorumun genellenebilirliğini sınırlandırmaktadır. Bu ilişkinin netleştirilmesi için geniş örneklemlili ve homojen hasta gruplarını içeren prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

Tedavi öncesi plazma HIF-1 $\alpha$  düzeyinin tam yanıtı öngörmedeki tanısal gücünü değerlendirmek için ROC analizi yapıldı. ROC eğrisinin altında kalan alanın (AUC = 0,63) istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü (p=0,61). ROC analizi sonuçlarına göre, tedavi öncesi plazma HIF-1 $\alpha$  düzeyinin tam yanıtı öngörmedeki tanısal gücü zayıf düzeyde ancak tamamen tesadüften (0,5) daha iyi olduğu görülmüştür. En iyi cut off değeri 2250,1 pg/mL olarak belirlenmiş ve bu değerde duyarlılık %50, özgüllük %83 bulunmuştur. Literatürde meme kanseri hastalarında plazma HIF-1 $\alpha$  düzeyi için kabul edilmesi gereken belli bir değeri belirten çalışma bulunmamaktadır. Daha geniş hasta popülasyonlarıyla yapılacak çalışmalar ile belirlenecek değerler plazma HIF-1 $\alpha$  düzeylerinin biyobelirteç olarak kullanılmasına katkı sağlayacaktır.

Çalışmada tedavi öncesi plazma HIF-1 $\alpha$  düzeyleri ile tümör dokusundaki immünohistokimyasal H-skoru tümörlerin patolojik özelliklerinin korelasyon analizleri yapıldı. Tedavi öncesi analizlerde ER ve PR'nin birlikte pozitifleşme eğiliminde olduğu görüldü. HER2 ise PR ile daha yüksek olmak üzere hormon reseptör negatifliği ile gidiyor ve aralarında ters ilişki saptandı. HER2 pozitifliği ise, özellikle PR ile daha belirgin olmak üzere, hormon reseptör negatifliği ile ilişkili bulundu ve aralarında ters yönde korelasyon saptandı. Ayrıca, HER2 pozitif tümörlerde Ki-67 proliferasyon indeksinin daha yüksek olduğu belirlendi. Bu bulgular, literatürde bildirilen veriler ile uyumlu olarak değerlendirildi (Cheang et al., 2009; Dowsett et al., 2008; Rakha et al., 2007),

Plazma HIF-1 $\alpha$  düzeyleri tümör parametreleriyle değerlendirildiğinde HER2 pozitif tümörlerde artış eğiliminde olduğu gözlemlendi. Son yıllarda, HER2 pozitif meme kanserlerinde HIF-1 $\alpha$  aktivasyonunun artmış olabileceği yönünde çeşitli bulgular yayınlanmıştır. Bu potansiyel ilişki, HER2 yolağının hücrel metabolizma ve oksijen homeostazisi üzerindeki etkileriyle ilişkilendirilmektedir. Laughner ve ark'nın çalışmasında HER2/neu sinyal yolağının HIF-1 $\alpha$  proteininin sentezini translayonel

düzeyde artırdığı deneysel olarak gösterilmiştir. Bu bulgular, HER2 pozitifliğinde gözlenen artmış HIF-1 $\alpha$  düzeylerinin biyolojik temelini açıklamaktadır (Laughner, Taghavi, Chiles, Mahon, & Semenza, 2001).

Yamamoto ve ark.'nın çalışmasında ise HIF-1 $\alpha$ 'nın HER2 ekspresyonu ile pozitif korelasyon gösterdiği, aynı zamanda kötü prognoz ve yüksek proliferasyonla ilişkili olduğu bulunmuştur. Bu çalışma, HER2 pozitifliğinin hipoksi ile sinerjik etki oluşturduğunu öne sürmektedir (Yamamoto et al., 2008). Zhong ve ark.'nın çalışmasında HER2 sinyal yollarının (örneğin PI3K/AKT/mTOR ve MAPK) HIF-1 $\alpha$ 'nın translasyonunu ve stabilizasyonunu uyararak hipoksik olmayan koşullarda dahi ekspresyonunu artırabileceği bildirilmiştir (Zhong et al., 2000). Benzer şekilde, Doe ve ark.'nın yayınında c-myc onkogeninin HER2 pozitif tümörlerde daha aktif olması, HIF-1 $\alpha$ 'nın pVHL aracılığıyla degradasyonunu baskılayarak, normoksik ortamda bile proteinin birikimine neden olabileceği gösterilmiştir (Doe et al., 2012). Çalışmamızda tümör dokusunda ölçülen H-skorunun diğer değişkenlerle zayıf korele olduğu ve bağımsız olduğu belirlendi. Bu bulgular HIF-1 $\alpha$ 'nın doku bazlı ekspresyonunun daha bağımsız ve özgün bir biyolojik süreci yansıttığını düşündürmektedir,

Çalışmada göze çarpan bir diğer bulgu ise tedavi sonrası tümör dokusundaki HIF-1 $\alpha$  ekspresyonu ile lenf nodu tutulumu ve klinik evre arasında güçlü pozitif korelasyon saptanmış olmasıdır (Spearman  $\rho \approx +0,7$ ). Bu ilişki, H-skoru değerlerinin tümör progresyonu ve yayılım derecesi ile birlikte arttığını göstermektedir. Meme kanserinde klinik evrelendirmede kullanılan parametreler, tümörün boyutu, aksiller lenf nodu tutulumu ve uzak metastaz durumudur. Bu sebeple lenf nodu tutulumu hem evreleme hem de prognoz açısından oldukça önemlidir (Giuliano et al., 2017), Lenf nodu sayısındaki artış klinik evrenin de artmasına sebep olmaktadır. Bu durumu çalışmamızdaki hastalarda da tümör dokusundaki HIF-1 $\alpha$  H-skorunun lenf nodu ve klinik evreyle beraberce korele olmasını açıklamaktadır.

Literatüre baktığımızda, Schoppmann ve ark.'nın çalışmasında HIF-1 $\alpha$  ekspresyonunun VEGF-C düzeyleri, lenfovasküler invazyon ve aksiller lenf nodu metastazı arasında anlamlı korelasyon sergilediği raporlanmıştır (Schoppmann et al., n.d.), Nie ve ark.'nın 220 meme kanseri hastasında yaptığı çalışmada tümör dokusundaki HIF-1 $\alpha$  ekspresyonu klinikopatolojik verilerden sadece lenf nodu tutulumu ile ilişkili bulunmuştur (Nie et al., 2018). Bu bulgular, HIF-1 $\alpha$ 'nın meme

kanserindeki tümörögenез, tümör büyümesi, tümör invazyonu ve metastatik potansiyel üzerindeki rolünü destekleyen literatürle paraleldir (Gao et al., 2016; Shiraishi et al., 2017; Zhou et al., 2016). Bu durum, tedavi öncesi HIF-1 $\alpha$  düzeyinin yanı sıra, tedavi sonrası değişim miktarının yanıtı öngörmede önemli olabileceğini göstermektedir.

HIF1 $\alpha$ , düşük oksijen koşullarında hücre içinde stabilize olarak VEGF gibi hedef genlerin transkripsiyonunu aktive eder ve böylece tümör hücrelerinin yeni damar yapımı yoluyla beslenmesini sağlar. Bazı çalışmalar HIF1 $\alpha$  ve VEGF arasında güçlü bir pozitif ilişki olduğunu desteklemektedir. Örneğin Yamamoto ve ark.'nın çalışmasında 171 meme kanseri tümör dokusundan yapılan immünohistokimyasal analizlerde en güçlü ilişki HIF1 $\alpha$  ve VEGF arasında bulunmuştur (p<0,0001) (Yamamoto et al., 2008). Ancak Garg ve ark.'nın 50 meme kanseri olgusunda yaptıkları çalışmada HIF1 $\alpha$  ile VEGF arasında doğrudan bir korelasyon belirlenmemiştir (Garg et al., n.d.)

