

# Hipoksi ile indüklenen faktör-1 alfa (HIF-1 $\alpha$ ) C111A gen polimorfizmi ile hemoglobin konsantrasyonu arasındaki ilişkinin araştırılması

## İNGİLİZCE BAŞLIK???

Muhammet Yusuf  
Tepebaşı  
Nilüfer Şahin Calapoğlu

Süleyman Demirel Üniversitesi  
Tıbbi Biyoloji AD, Isparta

### Öz

**Amaç:** Sistemik hipoksiye karşı klasik fizyolojik cevap kırmızı kan hücresi üretimindeki artıştır. Hipoksi ile indüklenebilir faktörler (HIF), oksijen duyarlılık mekanizmasını ve hipoksik hücre metabolizmasını düzenlemektedirler. Son yıllardaki çalışmalar, HIF oksijen duyarlılık yolağındaki mutasyonların eritrositozun patogeneğinde anahtar rol oynadığını göstermiştir. Bu çalışmamızda, transkripsiyonel aktiviteyi artırdığı bilinen HIF-1 $\alpha$ 'nın varyantı olan C111A gen polimorfizminin artmış hemoglobin konsantrasyonu ile muhtemel ilişkisini araştırmayı amaçladık. **Materyal-Metot:** Çalışmaya Isparta Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Poliklinik ve Servis'e müracaat eden bireyler dahil edildi. Totalde 309, normal hemoglobine sahip 100 (Hgb<17g/dl) kontrol gurubu ve yüksek hemoglobine sahip 209 (Hgb>17) denek vaka gurubu olarak bu çalışmada değerlendirildi. Genomik DNA örnekleri periferal kan lökositlerinden standart yöntemle göre izole edildi. HIF-1 $\alpha$  C111A tek nükleotid polimorfizmi için polimeraz zincir reaksiyonu-parça uzunluk polimorfizmi (PCR-RFLP) metodu uygulandı. Tüm bireyler için tam kan sayımı yapıldı. İstatistiksel analiz IBM SPSS Statistics 20 software, Hardy-Weinberg denge testi (HWE) ve bağımsız gruplarda t testi ile değerlendirildi. **Bulgular:** Vaka ve kontrol grubunda hem yaş (t= -2,80, p<0,05) ve hem de hemoglobin konsantrasyonları (t=30,50, p<0,05) bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu. HIF-1 $\alpha$  C111A polimorfizminin genotip frekansları C111A için normal ve yüksek hemoglobin arasında karşılaştırıldı. CA ve AA genotipleri her iki grupta da görülmedi (p>0,05). **Sonuç:** Elde ettiğimiz veriler ışığında, C111A nükleotid polimorfizmi ile yüksek Hgb konsantrasyonu arasında ilişki tespit edemedik.

**Anahtar kelimeler:** Hipoksi ile indüklenen faktör-1 alfa (HIF-1 $\alpha$ ), hemoglobin (Hgb) konsantrasyonu, C111A polimorfizm.

### Abstract

**Aim:** Classic physiological responses to systemic hypoxia are an increase in red blood cell production. Hypoxia inducible factors (HIFs), they are regulate the oxygen sensitivity mechanism and hypoxic cell metabolism. Recent works suggest that mutation of the HIF oxygen-sensing pathway plays a key role in the pathogenesis of the erythrocytosis. In the present study, the probable role of the polymorphic HIF-1 $\alpha$  variant C111A, which is known to enhance transcripiptional activity, was evaluated association with increased haemoglobin concentration. **Materials and methods:** Isparta Suleyman Demirel University Medical Faculty Hospital in the clinics and service subjects were included. A total of 309 subjects 100 (Hgb<17g/dl) with normal levels of haemoglobin 209 (Hgb>17g/dl) with high levels of Hgb were recruited for this study. Genomic DNA was extracted from peripheral blood leukocytes of all subjects.

