

Meme Tümörlerinin Moleküler Alt Tiplerine göre Hipoksi ile İndüklenebilir Faktör-1 Alfa Ekspresyonunun Değerlendirilmesi Evaluation of Hypoxia Inducible Factor-1 Alpha Expression According to Molecular Sub-types of Breast Tumors

Ceren Sayar¹, Gülden Diniz², Özge Kaya¹, Alp Özgüzer¹

¹ TC. Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tepecik Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

² İzmir Demokrasi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Özet

Amaç: Hipoksi ile indüklenebilir faktör (HIF) bir alfa (α)/beta (β) heterodimerik DNA bağlama kompleksidir ve anjiyogenez, glukoz/enerji metabolizması gibi tümör ilerlemesiyle ilgili hücresel gelişim, metastaz ve apoptoz genlerinin indüklenmesini içeren kapsamlı bir transkripsiyonel yanıtı yönlendirir. HIF-1A ayrıca hedefe yönelik kanser tedavisinde çekici bir hedef olarak ortaya çıkmıştır. HIF-1A'nın meme kanserlerinin tümöregezindeki rolü göreceli olarak daha az çalışılmıştır. Bu çalışmanın amacı, doku HIF-1A ekspresyonu, prognostik önemi ve meme kanserlerinin klinikopatolojik özellikleri arasındaki ilişkiyi incelemektir.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmaya, 2011-2014 yılları arasında Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Laboratuvarı'nda tanı konulan 205 meme kanseri hastası dahil edildi.

Bulgular: Bu seride moleküler özelliklere göre 72 (%35,1) Luminal A, 76 (%37,1) Luminal B, 38 (%18,5) Her2 pozitif, 19 (%9,3) triple negatif tümör vardı. Ortalama yaş $55,51 \pm 12,7$ yıl olup, hastalar ortalama $61,5 \pm 20,3$ ay boyunca takip edildi. 135 vakada (%65,9), tümör hücrelerinde HIF-1A'nın nükleer ekspresyonu vardı. İstatistiksel analizlerde HIF-1A ekspresyonu ile ER ekspresyonu oranı ($p=0,023$) ve in situ tümör komponenti arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki vardı ($p=0,033$). Aksine, HIF-1A ekspresyonu ile nodal metastaz ($p=0,304$), tümör büyüklüğü ($p=0,729$), tümörün histolojik derecesi ($p=0,113$), pT evresi ($p=0,914$) ve sağ kalım ($p=0,357$), gibi diğer prognostik faktörler arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı.

Sonuç: Östrojen reseptörü varlığı ile HIF-1A ekspresyonu arasındaki ilişki hipoksinin meme kanserlerinin moleküler özelliklerini değiştirebileceğini göstermiştir. Ek olarak, HIF-1A ekspresyonu ile invaziv tümörlere eşlik eden in situ karsinom komponentinin oranı arasında anlamlı negatif korelasyon saptanmıştır. Bu nedenle, bulgular HIF-1A'nın meme kanserinin tümöregenezinde rol oynayabileceğini düşündürmüştür.

Anahtar Kelimeler: HIF-1A, meme kanseri, moleküler gruplar

Summary

Aim: The hypoxia-inducible factor (HIF) is an alpha (α)/beta (β) heterodimeric DNA binding complex and directs an extensive transcriptional response involving the induction of genes relevant to tumor progression, such as angiogenesis, glucose/energy metabolism, cellular growth, metastasis, and apoptosis. HIF-1A has also emerged as an attractive target for cancer therapy. The role of HIF-1A in tumorigenesis of breast cancers is relatively less studied. The aim of this study is to investigate the association between tissue HIF-1A expression, prognostic significance, and the clinicopathologic features of breast cancers.

Materials and Methods: This study included 205 females with breast cancer who had been histopathologically diagnosed in Pathology Laboratory of Tepecik Education and Research Hospital between the years 2011 and 2014.

Results: In this series, there were 72 (35.11%) Luminal A, 76 (37.1%) Luminal B, 38 (18.5%) Her2 positive, and 19 (9.3%) triple negative tumors according to the molecular features. The mean age is 55.51 ± 12.7 years and the patients were followed up for a mean period of 61.5 ± 20.3 months. In 135 cases (65.9%), there were nuclear expressions of HIF-1A in tumor cells. In the statistical analysis, there was a statistically significance between HIF-1A expression and ratio of ER expression ($p=0.023$) and in situ tumors ($p=0.033$). Contrary, we didn't determine any statistical significant relationship between HIF-1A expression and other prognostic factors such as nodal metastasis ($p=0.304$), tumor size ($p=0.729$), histological grade ($p=0.113$), pT stage ($p=0.914$) and survival ($p=0.357$).

Conclusion: The relationship between presence of estrogen receptor and HIF-1A expression has suggested that hypoxia may change the molecular features of breast cancers. In addition, there is a correlation between HIF-1A expression and in situ carcinoma which associates with invasive tumors. Therefore, we have suggested that HIF-1A may be play a role in tumorigenesis of breast cancer.