Bizim çalışmamızda tümör dokusundan immünohistokimyasal olarak VEGF ekspresyonu değerlendirilmemiş olup sadece plazmadan ELISA ile ölçümü yapılmıştır. Literatürde meme kanseri hastalarında plazmadan HIF1 $\alpha$  ile VEGF ölçümü yapılan tek çalışma Abdelgalil ve ark.'nın 154 meme kanseri hastası ve 132 kontrol olguda VEGFA, VEGFR2, VEGI ve HIF1A polimorfizmlerini incelediği çalışmadır. Bu çalışmada kontrol ve hasta grubunda VEGFA, VEGFR2, VEGI ve HIF1A serum konsantrasyonları değerlendirilmiştir. Hasta grubunda VEGFA, VEGI ve HIF1A daha yüksek bulunmuş ve istatistik olarak anlamlı saptanmıştır (Abdelgalil et al., 2024).

Çalışmamızda VEGF düzeyleri, tedavi öncesinde yalnızca iki hastada, tedavi sonrasında ise üç hastada ölçülebilir düzeyde saptandığından, değişim oranları hesaplanarak istatistiksel olarak değerlendirilememiştir. Tedavi öncesi ve sonrası pozitiflik yalnızca 2 numaralı olguda devam ederken, 5 numaralı olguda tedavi öncesi pozitiflik tedavi sonrasında negatifleşmiştir. Buna karşılık 8 ve 10 numaralı olgularda tedavi öncesi negatif iken tedavi sonrası pozitifleşme gözlenmiştir. Bu dört olgunun yalnızca biri tam yanıt grubunda yer alırken, diğer üçü kısmi yanıt göstermiştir. Ayrıca, tedavi sonrasında HIF-1 $\alpha$  düzeyleri artış gösteren her iki hasta da VEGF pozitifliği bulunan olgulardır. Örneklem sayısının sınırlı olması nedeniyle istatistiksel

anlamlılık elde edilememekle birlikte, bu durum VEGF yüksekliğinin kötü prognoz ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Literatürde, çalışmamızdaki gibi neoadjuvan kemoterapi öncesi ve sonrasında plazma VEGF düzeylerinin karşılaştırıldığı bir çalışma bulunmamaktadır. Daha geniş hasta gruplarında yapılacak ileri araştırmalar, hem VEGF ile HIF-1 $\alpha$  arasındaki ilişkinin hem de bu parametrelerin prognozla olan bağlantısının aydınlatılması açısından önemli olacaktır.

HIF1 $\alpha$ , hipoksik tümör mikroçevresine karşı hücrel yanıtın düzenlenmesinde merkezi rol oynayan kritik bir transkripsiyon faktörüdür. Meme kanseri başta olmak üzere birçok solid tümörde, HIF1 $\alpha$ 'nın stabil hale gelerek nükleusta HIF1 $\beta$  ile dimer oluşturması, hücrelerin hayatta kalma, anjiyogenez, glikolitik metabolizma, invazyon, epitel-mezenkimal geçiş (EMT) ve metastaz yeteneklerini artıran çok sayıda hedef genin transkripsiyonunu tetiklemektedir (Keith et al., 2012). Tümör yayılımı açısından incelendiğinde, HIF1 $\alpha$ 'nın metastazın yönünü ve yayılım biçimini de belirleyici şekilde etkilediği gösterilmiştir. Örneğin, HIF1 $\alpha$ 'nın genetik olarak silinmesi kemik metastazlarını önemli ölçüde azaltırken, akciğer metastazlarında artışa neden olmuştur. Bu durum, HIF1 $\alpha$ 'nın dokuya özgü farklı roller üstlendiğini ortaya koymaktadır (Todd et al., n.d.). Sonuç olarak, HIF1 $\alpha$ , hipoksik tümör mikroçevresinde epitel-mezenkimal geçişi destekleyerek tümörün lokal invazyon ve uzak metastaz kabiliyetini artırmaktadır. Bu nedenle HIF1 $\alpha$  ve ilişkili sinyal yolları, meme kanseri başta olmak üzere birçok solid tümörde hedefe yönelik tedavi stratejileri geliştirilmesi açısından son derece önemli bir araştırma alanı oluşturmaktadır.

Meme kanseri tedavisinde, HIF-1 $\alpha$  inhibisyonu, tümör agresifliği, metastaz ve tedavi direncini hedeflemede kritik bir strateji olarak öne çıkmaktadır. HIF-1 $\alpha$ 'nın aşırı ekspresyonu, özellikle kemoterapi ve endokrin tedavi direnciyle güçlü bir korelasyon gösterdiğinden, HIF-1 $\alpha$ 'yı hedefleyen inhibitör tedaviler büyük bir potansiyel taşımaktadır. Çeşitli HIF-1 $\alpha$  inhibitörleri araştırılmakta olup, bu inhibitörlerin meme kanserinde kemoterapötik ajanlara karşı direncini kırarak tümör eradikasyonuna katkıda bulunabileceği belirtilmiştir (Bui, Nguyen, Lee, & Cho, 2022). Bu inhibitörlerin çoğu halen araştırma aşamasındadır ve henüz klinik kullanıma giren bulunmamaktadır. HIF-1 $\alpha$  inhibitörlerinin tek başına tedavide etkili olmasa da mevcut kemoterapi, radyoterapi veya endokrin tedavi gibi konvansiyonel tedaviler ile kombinasyon halinde kullanılmasının, tedavi etkinliğini artırma potansiyeli taşıdığı

düşünülmektedir (Zhi et al., 2024). Genel olarak, HIF-1 $\alpha$  inhibisyonuna dayalı tedaviler, meme kanseri için yeni ve etkili tedavi seçenekleri geliştirme potansiyeline sahiptir, ancak bu alanda kapsamlı klinik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Çalışmamızın bazı sınırlılıkları bulunmaktadır. Öncelikle, çalışmaya dahil edilen hasta sayısının (n=10) görece düşük olması, özellikle alt grup analizlerinde istatistiksel gücü azaltmış ve genel sonuçların genellenebilirliğini sınırlamıştır. Ayrıca, bazı hastalarda tru-cut biyopsi veya mastektomi materyalinde yeterli doku bulunamaması nedeniyle immünohistokimyasal analiz yapılamamıştır. Bu durum, örneklem sayısında daha da azalmaya yol açmıştır. Tedavi sonrası tam yanıt alınan hastalarda rezidü tümör dokusunun bulunmaması da bu gruba ait histopatolojik değerlendirmeyi imkânsız kılmıştır.

Bir diğer sınırlılık ise, çalışma popülasyonunun patolojik alt tiplere göre dengeli bir şekilde dağılmaması ve alt tiplerin küçük örneklerle temsil edilmesidir. Bu dağılım farklılığı, HER2 pozitif hastaların baskın olmasına ve hormon pozitif hastaların yeterince temsil edilmemesine neden olmuştur. Ayrıca, çalışmada HIF-1 $\alpha$  biyobelirteci ele alınmış olup, hipoksinin karmaşık biyolojik süreçlerini temsil eden diğer hipoksiyle ilişkili belirteçler veya gen ekspresyon imzaları değerlendirilememiştir. Son olarak, plazma düzeyleri ile tümör dokusundaki ekspresyonlar arasında saptanan korelasyonun zayıf olması, HIF-1 $\alpha$  düzeylerinin heterojen dağılım gösterebileceğini düşündürmekte ve daha büyük örneklemli, çok merkezli çalışmalarla doğrulanması gerektiğini ortaya koymaktadır.