Yazışma Adresi:  
Muhammet Yusuf Tepebaşı  
Tel: ????  
e-mail: gultepe74@windowslive.com

The polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) method was performed for HIF-1 $\alpha$  C111A single nucleotide polymorphism (SNP). A complete blood count was performed for all subjects. Data were evaluated by descriptive statistics, frequency analysis, Hardy-Weinberg equilibrium test and independent t test with SPSS 20.0 software.

Results: In the case and control groups in terms of age ( $t = -2,80$ ,  $p < 0,05$ ) and haemoglobin concentrations ( $t = 30,50$ ,  $p < 0,05$ ) were found to be statistically significant. Distribution of the genotype frequencies among the normal level Hgb and high level Hgb groups for C111A was calculated. The normal Hgb level group's genotype frequencies were 100, 0.00, and 0.00 for CC, CA, and AA, respectively CA and AA genotypes were not observed in both groups ( $p > 0,05$ ).

As a result, no correlation between the nucleotide polymorphism C111A with a high concentration of Hgb.

**Keywords:** Hypoxia inducible factor-1 alpha (HIF-1 $\alpha$ ), haemoglobin (Hgb) concentration, C111A polymorphism.

## Giriş

Birçok organizma hipoksik koşullara uyum sağlayacak mekanizmalar geliştirmiştir. Değişen oksijen seviyeleri, belirli homeostatik düzenleyici genlerin aktivasyonu veya baskılanması ile sonuçlanabilir ve değişen çevresel şartlarda hücre ve dokuların hayatta kalması sağlanır. Hipoksik şartlar tarafından aktive edilen HIF-1 geni bunlardan biridir ve doku büyümesi ile damarlanmayı kontrol etmek için diğer transkripsiyon faktörleri ve enzimlerle ilişkiye girebilmektedir (1, 2). HIF-1 ilk olarak hipoksiye cevaben eritropoietinin (EPO) artmasına sebep olan transkripsiyonel kompleks olarak tanımlanmıştır. Semenza ve Wang 1992'de EPO'nun 3' Hipoksi Response Elementi (HRE) ile oksijene bağımlı şekilde etkileştiği bir çekirdek faktörünü keşfetmişlerdir. Bu DNA bağlayan kompleksi "Hypoxia-inducible factor 1" ya da 'HIF-1' olarak adlandırmışlardır. Daha sonraki çalışmalar hipoksik koşullar altında HIF-1'in bağlama aktivitesinin çeşitli eritropoietin üretmeyen hücre serilerinde de bulunduğunu göstermiştir. Bu durum HIF-1'in hipoksiye cevap olarak gen ekspresyonu aktivitesinde genel bir role sahip olduğunu göstermiştir (3). HIF-1 heterodimer yapıdadır. HIF-1, sürekli eksprese olan HIF-1  $\beta$  ve hipoksi ile ilişkili HIF-1  $\alpha$  alt ünitelerini içerir. Temel olarak hipoksi tarafından ekspresyonu kontrol edilen HIF-1 birçok genin düzenlenmesinde rol alır (4). Bu proteinin etki ettiği mekanizmalar, çok sayıda genin transkripsiyonunun düzenlenmesi, hücrelerinde diferansiyasyonu, vaskülarizasyon, otokrin büyüme faktörü üretimi, proliferasyon, invazyon ve metastaz, metabolik yeniden programlanma ve tümör büyümesinin artması olarak sıralanabilir (5, 6). Hipoksi ile indüklenen faktör-1 (HIF-1) protein sentezi PI3K ve ERK mitogen-activated protein kinase (MAPK) sinyal iletim yollarının aktivasyonu ile düzenlenir. PI3K, re-

septör Tirozin Kinaz ve G-protein bağımlı reseptörlerin aldığı uyarılarla aktive olur. Hipoksi sonrası aktive olan bu sinyal yolağı ile aktive olan HIF-1 vasküler endotelial growth faktör (VEGF) ile anjiogenezi, siklin G2 ile büyümeyi, GLUT ekspresyonuna etki ederek glukoz metabolizmasını ve EPO üzerinden de eritropoezi arttırdığı yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (7).