Key words: Breast cancer, HIF-1A, molecular groups

Kabul Tarihi: 23.Mart.2020

Giriş

Yaşla sıklığı artan invaziv meme karsinomu, kadınlarda en sık görülen malignitedir (1). Çeşitli morfolojik ve moleküler özellikleri olması yanında klinik sonuçları ile de heterojen bir hastalıktır (2). Günümüzde meme karsinomlarında sınıflamayı belirlemek için kullanılmakta olan parametreler; östrojen reseptörü (ER) ve progesteron reseptörü (PR), human epidermal growth faktör reseptörü 2 (HER2 proteini/ cErbB2) overekspresyon ve/veya HER2 gen amplifikasyonu ile Ki-67 proliferasyon indeksidir (2). Buna göre invaziv meme karsinomu; hormon reseptör-pozitif, (HER2)-pozitif ve triple-negatif şeklinde sınıflandırılabilir ve bu alt tiplerin kendine özel tedavi yaklaşımları vardır (3,4,5,6,7,8).

Tümörlerin ER durumu; tümörün endokrin tedaviye yanıtını, erken rekürens ve uzun dönem sağkalımını öngörebilmek için 1970'lerden beri kullanılan bir parametredir. ER, meme kanserlerinin yaklaşık %80'inde pozitifdir. ER antagonizması (tamoksifen) veya östrojen üretiminin baskılanması (aromataz inhibitörleri) yoluyla etki eden ilaçlar, meme kanseri tedavisinde, tümörün büyümesini kontrol eder. PR geni östrojen tarafından düzenlendiği için, ekspresyonunun gösterilmesi de anlamlıdır (6,7,8). Rutin kullanımı önerilen bir diğer biyobelirteç olan Ki67, nükleer non-histon bir proteindir ve hücre proliferasyon belirticidir. Ki67'nin yüksek oranda pozitif izlendiği meme kanseri olgularında daha kısa sağkalım ile ilişki bulunmuştur (6,7).

HER2-pozitif tümörler invaziv meme kanserlerinin %13-20'sini oluşturur ve bunların da yaklaşık yarısı hormon reseptör-negatiftir (8). Geçmişte HER2 varlığı kötü prognoz göstergesi olarak kullanılmakta iken, rekombinant hümanize anti-HER2 antikoru (trastuzumab) kullanımı ile bu görüş değişmiştir. HER2 ve ER sinyal yolları arasında çapraz etkileşim sebebi ile endokrin tedaviye yanıtı olumsuz yönde etkileyen klinik öncesi kanıtlar bulunmaktadır (2,3,4). ER, PR ve HER2 negatif olup triple-

negatif grupta yer alan tümörler, meme kanserlerinin %10-15'ini oluşturmaktadır. Bu tümörlerin morfolojisi, prezentasyonu, davranış ve klinik gidişi farklılık gösterir. Triple negatif meme kanserleri geniş bir skala olup, medüller özellikler gösteren karsinomlar ile BRCA1 ilişkili meme kanserlerini de barındırır (6).

Hipoksiyle indüklenebilir faktör 1 (HIF-1), iki alt birimden (HIF-1alfa ve HIF-1beta) oluşan bir heterodimerik transkripsiyon faktörüdür (9,10,11). Yapılan çalışmalarla HIF-1'in oksijen algılama mekanizmasının kilit bir parçası olduğu ortaya konmuştur (9). HIF-1A proteininin aşırı ekspresyonu, büyüme hızını olumsuz yönde etkilerken, metastaz yeteneğini arttırmada önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (12,13,14). Hipoksik bölgelerde bulunan HIF-1A eksprese eden hücrelerin, lokal mikro çevrenin hipoksik olmayan bölgelerindeki diğer hücrelerin davranışını değiştirdiği, tümörün ilerlemesine katkıda bulunduğu gösterilmiştir (15,16).

Prognostik açıdan anlamlı olabilecek yeni parametrelerin bulunması, meme kanserinde tedaviye de yön verebilir. Bu çalışmanın amacı; meme karsinomlarının, moleküler alt tiplerinin ve klinikopatolojik özelliklerin HIF-1A ekspresyonu ile ilişkisini değerlendirmektir.

Gereç ve Yöntem

İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Laboratuvarı'nda Ocak 2011 ile Aralık 2014 tarihleri arasında meme karsinomu tanısı almış, mastektomi ve meme eksizyonel biyopsi uygulanmış olgular çalışmaya dahil edildi. Preperatlarına ulaşılamayan ya da immunohistokimyasal boyama yapılamayan hastalar çalışma dışında bırakıldı.