Bu çalışma, meme kanserinde hipoksiyle ilişkili HIF-1 $\alpha$  biyobelirteç düzeylerinin hem tümör dokusunda hem de plazmada karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi ile literatüre katkı sunmaktadır. Hem tümör dokusundan immünohistokimyasal analizler hem de periferik kandan ELISA yöntemi ile yapılan plazma düzeyi ölçümleri, farklı biyolojik örneklerden elde edilen verilerin karşılaştırılabilirliğini sağlamıştır. Ayrıca, literatürde ilk kez tedavi yanıtı ile biyobelirteç düzeylerindeki değişimlerin ilişkisini analiz eden yaklaşım, HIF-1 $\alpha$ 'nın potansiyel prognostik ve prediktif değerini ortaya koyma açısından özgün bir metodoloji sunmaktadır. Plazma düzeyleri ile dokudaki ekspresyonun korelasyonel olarak değerlendirilmesi ise, invaziv olmayan biyobelirteçlerin klinik karar süreçlerindeki kullanım potansiyeline dair öncü bir bakış açısı kazandırmaktadır. Bu yönüyle çalışmamız hem translasyonel onkoloji alanında

hem de kişiselleştirilmiş tedavi planlamasında hipoksi biyobelirteçlerinin önemini vurgulayan nadir örneklerden biri olarak değerlendirilmektedir.



## Sonuç ve Öneriler

### Sonuç

Bu doktora tez çalışmasında, meme kanserli hastalarda neoadjuvan kemoterapi öncesi ve sonrası tümör dokusunda HIF-1 $\alpha$  ekspresyonunun immünohistokimyasal analizi ile plazmadaki HIF-1 $\alpha$  ve VEGF düzeylerinin değişimleri ve bunların klinik yanıtla ilişkisi incelenmiştir.

Yapılan analizler sonucunda, NAKT uygulaması sonrasında tümör dokusundaki HIF-1 $\alpha$  ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma kaydedilmiştir (ortalama H-skoru 233'ten 109'a düşmüştür,  $p=0,006$ ). Bu bulgu, kemoterapinin tümörün hipoksik yanıt mekanizmaları üzerinde baskılayıcı bir etki oluşturduğunu ortaya koymakta ve literatürdeki benzer çalışmalarla tutarlılık sergileyerek HIF-1 $\alpha$ 'nın tümör hücre proliferasyonunu destekleyen ve tedavi direncine katkıda bulunan bir faktör olduğu hipotezini güçlendirmektedir.

Plazma HIF-1 $\alpha$  düzeylerinde de NAKT sonrası belirgin bir düşüş eğilimi gözlenmiştir (ortalama 1600 pg/mL'den 1020 pg/mL'ye). Küçük örneklem boyutu nedeniyle istatistiksel anlamlılığa ulaşılmasa da ( $p=0,064$ ), bu güçlü azalma eğilimi dikkat çekicidir. Özellikle tam yanıt veren hastalarda plazma HIF-1 $\alpha$  düzeylerinde daha keskin ve belirgin düşüşler gözlemlenirken, kısmi yanıt veren hastalarda daha sınırlı düşüşler veya bazı olgularda artışlar saptanmıştır. Ancak, mutlak düşüş oranının tedavi yanıtını öngörmede anlamlı bir fark yaratmadığı belirtilmiştir.

Tedavi öncesi plazma HIF-1 $\alpha$  düzeyi ile tümör dokusundaki immünohistokimyasal H-skoru arasında orta düzeyde negatif korelasyon saptanmasına rağmen (Spearman  $\rho = -0,63$ ,  $p = 0,091$ ), bu korelasyon istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu durum, plazma HIF-1 $\alpha$  düzeylerinin doku ekspresyonunu tam olarak yansıtmayabileceğini ve bağımsız bir sistemik yanıt göstergesi olarak değerlendirilmesi gerektiğini düşündürmektedir. Çalışmada VEGF düzeyleri, çok az sayıda hastada ölçülebilir düzeylerde olduğu için istatistiksel analizlere dahil edilememiştir. Bununla birlikte, plazma HIF-1 $\alpha$  düzeylerinde artış görülen hastalarda VEGF pozitifliği saptanması, VEGF yüksekliğinin kötü prognozla ilişkili olabileceği yönünde bir eğilime işaret etmektedir.

Meme kanserinde HIF-1 $\alpha$ 'nın aşırı ekspresyonu; artmış tümör boyutu, ileri tümör evresi, yüksek histolojik grade ve metastaz ile ilişkilendirilmiştir. Yüksek HIF-1 $\alpha$  ekspresyonu klinik olarak tümör progresyonu ve kötü prognozla ilişkilidir. Özellikle ER pozitif meme kanserinde azalmış hastalüksız sağkalım ile ilişkili bağımsız bir prognostik faktör olarak tanımlanmıştır. Hipoksi, meme kanserinde kötü prognozla ilişkili bir faktör olup, daha agresif malign fenotiplerin ortaya çıkmasına neden olabilir ve tedavi direnci gelişimini teşvik edebilir.

## Öneriler

Araştırma bulgularına ve literatürle yapılan karşılaştırmalara dayanarak, bu ve benzeri çalışmaları yürütecek araştırmacılar ve karar verici kurumlar için aşağıdaki öneriler sunulmaktadır;

1. Hasta Sayısının Artırılması: Mevcut çalışma, sınırlı hasta sayısı nedeniyle bazı analizlerde istatistiksel anlamlılığa ulaşamamıştır. Gelecekteki çalışmalarda daha büyük örneklerle benzer analizlerin yapılması, sonuçların genellenebilirliğini artıracaktır.
2. Moleküler Alt Tip Bazlı Değerlendirme: Moleküler alt tiplerin hipoksiyle ilişkili yanıtları farklılık gösterebilir, Gelecek çalışmalarda Luminal A, Luminal B, HER2 pozitif ve TNBC gruplarının ayrı alt analizlerle değerlendirilmesi önerilmektedir.
3. Plazma Biyobelirteç Takibi: HIF-1 $\alpha$  ve VEGF gibi plazma biyobelirteçlerinin dinamik değişimlerinin tedaviye yanıtla korelasyonu daha ayrıntılı olarak incelenmeli, olası cut-off düzeyleri belirlenerek prediktif değerleri ortaya konmalıdır.
4. Uzun Dönem Takip: Bu çalışmada kısa vadeli tedavi yanıtı değerlendirilebilmiştir. HIF-1 $\alpha$  düzeylerindeki değişimlerin hastalüksız sağkalım ve genel sağkalım gibi uzun dönem sonuçlarla ilişkisinin değerlendirilmesi, klinik karar süreçlerine katkı sağlayacaktır.
5. Anti-Hipoksik Ajanların Etkinliği: HIF inhibitörleri gibi anti-hipoksik tedavi yaklaşımlarının, özellikle NAKT ile kombine uygulandığında tedavi yanıtını artırıp artırmadığını araştırmak amacıyla klinik çalışmalar planlanmalıdır.

6. Kişiselleştirilmiş Tıp Yaklaşımları: Meme kanserinin heterojen yapısı ve farklı moleküler alt tiplerinin tedaviye farklı yanıtlar vermesi, kişiselleştirilmiş tedavi yaklaşımlarının önemini vurgulamaktadır. Hipoksik biyobelirteçlerin, her bir hasta için en uygun tedavi stratejisinin belirlenmesinde ve klinik kararların yönlendirilmesinde kullanılmasına yönelik araştırmalar desteklenmelidir.