Bu çalışmamızda, hemoglobin düzeyi ortalama 17,72 g/dl olan 209 vaka grubunda ve hemoglobin düzeyi ortalama 15,1 g/dl olan 100 kontrol grubunda HIF-1  $\alpha$  geninin 2. ekzonunda bulunan C111A nükleotidinde meydana gelen polimorfizmin 28. kodonda serinden tirozin aminoasidine dönüşümü ve bu polimorfizmin hemoglobin konsantrasyonu üzerine etkisini araştırdık.

## Materyal ve Metot

Bu çalışma; Süleyman Demirel Üniversitesi Rektörlüğü Tıp Fakültesi Etik Kurul Başkanlığı'ndan 2013/3484sayılı kararı ile etik kurul izni alınarak Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Tıbbi Biyokimya Laboratuvarlarında gerçekleştirildi. Isparta Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Poliklinik ve Servis hastalarından 17 ve üzeri yaşa sahip ve tam kan sayımı sonucunda, hemoglobin seviyesi 17g/dl ve üzerinde bulunan 209 adet vaka ve hemoglobin seviyesi 17g/dl altında bulunan 100 adet kontrol kanı tanıya bakılmaksızın EDTA (Etilendiamin tetraasetik asit)'li tüplere alındı aynı gün Beckman Coulter LH 750 Hematology analyser (The United States of America) cihazında tam kan sayımı yapıldı. Hemoglobin konsantrasyonunun 13 ve 17 arasında olması Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'ne göre normal kabul edildi (8).

HIF-1  $\alpha$  C111A gen polimorfizminin genotiplemeşi Genomik DNA periferik kandan GeneJet Whole Blood Genomic DNA Purification Mini Kit (Thermo Scientific-K0782) kullanılarak izole edildi. İzolasyonda sırası ile 1,5 ml'lik ependorf tüplere 200  $\mu$ l kan örneği kondu ve üzerine 20  $\mu$ l Proteinaz K solüsyonu eklendi. Vorteksenerek homojenize edildi. Üzerine 400  $\mu$ l lizis solüsyonu eklendi homojen süspansiyon elde etmek için vortekslendi. Su banyosu 56 °C'ye ısıtıldı ve numuneler 10 dakika arada bir vorteksenerek inkübe edildi. Üzerlerine 200  $\mu$ l etanol ilave edilerek pipetle karıştırıldı. Hazırlanan karışım spin kolona aktarıldı. 8.000 rpm (dakikadaki dönüş sayısı)'de 1 dakika santrifüj edildi. Süzülen solüsyonu içeren toplama tüpü atıldı ve yeni bir toplama tüpünün içerisine kolon yerleştirildi. 500  $\mu$ l Wash Buffer (WB) 1 (Etanol ilaveli) kolona ilave edilerek 1 dakika 10.000 rpm'de santrifüj edildi. Toplama tüpüne süzülen kısım atıldı ve spin kolon tekrar toplama tüpünün içerisine yerleştirildi. 500  $\mu$ l Wash Buffer (WB) 2 (Etanol ilaveli) spin kolona ilave edildi. 14.000 rpm'de 3 dakika santrifüj edildi. Spin kolon 1,5 ml'lik ependorf tüpüne yerleştirildi ve genomik DNA'nın elute edilebilmesi için kolon membranının merkezine 200  $\mu$ l Elution Buffer eklendi. Oda sıcaklığında 2 dakika inkübe edilerek 10.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. Spin kolon atıldı ve örnekler PCR aşamasında kullanılmak üzere -20 derecede saklandı. HIF-1  $\alpha$  C111A polimorfizmi polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) kullanılarak değerlendirildi. Amplifikasyon için primer dizisi olarak Forward Primer : 5'-GGA TAA GTT CTG AAC GTCGA-3' Reverse Primer : 5'-ATC CAG AAGTTT CCT CAC AC-3' kullanıldı. PCR şartları initialization için 95°C 5 dakika, denaturasyon için 95°C 30 saniye (30 siklus), annealing 60°C 30 saniye (30 siklus), extensiyon 72°C 30 saniye (30 siklus) ve final elongation 72°C 5 dakika olacak şekilde ayarlandı. HIF-1  $\alpha$  C111A polimorfizm bölgesi için BglII restriksiyon enzimi kullanılarak kesim reaksiyonları gerçekleştirildi. HIF-1  $\alpha$  C111A PCR ürünü 187 base pair (bp) uzunluğunda olup BglII restriksiyon enzimi (Recombinant, Lithuania) ile CC homozigot normal 143 ve 44 bp uzunluklarında parçalanır. Amplifiye edilmiş PCR sekansları ve restriksiyon fragmentlerini görüntülemek için ethidium bromide kullanılarak boyandı. %3'lük agaroz jelde yürütülerek görüntülendi. PCR-RFLP genotiplemesini onaylamak