Olgulara ait arşivde bulunan Hematoksilen-Eozin (H&E) boyalı kesitler Dünya Sağlık Örgütü 2012 meme tümörleri sınıflamasına göre tekrar değerlendirildi. Moleküler alt tipleri belirlemek açısından ASCO/CAP 2013 güncellemesine göre İHK'sal cErbB2 ekspresyonları yeniden değerlendirildi ve 2011 ve 2012 yıllarındaki

olgular arasında FISH çalışılmayanlar olgular arasında cErbB2 oranları %10- 30 arasındakiler HER2 pozitif gruba kaydırıldı. Östrojen (ER) ve progesteron reseptörü (PR) ekspresyonu ise yine güncel kriterlere göre >%1 pozitif kabul edildi. Patoloji kayıtlarından hastaların tüm klinikopatolojik özellikleri yeniden değerlendirildi.

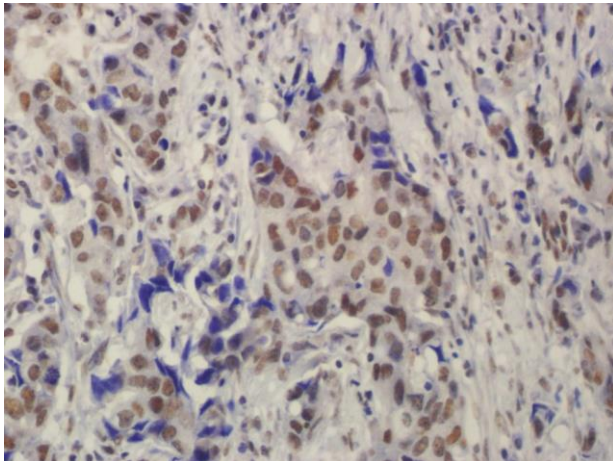
Tümör dokusunu en iyi yansıtan ve immunohistokimyasal (İHK) boyama için en uygun olan alan önce lamlarda, sonra bloklarda işaretlendi. Daha sonra parafin bloklardan 2 mm çapta silindirik şekilli parafinize doku örnekleri manuel mikroyarray cihazı ile haritalandırma-adresleme tekniği ile donör bloklardan alınarak çoklu bloklara aktarıldı (Resim 1). Çoklu bloklarda adresleme amacıyla kolon, dalak ve endometrium doku örnekleri kullanıldı.

Hazırlanan her bloktan öncelikle H&E kesitler alınarak örneklenen alanlardaki tümör varlığı doğrulandı. Daha sonra poly-lizinli lamlara 4 mikrometre kalınlıkta kesitler alınarak streptavidin biotin peroksidaz yöntemiyle (Invitrogen, Camarillo, 85-9043, CA, USA), anti-HİF-1A (Atlas) antikoruyla manuel olarak boyandı. Boyalı preparatlar ışık mikroskopisinde üç gözlemci patolog tarafından (CS, GD, AÖ) değerlendirildi. Yüzde 1'den fazla nükleer boyanma gösteren olgular pozitif kabul edildi. Nükleer pozitif boyanma gösteren hücrelerin yüzdesi (0-100) değerlendirildi. HİF-1A pozitif kontrolü olarak tümörlerin çoğunda saptanan iç kontrol kullanıldı (Resim 2). Sadece sitoplazmik HİF-1A ekspresyonu olan tümörler negatif olarak kabul edildi (Resim 3).

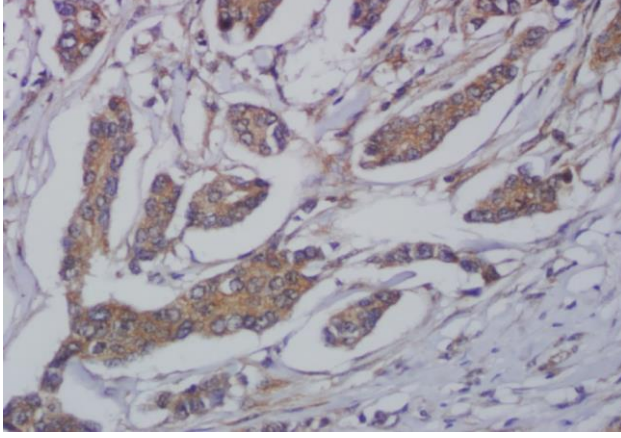
Resim 1. Çalışma için hazırlanan çoklu blok ve preparatlar



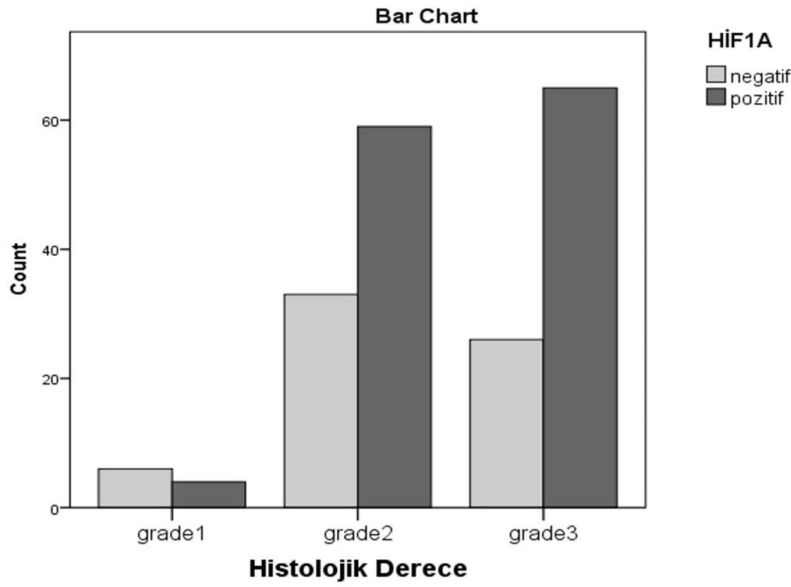
Resim 2. Karakteristik nükleer boyanma nedeniyle HİF-1A pozitif kontrolü için kullanılan bir tümör (DABx200)