Bu çalışma, meme kanserinde hipoksinin prognostik rolünü anlamak ve tedavi yaklaşımlarını optimize etmek için bir temel oluşturmaktadır. Bu öneriler doğrultusunda yapılacak ileri araştırmalar, HIF-1 $\alpha$ 'nın tedaviye yanıt ve prognostik değerini daha iyi tanımlayarak, meme kanserinde daha etkili ve kişiselleştirilmiş tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine katkı sağlayacaktır.



## Kaynaklar

- Abdelgalil, A. A., Monir, R., Elmetwally, M., Ghattas, M. H., Bazeed, F. B., Mesbah, N. M., ... Mehanna, E. T. (2024). The Relation of VEGFA, VEGFR2, VEGI, and HIF1A Genetic Variants and Their Serum Protein Levels with Breast Cancer in Egyptian Patients. *Biochemical Genetics*, 62(1), 547–573. doi:10.1007/S10528-023-10419-4/FIGURES/1
- Bos, R., Van der Groep, P., Greijer, A. E., Shvarts, A., Meijer, S., Pinedo, H. M., ... Van der Wall, E. (2003). Levels of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  independently predict prognosis in patients with lymph node negative breast carcinoma. *Cancer*, 97(6), 1573–1581. doi:10.1002/CNCR.11246,
- Bray, F., Laversanne, M., Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Soerjomataram, I., & Jemal, A. (2024). Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 74(3), 229–263. doi:10.3322/caac.21834
- Bui, B. P., Nguyen, P. L., Lee, K., & Cho, J. (2022). Hypoxia-Inducible Factor-1: A Novel Therapeutic Target for the Management of Cancer, Drug Resistance, and Cancer-Related Pain. *Cancers*, 14(24), 6054. doi:10.3390/CANCERS14246054
- Cai, F.-F., Xu, C., Pan, X., Cai, L., Lin, X.-Y., Chen, S., ... Biskup, E. (2016). Prognostic value of plasma levels of HIF-1 $\alpha$  and PGC-1 $\alpha$  in breast cancer. *Oncotarget*, 7(47), 77793–77806. doi:10.18632/ONCOTARGET.12796
- Cheang, M. C. U., Chia, S. K., Voduc, D., Gao, D., Leung, S., Snider, J., ... Nielsen, T. O. (2009). Ki67 Index, HER2 Status, and Prognosis of Patients With Luminal B Breast Cancer. *JNCI Journal of the National Cancer Institute*, 101(10), 736. doi:10.1093/JNCI/DJP082
- Cortazar, P., Zhang, L., Untch, M., Mehta, K., Costantino, J. P., Wolmark, N., ... Von Minckwitz, G. (2014). Pathological complete response and long-term clinical benefit in breast cancer: the CTNeoBC pooled analysis. *The Lancet*, 384(9938), 164–172. doi:10.1016/S0140-6736(13)62422-8
- Creighton, C. J. (2012). The molecular profile of luminal B breast cancer. *Biologics: Targets and Therapy*, 6, 289–297. doi:10.2147/BTT.S29923,
- Dai, X., Li, T., Bai, Z., Yang, Y., Liu, X., Zhan, J., & Shi, B. (2015). Breast cancer intrinsic subtype classification, clinical use and future trends. *American Journal of Cancer Research*, 5(10), 2929. Retrieved from <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4656721/>
- Dales, J. P., Garcia, S., Meunier-Carpentier, S., Andrac-Meyer, L., Haddad, O., Lavaut, M. N., ... Charpin, C. (2005). Overexpression of hypoxia-inducible factor HIF-1 $\alpha$  predicts early relapse in breast cancer: Retrospective study in a series of 745 patients. *International Journal of Cancer*, 116(5), 734–739. doi:10.1002/IJC.20984,
- Daveau, C., Savignoni, A., Abrous-Anane, S., Pierga, J. Y., Reyat, F., Gautier, C., ... Bollet, M. A. (2011). Is Radiotherapy an Option for Early Breast Cancers With Complete Clinical Response After Neoadjuvant Chemotherapy? *International Journal of Radiation Oncology\*Biophysics\*Physics*, 79(5), 1452–1459. doi:10.1016/J.IJROBP.2010.01.003
- Doe, M. R., Ascano, J. M., Kaur, M., & Cole, M. D. (2012). Myc posttranscriptionally induces HIF1 protein and target gene expression in normal and cancer cells. *Cancer Research*, 72(4), 949–957. doi:10.1158/0008-5472.CAN-11-2371,
- Dowsett, M., Allred, C., Knox, J., Quinn, E., Salter, J., Wale, C., ... Buzdar, A. (2008). Relationship between quantitative estrogen and progesterone receptor

- expression and human epidermal growth factor receptor 2 (HER-2) status with recurrence in the arimidex, tamoxifen, alone or in combination trial. *Journal of Clinical Oncology*, 26(7), 1059–1065.  
doi:10.1200/JCO.2007.12.9437;PAGE:STRING:ARTICLE/CHAPTER
- Ema, M., Taya, S., Yokotani, N., Sogawa, K., Matsuda, Y., & Fujii-Kuriyama, Y. (1997). A novel bHLH-PAS factor with close sequence similarity to hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  regulates the VEGF expression and is potentially involved in lung and vascular development. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(9), 4273–4278.  
doi:10.1073/PNAS.94.9.4273,
- Fragomeni, S. M., Sciallis, A., & Jeruss, J. S. (2018). Molecular Subtypes and Local-Regional Control of Breast Cancer. *Surgical Oncology Clinics of North America*, 27(1), 95–120. doi:10.1016/j.soc.2017.08.005
- Gao, T., Li, J. zhi, Lu, Y., Zhang, C. ying, Li, Q., Mao, J., & Li, L. hong. (2016). The mechanism between epithelial mesenchymal transition in breast cancer and hypoxia microenvironment. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 80, 393–405.  
doi:10.1016/J.BIOPHA.2016.02.044
- Garg, S., Madan, M., Sharma, M., Manjari, M., & Piplani, S. (2020). Correlation of VEGF and HIF-1 $\alpha$  in breast carcinoma (an immunohistochemical study). *IP Journal of Diagnostic Pathology and Oncology*, 3(1), 40–44.  
doi:10.18231/2581-3706.2018.0009
- Generali, D., Berruti, A., Brizzi, M. P., Campo, L., Bonardi, S., Wigfield, S., ... Fox, S. B. (2006a). Hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  expression predicts a poor response to primary chemoendocrine therapy and disease-free survival in primary human breast cancer. *Clinical Cancer Research*, 12(15), 4562–4568. doi:10.1158/1078-0432.CCR-05-2690,
- Generali, D., Berruti, A., Brizzi, M. P., Campo, L., Bonardi, S., Wigfield, S., ... Fox, S. B. (2006b). Hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  expression predicts a poor response to primary chemoendocrine therapy and disease-free survival in primary human breast cancer. *Clinical Cancer Research*, 12(15), 4562–4568. doi:10.1158/1078-0432.CCR-05-2690,
- Giatromanolaki, A., Koukourakis, M. I., Simopoulos, C., Polychronidis, A., Gatter, K. C., Harris, A. L., & Sivridis, E. (2004). c-erbB-2 related aggressiveness in breast cancer is hypoxia inducible factor-1 $\alpha$  dependent. *Clinical Cancer Research*, 10(23), 7972–7977. doi:10.1158/1078-0432.CCR-04-1068,
- Gilreath, C., Boerma, M., Qin, Z., Hudson, M. K., & Wang, S. (2021). The Hypoxic Microenvironment of Breast Cancer Cells Promotes Resistance in Radiation Therapy. *Frontiers in Oncology*, 10. doi:10.3389/FONC.2020.629422,
- Giuliano, A. E., Connolly, J. L., Edge, S. B., Mittendorf, E. A., Rugo, H. S., Solin, L. J., ... Hortobagyi, G. N. (2017). Breast Cancer—Major changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 67(4), 290–303.  
doi:10.3322/CAAC.21393;JOURNAL:JOURNAL:15424863;PAGEGROUP:STRING:PUBLICATION
- Heikal, L., Ghezzi, P., Mengozzi, M., & Ferns, G. (2018). Assessment of HIF-1 $\alpha$  expression and release following endothelial injury in-vitro and in-vivo. *Molecular Medicine*, 24(1), 1–10. doi:10.1186/S10020-018-0026-5/FIGURES/8
- Heitz, F., Harter, P., Lueck, H. J., Fissler-Eckhoff, A., Lorenz-Salehi, F., Scheil-Bertram, S., ... Bois, A. du. (2009). Triple-negative and HER2-overexpressing breast cancers exhibit an elevated risk and an earlier occurrence of cerebral