için Applied Biosystems 3730 XL DNA Analyzer (The United States of America) kullanılarak DNA sekansları onaylandı.

### İstatistiksel Analiz

Sürekli değişkenlerin karşılaştırılmasında bağımsız iki grup arası farkların t testi (independent samples "t" test) IBM SPSS Statistics 20 Programı kullanılarak değerlendirilmiştir. İki yönlü  $p < 0,05$  düzeyindeki değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Genotip ve allel frekansları elektroforetik band görünümüne göre değerlendirilmiştir. Allel frekansları allel sayımı ile hesaplanmıştır. Genotipler hem sayı ve hem de yüzde olarak belirtildi. Bütün vakalardaki muhtemel üç genotip ve allel frekansları (p ve q) şu formüle göre hesaplanmıştır. Allel frekansı (p) =  $((2 \times \text{homozigot}) + \text{heterozigot}) / (2 \times N)$  N= Toplam birey sayısı. Bütün örneklerin Hardy-Weinberg dengesinden (HWE) sapmaları test edildi. HWE analizi online program kullanılarak yapıldı (<http://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa2.pl>). HWE analizi pearson's goodness-of-fit-chi-square (serbestlik derecesi=1), Log-likelihood ratio chi-square (serbestlik derecesi=1) ve exact testi için P değerini hesaplar. HWE programı aynı zamanda populasyonda heterozigotluk seviyesini tanımlayarak akrabalık derecesini belirten değeri gösteren F değerini de hesaplar. Değişkenler ile hastalık riski arasındaki ilişkiyi belirlemede odds oranları (OR), %95 güvenlik aralığında (CI) Institute of Human Genetics tarafından sağlanan online erişim programı (Link: <http://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>) ile belirlendi.

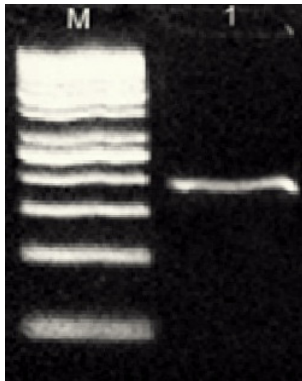
### Bulgular

Bu çalışmada, hemoglobin düzeyi 17 g/dl ve üzeri olan bireylerden toplanan örneklerde HIF-1  $\alpha$  gen polimorfizmi olup olmadığı araştırılmıştır. Bu amaçla Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Poliklinik ve Servis'e müracaat eden bireylerden tanıya bakılmaksızın hemoglobin değeri sonucu 17 g/dl ve üzeri olanlardan vaka gurubu olarak değerlendirilmek üzere ve yine tanıya bakılmaksızın hemoglobin değeri normal sınırlarda olan bireylerden kontrol grubu olarak değerlendirilmek üzere kanlar alınarak PCR-RFLP yöntemi ile HIF-1  $\alpha$  C111A polimorfizmi