Resim 3. Sadece sitoplazmik HIF-1A ekspresyonu olan bir tümör (DABx200)



Resim 4. İHK'sal HIF-1a ekspresyonu ve tümör dereceleri arasında anlamlı ilişki yoktu (Log Rank testi, $p=0,113$)



Değişkenlerin analizinde SPSS 22.0 (IBM Corporation, Armonk, New York, United States) programı kullanıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile, varyans homojenliği Levene ile değerlendirildi. Bağımsız ikiden fazla grubun nicel verilere göre birbiriyle karşılaştırılmasında One-Way Anova, Kruskal-Wallis H Testleri kullanıldı. Kategorik değişkenlerin birbiri ile karşılaştırılmasında ise Pearson Chi-Square ve Linear-by-Linear Association testleri Monte Carlo Simülasyon tekniği ile test edildi. HIF-1A boyanma durumu mortalite ile yaşam sürelerine etkilerini incelemek için Kaplan-Meier (product limit method)-Log Rank (Mantel-Cox) analizi

kullanıldı. Nicel değişkenler tablolarda ortalama $\pm$ std.(standart sapma) ve medyan range (maximum-minimum), kategorik değişkenler ise n (%) olarak gösterildi. Değişkenler %95 güven düzeyinde incelenmiş olup p değeri 0,05'ten küçük anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Bu çalışmaya İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Laboratuvarı'nda meme kanserini tanımlanmış ve mastektomi veya meme eksizyonel biyopsi uygulanmış hastalar içinden immunohistokimyasal HIF-1 α

ekspresyonu değerlendirilebilen 205 olgu dahil edildi. Patoloji kayıtlarında mevcut olan bilgiler değerlendirilerek demografik ve histopatolojik veriler elde edildi. Çalışmaya alınan tüm olgular kadındı. Hastanın tanı anındaki yaşları 28 ila 85 arasında değişmekte olup ortalama tanı yaşı $55,51 \pm 12,7$ bulundu. Ortalama takip süresi $61,5 \pm 20,3$ (1-87,2) aydı. Hastaların 164 (%80) tanesi hayatta iken, 41 (%20) tanesi hayatını kaybetmişti. Tümörlerin moleküler sınıfları değerlendirildiğinde 72 (%35,1) olgunun Luminal A, 76 (%37,1) vakanın Luminal B, 38 (%18,5) vakanın Her2 pozitif ve 19 (%9,3) olgunun triple negatif grupta yer aldığı belirlenmiştir. Tümörlerin ve hastaların farklı özellikleri tablo 1 ve tablo 2’de özetlenmiştir.

İmmunohistokimyasal çalışmalarda ER 169 (%82,4) olguda pozitif olarak saptandı. ER pozitif olarak olgularda boyanma yüzdesi %3 ile % 100 arasında değişkenlik göstermekteydi (ort: $83,4 \pm 23,5$). PR immunohistokimyasal olarak 151 (%66,7) olguda pozitif saptandı. Pozitif saptanan olgularda boyanma yüzdesi %1 ile %100 arasında değişmekte olup; ortalama değer $66,7 \pm 33,8$ olarak bulunmuştur. İmmunohisto kimyasal olarak HER2/neu amplifikasyonunu değerlendirmek için uygulanan c-erbB2, 161 olguda (%78,5) olguda 1+ veya negatif bulunmuş olup her iki grup negatif olarak kabul edilmiştir.

Olguların 26’sı (%12,7) ise immunohisto kimyasal olarak c-erbB2 3+’ti. C-erbB2 2+ olarak değerlendirilen olgulara moleküler tetkik (FISH) ile konfirmasyon uygulanmıştır. Kombine İHK-FISH değerlendirmesinde 38 olgu (%18,5) Her2 pozitif olarak kabul edilip, tümü

hedefe yönelik tedavi görmüştür. Olguların tümünde Ki67 proliferasyon indeksi çalışılmış, ortalama $20,6 \pm 19,9$ olarak bulunmuştur. Olgular arasında proliferasyon indeksi %1 ile %100 arasında değişmekteydi. Serimizdeki 135 olguda (%65,9) nükleer HİF-1A ekspresyonu saptandı. Nükleer ekspresyon izlenen olgularda yüz tümör hücresinde ortalama $38,5 \pm 36,3$ ekspresyon oranı vardı. Pozitif olgularda pozitiflik 1-100 arasında olup ortanca değer 60 bulundu.