- metastases. *European Journal of Cancer*, 45(16), 2792–2798.  
doi:10.1016/j.ejca.2009.06.027
- Howlader, N., Cronin, K. A., Kurian, A. W., & Andridge, R. (2018). Differences in breast cancer survival by molecular subtypes in the United States. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 27(6), 619–626. doi:10.1158/1055-9965.EPI-17-0627,
- Hu, C.-J., Wang, L.-Y., Chodosh, L. A., Keith, B., & Simon, M. C. (2003). Differential Roles of Hypoxia-Inducible Factor 1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) and HIF-2 $\alpha$  in Hypoxic Gene Regulation. *Molecular and Cellular Biology*, 23(24), 9361–9374. doi:10.1128/MCB.23.24.9361-9374.2003,
- Ippolito, L., Morandi, A., Giannoni, E., & Chiarugi, P. (2019). Lactate: A Metabolic Driver in the Tumour Landscape. *Trends in Biochemical Sciences*, 44(2), 153–166. doi:10.1016/J.TIBS.2018.10.011,
- Keith, B., Johnson, R. S., & Simon, M. C. (2012). HIF1  $\alpha$  and HIF2  $\alpha$ : sibling rivalry in hypoxic tumour growth and progression. *Nature Reviews Cancer*, 12(1), 9–22. doi:10.1038/NRC3183,
- Kronblad, Å., Jirström, K., Rydén, L., Nordenskjöld, B., & Landberg, G. (2006). Hypoxia inducible factor-1 $\alpha$  is a prognostic marker in premenopausal patients with intermediate to highly differentiated breast cancer but not a predictive marker for tamoxifen response. *International Journal of Cancer*, 118(10), 2609–2616. doi:10.1002/IJC.21676,
- Laughner, E., Taghavi, P., Chiles, K., Mahon, P. C., & Semenza, G. L. (2001). HER2 (neu) Signaling Increases the Rate of Hypoxia-Inducible Factor 1 (HIF-1) Synthesis: Novel Mechanism for HIF-1-Mediated Vascular Endothelial Growth Factor Expression. *MOLECULAR AND CELLULAR BIOLOGY*, 21(12), 3995–4004. doi:10.1128/MCB.21.12.3995-4004.2001
- Leitzel, K., Teramoto, Y., Konrad, K., Chinchilli, V. M., Volas, G., Grossberg, H., ... Lipton, A. (1995). Elevated serum c-erbB-2 antigen levels and decreased response to hormone therapy of breast cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 13(5), 1129–1135. doi:10.1200/JCO.1995.13.5.1129,
- Loboda, A., Jozkowicz, A., & Dulak, J. (2010). HIF-1 and HIF-2 Transcription Factors - Similar but Not Identical. *Molecules and Cells*, 29(5), 435–442. doi:10.1007/s10059-010-0067-2
- Lundgren, K., Holm, C., & Landberg, G. (2007). Hypoxia and breast cancer: Prognostic and therapeutic implications. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 64(24), 3233–3247. doi:10.1007/S00018-007-7390-6,
- Majeed, W., Aslam, B., Javed, I., Khaliq, T., Muhammad, F., Ali, A., & Raza, A. (2014). Breast cancer: Major risk factors and recent developments in treatment. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 15(8), 3353–3358. doi:10.7314/APJCP.2014.15.8.3353,
- Manginstar, C., Hatibie Oley, M., Christian Oley, M., Merung, M., Lanra Fredrik Langi, F. G., Johnson Kepel, B., ... Faruk, M. (2022). Correlation analysis of HIF-1 $\alpha$  and Ca15-3 in response to neoadjuvant chemotherapy in locally advanced breast cancer: A cohort study in Indonesia. *Breast Disease*, 41, 481–487. doi:10.3233/BD-229004
- Masoud, G. N., & Li, W. (2015). HIF-1 $\alpha$  pathway: Role, regulation and intervention for cancer therapy. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 5(5), 378–389. doi:10.1016/J.APSB.2015.05.007,
- Mueller, C., Haymond, A., Davis, J. B., Williams, A., & Espina, V. (2018). Protein biomarkers for subtyping breast cancer and implications for future research.

- Expert Review of Proteomics*, 15(2), 131–152.  
doi:10.1080/14789450.2018.1421071,
- Nassar, A., Khor, A., Radhakrishnan, R., Radhakrishnan, A., & Cohen, C. (2014). Correlation of HER2 overexpression with gene amplification and its relation to chromosome 17 aneuploidy: a 5-year experience with invasive ductal and lobular carcinomas. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 7(9), 6254. Retrieved from <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4203248/>
- Nie, C., Lv, H., Bie, L., Hou, H., & Chen, X. (2018). Hypoxia-inducible factor 1-alpha expression correlates with response to neoadjuvant chemotherapy in women with breast cancer. *Medicine (United States)*, 97(51). doi:10.1097/MD.00000000000013551
- Norum, J. H., Andersen, K., & Sørli, T. (2014). Lessons learned from the intrinsic subtypes of breast cancer in the quest for precision therapy. *British Journal of Surgery*, 101(8), 925–938. doi:10.1002/BJS.9562,
- Prat, A., Lluch, A., Albanell, J., Barry, W. T., Fan, C., Chacón, J. I., ... Alba, E. (2014). Predicting response and survival in chemotherapy-treated triple-negative breast cancer. *British Journal of Cancer*, 111(8), 1532–1541. doi:10.1038/BJC.2014.444,
- Rakha, E. A., El-Sayed, M. E., Green, A. R., Paish, E. C., Powe, D. G., Gee, J., ... Ellis, I. O. (2007). Biologic and clinical characteristics of breast cancer with single hormone receptor-positive phenotype. *Journal of Clinical Oncology*, 25(30), 4772–4778. doi:10.1200/JCO.2007.12.2747;WGROU:STRING:PUBLICATION
- Ramírez-Tortosa, C. L., Alonso-Calderón, R., Gálvez-Navas, J. M., Pérez-Ramírez, C., Quiles, J. L., Sánchez-Rovira, P., ... Ramírez-Tortosa, M. (2022). Hypoxia-Inducible Factor-1 Alpha Expression Is Predictive of Pathological Complete Response in Patients with Breast Cancer Receiving Neoadjuvant Chemotherapy. *Cancers*, 14(21), 5393. doi:10.3390/CANCERS14215393/S1
- Robey, I. F., Lien, A. D., Welsh, S. J., Baggett, B. K., & Gillies, R. J. (2005). Hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  and the glycolytic phenotype in tumors. *Neoplasia*, 7(4), 324–330. doi:10.1593/neo.04430
- Schindl, M., Schoppmann, S. F., Samonigg, H., Hausmaninger, H., Kwasny, W., Gnant, M., ... Austrian Breast and Colorectal Cancer Study Group. (2002). Overexpression of hypoxia-inducible factor 1alpha is associated with an unfavorable prognosis in lymph node-positive breast cancer. *Clinical Cancer Research : An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 8(6), 1831–1837. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12060624>
- Schoppmann, S. F., Fenzl, A., Schindl, M., Bachleitner-Hofmann, T., Nagy, K., Gnant, M., ... Birner, P. (2006). Hypoxia inducible factor-1alpha correlates with VEGF-C expression and lymphangiogenesis in breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 99(2), 135–141. doi:10.1007/s10549-006-9190-3
- Semenza, G. L. (2010). HIF-1: upstream and downstream of cancer metabolism. *Current Opinion in Genetics and Development*, 20(1), 51–56. doi:10.1016/j.gde.2009.10.009
- Semenza, G. L. (2012). Hypoxia-inducible factors in physiology and medicine. *Cell*, 148(3), 399–408. doi:10.1016/J.CELL.2012.01.021,