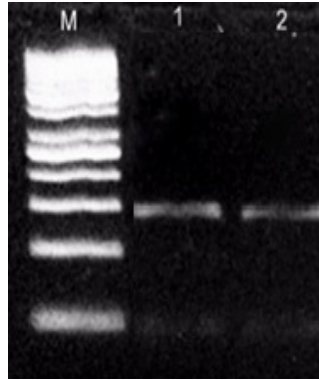
nin allel ve genotipik tayini yapılmıştır. Çalışmamızda hemoglobin düzeyi 17 g/dl ve üzerinde bulunan 209 adet kan alınmış ve hemoglobin değerinin ortalama 17,7 g/dl ve standart sapması 0,67 yaş ortalamasının da 41,4 olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamız kontrol grubu olarak hemoglobin değerinin ortalama 15,1 g/dl ve standart sapması 0,78 yaş ortalamasının ise 47 olduğu 100 adet kan alınarak yapılmıştır. Allel frekansları belirlenen HIF-1  $\alpha$  C111A genotipleri istatistiki olarak Hardy-Weinberg Dengesi ve İlişkilendirme Testi ile değerlendirilmiştir.

Vaka ve kontrol grubunun yaş ve hemoglobin sürekli değişkenlerinin özellikleri ve istatistiksel değerlendirilmesi tablo da görülmektedir (Tablo 1). Vaka ve kontrol grubunda hem yaş ( $t = -2,80$ ,  $p < 0,005$ ) ve hem de hemoglobin konsantrasyonları ( $t = 30,50$ ,  $p < 0,0001$ ) bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. Vaka ve Kontrol grubunun tamamı erkeklerden oluşmaktadır.

#### HIF-1 $\alpha$ C111A Polimorfizmi Bulguları



Şekil 1: C111A PCR ürünü (Marker 50 bp)



Şekil 2: C111A RFLP



Şekil 3: C111A sekans

Hemoglobin düzeyi ortalama 17,7 g/dl olan 209 vaka ve 15,1 g/dl olan 100 kontrol grubuna ait numune HIF-1  $\alpha$  geninde yer alan C111A polimorfizmini belirleyebilmek için ilgili bölge PCR ile çoğaltılmış %3'lük agaroz jelde yürütülerek gösterilmiştir (Şekil 1). Sonrasında BgIII restriksiyon enzimi kullanılarak amplifikasyon ürününün kesimi gerçekleştirilmiştir, agaroz jel elektroforezinde yürütülerek fotoğraflanmıştır (Şekil 2) ve DNA sekans analizi ile doğrulanmıştır (Şekil 3). HIF-1  $\alpha$  C111A için 209 vaka grubunda AA homozigot polimorfik 0, CA heterozigot 0 ve CC homozigot normal 209 olarak bulundu. 100 kontrol grubunda AA homozigot polimorfik 0, CA heterozigot 0 ve CC homozigot normal 100 olarak bulundu.

Pearson's goodness of fit chi square, log likelihood ratio chi square veya P exact testi olmak üzere üç test kullanımı ile yapılan HWE analizinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ( $p > 0,05$ ). Akralılık sabiti değeri vaka ve kontrol grubunda 0,000 olarak bulundu (Tablo 3).

Tablo 1

Vaka ve kontrol gruplarının temel karakteristikleri ve gruplar arasındaki sürekli değişkenlerin karşılaştırılmasında bağımsız iki grup arası farkların t testi değerleri

Değişken	Hastalık durumu	N	Ortalama	SD	SE	t değeri	Ortalama farkları	P
Yaş (yıl)	Vaka	209	41,47	17,35	1,20	-2,80	-5,61	0,005
	Kontrol	100	47,08	14,48	1,45			
Hemoglobin (g/dL)	Vaka	209	17,73	0,67	0,05	30,50	2,61	0,000
	Kontrol	100	15,11	0,78	0,07			

Laboratuvar çalışmaları sonucunda, HIF-1  $\alpha$  C111A polimorfizmi açısından elde edilen veriler ışığında her bir bireye ait kan örnekleri allel frekansı ve genotipleri açısından istatistiksel olarak değerlendirildiğinde anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir.