Değerlendirilen tüm parametrelerin sağ kalıma etkisi incelendiğinde; istatistiksel olarak sağ kalımı etkileyen faktörler ise sırasıyla; lenf nodu metastazı varlığı ($p=0,007$), multifokalite ($p=0,004$), patolojik tümör evresi ($p=0,040$) ve materyalde dermal lenfatiklerde tümör trombüsü varlığı idi ($p=0,003$).

Meme tümörlerinin tanı ve tedavisinde önem taşıyan parametrelerle HİF-1A pozitifliği karşılaştırıldığında, çoğuyla arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Tümörün histolojik derecesiyle HİF-1A ekspresyonu karşılaştırıldığında; derece 1 olan 12 olgudan 5’i, derece 2 olan 98 olgudan 62’si ve derece 3 olan 96 olgudan 67’si HİF-1A pozitif olarak değerlendirildi (Resim 4). Tümör derecesi daha yüksek olanlarda HİF1A pozitifliği daha yüksek olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,113$). Ancak HİF-1A negatif olgulardaki in situ komponent yüzdesi istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha büyüktü ($p=0,033$). Ayrıca ER ekspresyonu ve HİF-1A pozitifliği arasında pozitif korelasyon mevcuttu ($p=0,021$).

Tablo 1. Demografik ve histopatolojik veriler – I

	Hasta sayısı (N/ %)	Ortalama $\pm$ std.	Medyan (Min.- Max.)
Yaş (yıl)	205/ %100	$55,51 \pm 12,7$	54 yaş (28- 85)
İzlem Süresi (ay)	205/ %100	$61,5 \pm 20,3$	63,6 ay (1- 87,2)
Tümör çapı (cm)	205/ %100	$2,97 \pm 2,07$	2,4 (0,6- 16)
Lenf nodu sayısı (disseke edilen)	154/ %75,1	$10,46 \pm 7,3$	9 (1- 39)
Nükleer HİF-1A	135/ % 65,9	$38,5 \pm 36,3$	60 (1- 100)

Tablo 2. Demografik ve histopatolojik veriler – II

Durumu	Sağ Eksitus	164 41	% 80 % 20
Tümör Yerleşimi	Sağ Sol	71 79	% 47.3 % 57.2
Tanı	İnvaziv Duktal Karsinom (İDK) İnvaziv Lobüler Karsinom (İLK) İnvaziv Papiller Karsinom İn situ komponenti baskın İDK Mikropapiller Karsinom Metaplastik Karsinom Diğer	130 18 5 44 3 2 3	% 63.4 % 8.8 % 2.4 % 21.5 % 1.5 % 1.0 % 1.5
Derece	Derece 1 Derece 2 Derece 3	10 98 97	% 4.8 % 47.8 % 47.3
Patolojik T evresi	pT1 pT2 pT3	63 66 11	% 45 % 47.1 % 7.9
İn Situ Komponent	Var	136	% 66.3
Lenf nodu metastazı	Var Yok	74 80	% 48 % 52
Lenf nodunda kapsül invazyonu	Var Yok	54 20	% 73 % 27
Multifokalite	Tek Multifokal	194 11	% 91.6 % 8.4
Meme başı tutulumu	Var Yok	15 41	% 26.8 % 73.2
Dermal/ epidermal invazyon	Var	15	% 7.3
Lenfovasküler invazyon	Var	49	% 23.9
Perinöral invazyon	Var	38	% 18.5

Tartışma

Meme kanserleri, klinik prezentasyon açısından değişken, farklı patolojik özelliklere sahip, heterojen bir tümör grubudur. Geçmişte meme kanserleri histolojik tip ve derece ile sınıflandırılırken günümüze kadar sınıflandırma şekli, gen ekspresyon profillerinin benzerlikleri kullanılarak, moleküler sınıflandırma haline gelmiştir. Moleküler sınıflandırma için patoloji pratiğinde kullanılan immunohistokimyasal belirteçler; ER, PR antikörleri, Ki67, HER2/ neu, CK5/6 ve EGFR olmakla beraber, sınıflamada yer alan moleküler alt tipler meme kanserinde yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesinde önemli rol oynamıştır (17,18,19,20,21). Hatta bu sayede daha önce kötü prognostik kriter kabul edilen HER2 ekspresyonu, bu özelliğini yitirmiştir. Bizim olgularımızda da HER2 pozitif olguların sağ kalım açısından farkı görülmedi. Sadece sağ kalım değil, benzer şekilde tümör

boyutu, lenf nodu metastazı, yüksek derece açısından da HER2 eksprese eden tümörlerle diğer tümörler arasında fark yoktu. Çalışmaya dahil edilen olgulardan cErbB2 2+ olarak kabul edilenlerin tümünde ve 3+ olarak nitelenenlerin bir kısmında konfirmasyon amacıyla FISH testi yapıldı. Toplam 44'ünde FISH testi ile moleküler olarak HER2 / neu amplifikasyonu değerlendirilmiş ve 23 (%52,2) olguda pozitif, 21 olguda negatif (%47,8) sonuç saptanmıştır.