- Semenza, G. L. (2016). The hypoxic tumor microenvironment: A driving force for breast cancer progression. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*, 1863(3), 382–391. doi:10.1016/j.bbamcr.2015.05.036
- Semenza, G. L., & Wang, G. L. (1992). A nuclear factor induced by hypoxia via de novo protein synthesis binds to the human erythropoietin gene enhancer at a site required for transcriptional activation. *Molecular and Cellular Biology*, 12(12), 5447–5454. doi:10.1128/MCB.12.12.5447-5454.1992
- Shamis, S. A. K., Quinn, J., Mallon, E. E. A., Edwards, J., & McMillan, D. C. (2022). The Relationship Between the Tumor Cell Expression of Hypoxic Markers and Survival in Patients With ER-positive Invasive Ductal Breast Cancer. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 70(7), 479–494. doi:10.1369/00221554221110280,
- Shiraishi, A., Tachi, K., Essid, N., Tsuboi, I., Nagano, M., Kato, T., ... Ohneda, O. (2017). Hypoxia promotes the phenotypic change of aldehyde dehydrogenase activity of breast cancer stem cells. *Cancer Science*, 108(3), 362. doi:10.1111/CAS.13147
- Siegel, R. L., Giaquinto, A. N., & Jemal, A. (2024). Cancer statistics, 2024. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 74(1), 12–49. doi:10.3322/caac.21820
- Sikov, W. M. (2000). Locally advanced breast cancer. *Current Treatment Options in Oncology*, 1(3), 228–238. doi:10.1007/S11864-000-0034-9,
- Talks, K. L., Turley, H., Gatter, K. C., Maxwell, P. H., Pugh, C. W., Ratcliffe, P. J., & Harris, A. L. (2000). The expression and distribution of the hypoxia-inducible factors HIF-1 $\alpha$  and HIF-2 $\alpha$  in normal human tissues, cancers, and tumor-associated macrophages. *American Journal of Pathology*, 157(2), 411–421. doi:10.1016/S0002-9440(10)64554-3
- Todd, V. M., Vecchi, L. A., Clements, M. E., Snow, K. P., Ontko, C. D., Himmel, L., ... Johnson, R. W. (2021). Hypoxia inducible factor signaling in breast tumors controls spontaneous tumor dissemination in a site-specific manner. *Communications Biology*, 4(1), 1122. doi:10.1038/s42003-021-02648-3
- van Maaren, M. C., de Munck, L., Strobbe, L. J. A., Sonke, G. S., Westenend, P. J., Smidt, M. L., ... Siesling, S. (2019). Ten-year recurrence rates for breast cancer subtypes in the Netherlands: A large population-based study. *International Journal of Cancer*, 144(2), 263–272. doi:10.1002/IJC.31914,
- Vaupel, P. (2008). Hypoxia and Aggressive Tumor Phenotype: Implications for Therapy and Prognosis. *The Oncologist*, 13(S3), 21–26. doi:10.1634/THEONCOLOGIST.13-S3-21,
- Vaupel, P., & Harrison, L. (2004). Tumor Hypoxia: Causative Factors, Compensatory Mechanisms, and Cellular Response. *The Oncologist*, 9(S5), 4–9. doi:10.1634/THEONCOLOGIST.9-90005-4,
- Vaupel, P., & Mayer, A. (2007). Hypoxia in cancer: Significance and impact on clinical outcome. *Cancer and Metastasis Reviews*, 26(2), 225–239. doi:10.1007/S10555-007-9055-1,
- Vaupel, P., Mayer, A., Briest, S., & Höckel, M. (2005). Hypoxia in breast cancer: Role of blood flow, oxygen diffusion distances, and anemia in the development of oxygen depletion. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 566, 333–342. doi:10.1007/0-387-26206-7\_44,
- Wang, G. L., Jiang, B. H., Rue, E. A., & Semenza, G. L. (1995). Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O<sub>2</sub> tension. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92(12), 5510–5514. doi:10.1073/PNAS.92.12.5510,

- Weidemann, A., & Johnson, R. S. (2008). Biology of HIF-1 $\alpha$ . *Cell Death and Differentiation*, 15(4), 621–627. doi:10.1038/CDD.2008.12,
- Yamamoto, Y., Ibusuki, M., Okumura, Y., Kawasoe, T., Kai, K., Iyama, K., & Iwase, H. (2008). Hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  is closely linked to an aggressive phenotype in breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 110(3), 465–475. doi:10.1007/s10549-007-9742-1
- Yan, M., Rayoo, M., Takano, E. A., Thorne, H., & Fox, S. B. (2009). BRCA1 tumours correlate with a HIF-1 $\alpha$  phenotype and have a poor prognosis through modulation of hydroxylase enzyme profile expression. *British Journal of Cancer*, 101(7), 1168–1174. doi:10.1038/SJ.BJC.6605287,
- Zhi, S., Chen, C., Huang, H., Zhang, Z., Zeng, F., & Zhang, S. (2024). Hypoxia-inducible factor in breast cancer: role and target for breast cancer treatment. *Frontiers in Immunology*, 15, 1370800. doi:10.3389/FIMMU.2024.1370800
- Zhong, H., Chiles, K., Feldser, D., Laughner, E., Hanrahan, C., Georgescu, M.-M., ... Semenza, G. L. (2000). Modulation of Hypoxia-inducible Factor 1 Expression by the Epidermal Growth Factor/Phosphatidylinositol 3-Kinase/PTEN/AKT/FRAP Pathway in Human Prostate Cancer Cells: Implications for Tumor Angiogenesis and Therapeutics 1. *CANCER RESEARCH*, 60, 1541–1545. Retrieved from <http://aacrjournals.org/cancerres/article-pdf/60/6/1541/2482671/ch060001541.pdf>
- Zhou, Z., Wang, S., & Hu, Z. (2016). OncoTargets and Therapy Dovepress Paeoniflorin prevents hypoxia-induced epithelial-mesenchymal transition in human breast cancer cells. doi:10.2147/OTT.S102422

## Ekler

### Etik Kurul Onay Belgesi

Ege Ünv. Evrak Tarih ve Sayısı: 06.12.2022-E.1017755

 T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ  
Tıbbi Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı :E-99166796-050.06.04-1017755<sup>919</sup>  
Konu :Onay Kararı 22-12T/46

Doç. Dr. Aşlı ECE SOLMAZ  
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Tıbbi Genetik Anabilim Dalı

Kurulumuza başvurusunu yaptığımız " **Meme kanseri hastalarında doku ve kandaki hipoksiyle ilişkilenen faktör 1 düzeyinin prognozla ilişkisinin değerlendirilmesi** " konulu araştırmanıza ilişkin Kurulumuz onay kararı ekte sunulmaktadır.