Yapılan çalışmalarda kanıtlanmış sağ kalımı etkileyen faktörlerden; lenf nodu metastazı varlığı, multifokalite, patolojik tümör evresi ve materyalde dermal lenfatiklerde tümör trombu varlığı, yapılan çalışmada da istatistiksel olarak sağ kalım ile anlamlı olarak ilişkili bulunmuştur. Ayrıca önemli bir prognostik faktör olan patolojik T evresi de bizim çalışmamızda, T evresi 3 olan olgularda sağ kalım süresi pT1 ve pT2 olanlara göre belirgin olarak kısa bulundu

($p=0,040$). Olguların 154'üne (%75,1) aksiller lenf nodu diseksiyonu uygulanmış olup bu vakaların 74'ünde (%48) lenf nodunda metastaz saptanmıştır. Lenf nodu metastazı olan olguların 54'ünde (%73) ise metastatik lenf nodlarında kapsül invazyonu mevcuttu. Olguların 6'sında (%2,8) dermal lenfatiklerde tümör tutulumu mevcut olup; epidermis invazyonu 9 (%4,4) olguda izlendi. Lenfovasküler invazyon 49 (%23,9) olguda, perinöral invazyon 38 (%18,5) olguda saptandı.

Aköz ve ark.'nın yaptığı 297 olguluk bir çalışmada, tümörlerin moleküler sınıflarına göre Luminal A ve Luminal B olguların yüzdesi, yapılmış olan çalışmaya göre daha düşük olmakla beraber, HER2 pozitif ve triple negatif grupta yer alan olguların yüzdesi daha fazladır (8).

Caiyun ve ark. meme kanseri tanısı almış olgularda yaptıkları çalışmaya 220 hasta dahil etmişlerdir. Yaptıkları çalışmada populasyonun ortalama yaşı sunulan çalışmaya göre daha düşüktür. Olgularının yarısından fazlası Luminal B iken bunu HER2-pozitif, Triple-negatif olgular takip etmektedir. Luminal A ise %5'ten az bir oranla en düşük orana sahip gruptur. Sunulan çalışmada Luminal A ve B oranı birbirine yakın olmakla birlikte, bunları sırasıyla HER2-pozitif ve Triple-negatif olgular takip etmektedir (22).

Günümüzde meme kanseri hastalarını, risk gruplarına ayırmak için klinikopatolojik faktörler kullanılmaktadır. Ancak insidans ve mortalite oranlarını düşünecek olursak, daha doğru bir ayırım yapmak için ek yeni belirteçlere ihtiyaç duyulmaktadır. Böylece düşük risk grubuna dahil hastaların gereksiz tedavi yan etkilerinden kaçınılabilecek ve yüksek riskli hastalara da daha agresif tedavi yöntemleri uygulanabilecektir. Bu anlamda yapılan çalışmalardan biri de hipoksiyle indüklenebilir faktör 1 (HIF-1) üzerinedir. Yapılan pek çok çalışmayla HIF-1α'nın tümör anjiogenezi hızlandırarak, büyümesinde önemli bir rol oynadığı anlaşılmış, meme kanseri metastazını çoklu mekanizmalar yoluyla düzenlediği gösterilmiştir (20). Solid tümörlerin invaziv alanındaki hücrelerin sıklıkla yüksek HIF-1α ekspresyon seviyesine sahip oldukları bulunmuştur (20,21). Rose ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada artmış HIF-1 ekspresyonunun meme kanserli hastalarda kötü prognostik sonuçları ve düşük sağkalım oranları ile güçlü korelasyona sahip olduğu gösterilmiştir (21). Bu bilgiler

önderliğinde HIF-1α'nın meme kanseri ile de ilişkili olduğu düşünülebilir; fakat, meme kanserindeki tanısal ve/veya prognostik değeri ile yeni tedavi rejimlerinin belirlenmesindeki etkisini belirlemek amacıyla yeni araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Caiyun ve ark.'nın aynı çalışmasında HIF-1α ekspresyonu lenf nodu durumu ile anlamlı olarak ilişkili bulunmuştur ($p=0,022$). Sunulan çalışmada HIF-1α ekspresyonu ile lenf nodu durumu arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (22).

Vleugel ve ark. invaziv meme karsinomunlu 200 olgunun HIF-1α ekspresyonunu ele alınmıştır. HIF-1α ekspresyon yüzdesi %44 olarak tespit edilmiş; sunulan çalışmada ise bu oran, %65,9'dur. Vleugel ve ark.'nın çalışmasında lobüler meme karsinomları duktal kanserlerden anlamlı olarak daha az HIF-1α ekspresyonu göstermiştir ($p=0,03$) (23). Sunulan çalışmada ise hem duktal, hem de invaziv lobüler tümör grubunda olguların yarıdan fazlası HIF-1α pozitif, her ikisi arasında anlamlı bir fark saptanmadı.