Başvuru dosyasının araştırmanın yürütüleceği kuruma iletilerek kurum iznini gösterir belgenin alınmasından sonra çalışmaya başlanması ve süreç içinde bu belgenin (dahil öncesinde sunulmamış ise) Kurulumuza iletilmesi gerekmektedir.

Ayrıca ilgili mevzuat gereği araştırmaya başlama bildiriminin, bir yıllık süreyi aşması durumunda Yıllık Bildirimlerin, Ciddi Advers Olay bildirimlerinin, bitirme tarihinin ve sonuç raporunun kurulumuza sunulması ve her türlü yazışmanın araştırma tam adı/kodu, karar, tarih ve sayısı bildirilerek Etik Kurul Bilgilendirme formu ile yapılması gerekmektedir.

Yazımızın bir örneğinin diğer araştırma merkezlerine ve destekleyiciye iletilmesi hususunda bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Prof. Dr. Güziye AKSU  
Kurul Başkanı

Ek:İlgili Etik Kurul Kararı ( 1 Adet aslı gibidir örneği elden gönderilecektir )

Bu belge, gizli elektronik ortamda imzalanmıştır.  
Belge Doğrulama Kodu: B87T6ZT1YF Belge Takip Adresi : <http://www.tsktye.gov.tr/eg-uni-versitesi-ebp>

Adres: Ege Üniversitesi Rektörlüğü Gençlik Cad. No:12 35040 Bornova/İzmir  
Telefon: +90 (232) 311 21 10 Faks: +90 (232) 319 00 00  
Web: [www.eguniv.tr](http://www.eguniv.tr)  
E-posta Adresleri: [etm@eguniv-sitesi.tsktye.gov.tr](mailto:etm@eguniv-sitesi.tsktye.gov.tr) [etik@eguniv-sitesi.tsktye.gov.tr](mailto:etik@eguniv-sitesi.tsktye.gov.tr)

Bilgi için: Aylin CEVİK  
Uzman: Vera Kayı Eleman  
Tel No: 3002134

Bu belge, gizli elektronik ortamda imzalanmıştır.  
Bu belgeye elektronik ortamda imzalandığına dair: <https://www.tsktye.gov.tr/eg-uni-versitesi-ebp> adresinden yapılabılır.

## Gönüllü Onam Formu

<b>BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU</b>	
<b>LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!!</b> Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz.	
<b>Bu çalışmanın adı ne?</b>	Meme kanseri hastalarında doku ve kandaki hipoksiyle indüklenen faktör 1 (HIF-1A) düzeyinin hastalığın gidişatı ile ilişkisinin değerlendirilmesi
<b>Bu çalışmanın amacı ne?</b>	Uzak organlara yayılımı olmayan olmayan lokal ileri meme kanseri hastalarının tedaviye yanıt düzeyinin HIF-1A düzeyiyle ilişkisini incelemektir. Tanı anında ve altıncı ayda kandan ve tanı anında cerrahi olarak çıkarılan dokudan HIF-1A seviyesinin incelemesi yapılacaktır. Kan ve dokudan yapılan bu incelemelerin birbirleriyle ve hastalığın gidişatı ile ilişkisi değerlendirilecektir. Böylece hastaların klinik gidişatı için bir belirteç bularak literatüre katkı yapmak amaçlanmaktadır.
<b>Size nasıl bir uygulama yapılacak?</b>	Meme kanseri tanısı için alınana tru-cut biyopsi örneğinden ek bir boyama ile test yapılacaktır. Bu çalışma için ek bir doku örneği vermeniz gerekmemektedir. Ayrıca tanı sırasında ve altıncı ayda kolunuzdan birer tüp kan alınacak ve HIF-1A ve VEGF düzeyleri ölçülecektir.
<b>Farklı tedaviler için araştırma gruplarına rastgele atanma olasılığı nedir?</b>	Bu çalışmada tedavi üzerine bir yöntem planlanmamıştır.
<b>Ne kadar zamanınızı alacak?</b>	6 ay
<b>Araştırmaya katılması beklenen tahmini gönüllü sayısı kaçtır?</b>	60
<b>Sizden alınacak biyolojik materyallere ne olacak ve analizler nerede yapılacak? (Analizlerin yurtdışında yapılması durumunda biyolojik materyallerin nereye gönderileceğinin açıklanması),</b>	Biyopsi dokusu EÜTF Tıbbi Patolojide AD incelenmekte ve daha sonra arşivde saklanmaktadır. Kan örneklerinin ise EÜTF Tıbbi Biyoloji AD içerisinde analizi yapılacaktır. Örnekler yurtdışına çıkmayacaktır.
<b>Sizden beklenen nedir? Sizin sorumluluklarınız nelerdir?</b>	EÜTF Tıbbi Patolojide AD bekleyen biyopsi örneklerinizin kullanımına izin vermeniz ve tanı sırasında ve altıncı ayda birer tüp kan vermeniz istenmektedir.
<b>Çalışmaya katılmak size ne yarar sağlayacak?</b>	Bu çalışma katılarak, meme kanseri hastaları için prognostik bir belirteç bulunmasına ve ilerleyen zamanda tedavi planlamasını daha iyi yapılabilmesine katkı sağlayacaksınız.
<b>Araştırmaya katılımının sona erdirilmesini gerektirecek durumlar nelerdir?</b>	Örneğin yetersiz ya da uygunsuz olması durumunda katılım iptal edilecektir.
<b>Çalışmaya katılmak size herhangi bir zarar verebilir mi?</b>	Hayır. Biyopsi örnekleri daha önce alınmıştır sadece kolunuzdan kan alınacaktır. Bu işlem size zarar vermeyecektir.

<b>Eğer katılmak istemezseniz ne olur?</b>	
Çalışmamızın güçlenmesi için katılımınız önemlidir, katılmak istemezseniz örneğiniz çalışmaya dahil edilmeyecektir. Tetkik ve tedavileriniz önceden planlandığı gibi devam edecektir.	
<b>Size uygulanabilecek olan alternatif yöntemler nelerdir?</b>	
Bu çalışmada tek bir yöntem belirlenmiştir.	
<b>Bu çalışmaya katıldığım için bana herhangi bir ücret ödenecek mi?</b>	
Hayır.	
<b>Bu çalışmaya katıldığım için ben herhangi bir ücret ödeyecek miyim?</b>	
Yapılacak her tür tetkik, fizik muayene ve diğer araştırma masrafları size veya güvencesi altında bulunduğunuz resmi ya da özel hiçbir kurum veya kuruluşa ödetilmeyecektir.	
<b>Bilgilerin gizliliği:</b> Tüm kişisel ve tıbbi bilgileriniz gizli kalacak, sadece bilimsel amaçlarla kullanılacaktır. Araştırma sonuçlarının yayımlanması halinde dahi kimliğiniz gizli kalacaktır.	
<b>Bu çalışmanın sorumlusunun iletişim bilgileri</b>	
1- <b>Adı, soyadı:</b> Doç. Dr. Aslı ECE SOLMAZ	
2- <b>Ulaşılabilir telefon numarası:</b> 0232 390 39 70	
3- <b>Görev yeri:</b> EÜTF, Tıbbi Genetik AD.	
<b>Çalışmaya Katılma Onayı:</b>	
Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabileceğimi biliyorum. Bu formu imzalamakla yerel yasaların bana sağladığı hakları kaybetmeyeceğimi biliyorum.	
Bilgilendirilmiş gönüllü olurunun imzalı ve tarihli bir kopyasının bana verileceğini biliyorum.	
<b>GÖNÜLLÜNÜN</b>	
ADI & SOYADI	<b>İMZA</b>
ADRESİ	
TELEFONU	
TARİH	
<b>Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasinin</b>	
ADI & SOYADI	<b>İMZA</b>
ADRESİ	
TELEFONU	
TARİH	
<b>Araştırma ekibinde yer alan ve araştırma hakkında bilgilendirmeyi yapan yetkin bir araştırmacının</b>	
ADI & SOYADI	<b>İMZA</b>