Meme kanserlerinde en önemli prognostik faktörlerden biri de lenf nodu metastazıdır. Yapılan çalışmalar, aksiller 3 adet ve üzerinde lenf nodu tutulumu olanlarda sağ kalım süresinin belirgin şekilde kısaldığını göstermektedir (19). Çalışmada lenf nodu tutulumu ile sağ kalım oranları arasında anlamlı ilişki bulunmuştur.

Günther ve ark, lenf nodlarında tümör metastazı olan meme kanseri olgularında yaptıkları çalışmada HIF-1α ekspresyonu oranını %56 olarak saptamıştır (24). Günther ve ark, HIF-1α ekspresyonu ve PR pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptamışlardır (24). Mevcut çalışmada HIF-1α ekspresyonu oranı %65,9'dur ve tüm invaziv meme karsinomlu hastalar üzerinden bu oran elde edilmiştir; bununla beraber evre ve lenf nodu tutulumu ile HIF-1α ekspresyonu arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.

HIF-1α ekspresyonu ve PR pozitifliği arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır; fakat, HIF-1α pozitif olgularda ER reseptörü oranı, HIF-1α negatif olgulardan istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksektir.

Nalgowa ve ark, 277 invaziv meme karsinomu vakası ile yaptıkları çalışmada yaş ortalaması, sunulan çalışmaya göre daha düşüktür. Tümör boyutu ortalama 5,4 cm olarak tespit edilmiş, mevcut çalışmada ise bu sayı 2,97 cm olarak saptanmıştır (25). Nalgowa ve ark. 261 tümörün 165'inde (%63) güçlü HIF-1 α ekspresyonu saptamış olup, yüksek histolojik derece ve nükleer dereceyle anlamlı ölçüde ilişkili bulmuştur. Mevcut çalışmada ise HIF-1 α ekspresyonu %65,9 oranında olmakla beraber tümör derecesi ile anlamlı bir ilişki saptanamamıştır.

Van der Groep ve ark, BRCA1 ve BRCA2 mutasyonlu DCİS olgularında yaptıkları çalışmada; BRCA1 mutasyonlu olguların %63'ünde, BRCA2 mutasyonlu olguların %62'sinde ve BRCA mutasyonu taşımayan olguları %34'ünde HIF-1 α overekspresyonu saptamışlardır (p=0.005) (26). Sunulan çalışmada meme tümörlü HIF-1 α negatif olgulardaki in situ komponent yüzdesi istatistiksel olarak anlamlı biçimde daha büyük bulunmuştur (p=0,033).

Okada ve ark, meme karsinomları üzerinde yaptıkları HIF-1 α çalışmasında, duktal karsinoma in situ olgularının %40'ında, invaziv duktal karsinom olgularının ise %44'ünde HIF-1 α kuvvetli nükleer boyanması tespit etmiştir (27). Sunulan çalışma ise sadece invaziv meme karsinomlarını ele almakla beraber HIF-1 α negatif olgulardaki in situ komponent yüzdesi istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha büyüktür.

Sonuç

Bu çalışmada meme tümörlerinde HIF-1 α ekspresyonu ile duktal karsinoma in situ arasındaki zıt ilişki ve ER reseptörü oranı arasındaki ilişki gösterilmiştir. Bu doğrultuda bakıldığında, HIF-1 α ekspresyonu değerlendirmesi, meme kanseri hastaları arasında prognozu belirlemede etkin bir yöntem olabilir. HIF-1 α ile ilgili daha ileri araştırmalar için yeni bakış açıları kazandırılabilir.

Kısıtlamalar:

Çalışmamızda en temel kısıtlayıcı unsur, tümörlü bloklara uygulanan microarray yöntemi sebebiyle, tümörün tamamı yerine bir kısmını temsil ettiği için, HIF-1 α ekspresyonun tümör heterojenitesi için bir bilgi sağlayamamasıdır.