	ADRESİ			
	TELEFONU			
	TARİH			



## Teşekkür

Doktora sürecimin her aşamasında bana sabır ve anlayışla destek veren, tecrübelerini paylaşarak katkıda bulunan, dostluğunu esirgemeyen birlikte çalışmaktan büyük keyif aldığım değerli tez hocam Prof. Dr. Vildan Bozok'a,

Uzun ve zorlu tez sürecimde bana her zaman destek olan ve yüreklendiren tez izleme komitesi hocalarım Prof. Dr. Ayşe Caner'e ve Prof. Dr. Senem Alanyalı'ya teşekkür ederim.

Bölümümdeki iş arkadaşlarım ve hocalarım Prof. Dr. Haluk Akın'a, Prof. Dr. Emin Karaca'ya, Prof. Dr. Asude Durmaz'a, Prof. Dr. Burak Durmaz'a, Prof. Dr. Ayça Aykut'a, Dr. Öğr. Üyesi Erhan Parıltay'a,

Tez projemi birlikte yaptığımız Prof. Dr. Levent Yeniay'a, Prof. Dr. Osman Zekioglu'na, Doç. Dr. Pınar Gürsoy'a, Dr. Öğr. Üyesi Gürdeniz Serin'e, Dr. Öğr. Üyesi Berk Göktepe'ye,

İstatistik analizlerde bana yardımcı olan ve yön gösteren Dr. M. Vedat Sivri'ye, ELISA çalışmasında bana yardımcı olan doktora öğrencisi Sevim Aydemir'e, Beni doğuran büyüten ve her zaman destekleyen annem Aynur Akay'a ve babam Can Ece'ye,

Hayatıma girdiği günden beri her anımda yanımda olduğunu hissettiren eşim Ulaş Solmaz'a,

Varlığı ile en büyük motivasyon kaynağım ve yaşam sevincim olan oğlum Utku Deniz Solmaz'a sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

İzmir, 3.09.2025

Aslı ECE SOLMAZ

## Özgeçmiş

### Eğitim Bilgileri

- Lisans: Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi (2002–2009)
- Tıpta Uzmanlık: Tıbbi Genetik, Ege Üniversitesi (2010–2014)
  - \*Tez: Bardet-Biedl sendromlu hastalarda moleküler analiz ile fenotip-genotip korelasyonu\*
- Doktora: Kanser Biyolojisi ve İmmünolojisi, Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü (2017)
- Doçentlik: 2022

### Akademik Görevler

- Araştırma Görevlisi: Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı (2010–2015)
- Uzman Doktor: Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı (2015–2022 )
- Doçent Doktor: Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı (2022)

### Yayımlar

- ECE SOLMAZ ASLI, PARILTAY ERHAN, TALİM BERİL, ONAY HÜSEYİN (2022), A novel bi-allelic variant in the SDHB gene causes a severe mitochondrial complex II deficiency: a case report, Clinical Neurology and Neurosurgery, 212, Doi: 10.1016/j.clineuro.2021.107039
- DURMAZ MEHMET BURAK, BOLAT HİLMİ, Cengisiz Zehra, AKERCAN FUAT, SÖZEN TÜRK TUBA, PARILTAY ERHAN, ECE SOLMAZ ASLI, KAZANDI MERT, KARACA EMİN, DURMAZ ASUDE, AYKUT AYÇA, SAĞOL SERMET, AKIN HALUK, ÖZKINAY FERİŞTAH FERDA, ÇOĞULU MUHSİN ÖZGÜR (2021), 20-year experience on prenatal diagnosis in a reference university medical genetics center in Turkey, TURKISH JOURNAL OF MEDICAL SCIENCES, 51(4), Doi: 10.3906/sag-2006-103
- ECE SOLMAZ ASLI, YENİAY LEVENT, GÖKMEN ERHAN, ZEKİOĞLU OSMAN, HAYDAROĞLU AYFER, Bilgen Işıl, ÖZKINAY FERİŞTAH FERDA, ONAY HÜSEYİN (2021), Clinical Contribution of Next-Generation Sequencing

Multigene Panel Testing for BRCA Negative High-Risk Patients With Breast Cancer, *Clinical Breast Cancer*, 21(6), Doi: 10.1016/j.clbc.2021,04,002

- ECE SOLMAZ ASLI, IŞIK ESRA, ATİK TAHİR, ÖZKINAY FERİŞTAH FERDA, ONAY HÜSEYİN (2021), Mutation spectrum of the NF1 gene and genotype–phenotype correlations in Turkish patients: Seventeen novel pathogenic variants, *Clinical Neurology and Neurosurgery*, 208, Doi:

10.1016/j.clineuro.2021.106884

- IŞIK ESRA, ONAY HÜSEYİN, ATİK TAHİR, ECE SOLMAZ ASLI, ÖZEN SAMİM, ÇOĞULU MUHSİN ÖZGÜR, DARCAN ŞÜKRAN, ÖZKINAY FERİŞTAH FERDA (2020), A Neurofibromatosis Noonan Syndrome Patient Presenting with Abnormal External Genitalia, *Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology*, 12(1), Doi: 10.4274/jcrpe.galenos.2019.2019.0023

- ECE SOLMAZ ASLI, ONAY HÜSEYİN, YENİAY LEVENT, GÖKMEN ERHAN, ÖZDEMİR NECMETTİN, ALANYALI SENEM, OKTAY ALFATLI AYŞE NUR, ÖZSARAN ZEYNEP, Kapkaç Murat, ÖZKINAY FERİŞTAH FERDA (2020), BRCA1-BRCA2 mutation analysis results in 910 individuals: Mutation distribution and 8 novel mutations, *Cancer Genetics*, 241, 20-24, Doi:

10.1016/j.cancergen.2019.12.008

- IŞIK ESRA, Şimşir Özgüç Semih, ECE SOLMAZ ASLI, ONAY HÜSEYİN, ATİK TAHİR, AYKUT AYÇA, DURMAZ ASUDE, ÇOĞULU MUHSİN ÖZGÜR, ÖZKINAY FERİŞTAH FERDA (2020), Clinical and molecular aspects of PTEN mutations in 10 pediatric patients, *Annals of Human Genetics*, 84(4), Doi:

10.1111/ahg.12380

#### Kitap Bölümleri

- Down Sendromu A'dan Z'ye kitabında iki bölüm

- Tıbbi Genetik Laboratuvar ve Klinik kitabında üç bölüm

Konular: Hastalıklara yatkınlık, popülasyon genetiği, tek gen hastalıkları

#### Bilimsel Araştırma Projeleri

- MODY-TURK (Monogenik diyabet çalışması, TÜBİTAK 1003)

- Genetik biyometrik tanımlama sistemi projesi (TÜBİTAK 1003)