Kaynaklar

1. Ferlay J, et al. Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC Cancer Base No.10. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2010.
2. Sørli T, Perou CM, Tibshirani R, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. Proc Natl Acad Sci USA 2001;98:10869–74.
3. Herschkowitz JI, Simin K, Weigman VJ, et al. Identification of conserved gene expression features between murine mammary carcinoma models and human breast tumors. Genome Biol 2007;8:R76.
4. Huang E, Cheng SH, Dressman H, et al. Gene expression predictors of breast cancer outcomes. Lancet 2003;361:1590-6.
5. Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. Proc Natl Acad Sci USA 2003;100:8418–23.
6. Peng JH, Zhang X, Song JL, Ran L, Luo R, Li HY, Wang YH. Neoadjuvant chemotherapy reduces the expression rates of ER, PR, HER2, Ki67 and P53 of invasive ductal carcinoma. Medicine (Baltimore). 2019;98(2):e13554.
7. Barnes DM, Hanby AM. Oestrogen and progesterone receptors in breast cancer: past, present and future. Histopathology 2001; 38:271-4.
8. Akoz G, Diniz G, Ekmekci S, Ekin ZY, Uncel M. Evaluation of human epididymal secretory protein 4 expression according to the molecular subtypes (luminal A, luminal B, human epidermal growth factor receptor 2-positive, triple-negative) of breast cancer. Indian J Pathol Microbiol 2018;61(3):323-9.
9. Mahara S, Lee PL, Feng M, Tergaonkar V, Chng WJ, Yu Q. HIF-1 α activation underlies a functional switch in the paradoxical role of Ezh2/PRC2 in breast cancer. Proc Natl Acad Sci USA 2016;113(26):E3735-44.
10. Kvietikova I, Wenger RH, Marti HH, Grassman H. The transcription factors ATF-1 and CREB-1 bind constitutively to the hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) DNA recognition site. Nucleic Acids Res 1995;23(22):4542–50.
11. Masoud GN, Li W. HIF-1 α pathway: role, regulation and intervention for cancer therapy. Acta Pharm Sin B 2015;5(5):378-89.
12. Wang GL, Jiang BH, Rue EA, Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O2 tension. Proc Natl Acad Sci USA 1995;92:5510-4.

13. Liu J, Zhang C, Zhao Y, Yue X, Wu H, Huang S, et al. Parkin targets HIF-1 α for ubiquitination and degradation to inhibit breast tumor progression. *Nat Commun* 2017;8(1):1823.
14. LaGory EL, Giaccia, AJ. The ever-expanding role of HIF in tumour and stromal biology. *Nat Cell Biol* 2016;18:356-65.
15. Semenza GL. Hypoxia-inducible factors in physiology and medicine. *Cell* 2012;148:399-408.
16. Harrison H, Pegg HJ, Thompson J, Bates C, Shore P. HIF1 alpha expressing cells induce a hypoxic-like response in neighbouring cancer cells. *BMC Cancer* 2018;18(1):674.
17. Sørlic T, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2001;98(19): 10869-74.
18. Perou CM, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000;406(6797):747-52.
19. Liu ZJ, Semenza GL, Zhang HF. Hypoxia-inducible factor 1 and breast cancer metastasis. *J Zhejiang Univ Sci B.* 2015;1:32-43.
20. Horée N, van Diest PJ, Daisy MDSG, et al. The invasive front in endometrial carcinoma: higher proliferation and associated derailment of cell cycle regulators. *Human Pathol* 2007;38(8): 1232-8.
21. Rose C, Vtoraya O, Pluzanska A, et al. An open randomised trial of second-line endocrine therapy in advanced breast cancer. Comparison of the aromatase inhibitors letrozole and anastrozole. *Eur J Cancer* 2003;39(16):2318-27.
22. Caiyun Nie, Huifang Lv, Liangyu Bie, Honglin Hou, Xiaobing Chen. Hypoxia-inducible factor 1-alpha expression correlates with response to neoadjuvant chemotherapy in women with breast cancer. *Medicine (Baltimore)* 2018; 97(51):e13551.
23. Vleugel MM, Greijer AE, Shvarts A, van der Groep P, van Berkel M, Aarbodem Y, van Tinteren H, Harris AL, van Diest PJ, van der Wall E. Differential prognostic impact of hypoxia induced and diffuse HIF-1alpha expression in invasive breast cancer. *J Clin Pathol* 2005;58(2):172-7.
24. Gunther G, Richard HG, Ruslan H, Daniel MA, Hans JA, Gilles B, Valentin D. Hypoxia-inducible factor 1 alpha in high-risk breast cancer: an independent prognostic parameter? *Breast Cancer Res* 2004;6(3): R191-8.
25. Nalwoga H, Ahmed L, Arnes JB, Wabinga H, Akslen LA. Strong Expression of Hypoxia-Inducible Factor-1 α (HIF-1 α) Is Associated with Axl Expression and Features of Aggressive Tumors in African Breast Cancer. *PLoS One* 2016;11(1):e0146823
26. Van der Groep P, van Diest PJ, Smolders YH, Ausems MG, van der Luijt RB, Menko FH, et al. HIF-1 α overexpression in ductal carcinoma in situ of the breast in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *PLoS One* 2013;8(2):e56055.
27. Okada K, Osaki M, Araki K, Ishiguro K, Ito H, Ohgi S. Expression of hypoxia-inducible factor (HIF-1alpha), VEGF-C and VEGF-D in non-invasive and invasive breast ductal carcinomas. *Anticancer Res* 2005;25(4):3003-9.

İletişim:

Dr. Ceren Sayar

TC. Sağlık Bilimleri Üniversitesi,

Tepecik Sağlık Uygulama ve Araştırma

Hastanesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı,

İzmir, Türkiye

Tel: +90.554.7465851

E-mail: cerensayar@gmail.com