## Tartışma

HIF-1  $\alpha$ , hipoksik şartlara uyum sağlamak için gerekli çok sayıda genin transkripsiyonunu teşvik etmek için oksijen yetersizliğinde aktif bir şekilde anahtar rol oynayan transkripsiyon faktörüdür. HIF-1  $\alpha$  polimorfizmleri, hipoksi ile ilgili hastalıkların ortaya çıkması veya ilerlemesi ile ilişkilerin belirlenmesi için yoğun bir şekilde çalışılmıştır (9). Kanser hücrelerinin hipok-

**Tablo 2** HIF1  $\alpha$  C111A Polimorfizminin Temel Karakteristikleri

Hastalık durumu	Genotip	N	Hemoglobin dL) $\pm$ SD	(g/ SE	t değeri	Ortalama farkları	P
Vaka	CC	209	17,73 $\pm$ 0,67	0,05	-	-	-
	CA	0	-	-	-	-	-
	AA	0	-	-	-	-	-
Kontrol	CC	100	15,11 $\pm$ 0,78	0,07	-	-	-
	CA	0	-	-	-	-	-
	AA	0	-	-	-	-	-

**Tablo 3** HIF-1  $\alpha$  C111A polimorfizminin vaka ve kontrol gruplarında genotip frekansları, allel frekansları ve Hardy-Weinberg dengesi testi

	Vaka (n=209)	Kontrol (n=100)
Genotip frekansları		
CC	209 (%100)	100 (%100)
CA	0 (%0)	0 (%0)
AA	0 (%0)	0 (%0)
Allel frekansları		
C alleli	1,00	1,00
A alleli	0,00	0,00
Hardy-Weinberg dengesi testi		
F-inbreeding coefficient	0,000	0,000
P-Pearson's goodness of fit $\chi^2$ (DF=1)	1	1
P-Log likelihood ratio $\chi^2$ (DF=1)	1	1
P Exact test	1	1



sik ortama uyum sağlamaları ve metabolizmalarının devamlılığında HIF-1  $\alpha$  önemli bir rol oynar. HIF-1  $\alpha$  aynı zaman da eritropoetin gen ekspresyonunu artırarak eritrositoza yol açtığından hemoglobin konsantrasyonunu arttırır. Bu nedenle çalışmamızda HIF-1 $\alpha$  C111A polimorfizmi ve Hgb konsantrasyonları arasındaki ilişkiyi araştırdık. Çalışmalarda birçok polimorfizm arasından en fazla C111A, C1772T ve G1790A polimorfizmleri çalışılmıştır. HIF-1  $\alpha$  geninin 2. ekzonunda bulunan C111A nükleotidlerinde meydana gelen polimorfizm 28. kodonda serinden tirozin aminoasidine dönüşümü gerçekleştirir (10).

Konac ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada over, servikal ve endometrial kanserli hastalarda HIF-1  $\alpha$  C111A polimorfizmi çalışılmıştır. Çalışmada 102 jinekolojik kanser hastası ve 107 sağlıklı kontrol kullanılmış ve genotipleme PCR-RFLP metodu kullanılarak yapılmıştır. Sonuçta C111A polimorfizminin jinekolojik kanserlerde istatistiksel olarak anlamlı olmadığı CC ve CA genotiplerinin hem kontrol hem de üç hasta tipinde de bulunmadığını ortaya koymuşlardır (11). Apaydın ve arkadaşları Türk populasyonunda sporadik meme kanserli hastalarda HIF-1  $\alpha$  C111A polimorfizmini çalışmışlar ve sonuç olarak C111A polimorfizmi ile hastalık arasında ilişki bulamamışlardır (12). Naidu ve arkadaşları HIF-1  $\alpha$  C111A polimorfizminin meme kanserli olgularda araştırmış ve sonuçta CA ve CC genotiplerini bulamadıklarından bu polimorfizmin etkisi olmadığını ortaya koymuşlardır (13). Chachami ve arkadaşları HIF-1  $\alpha$  C111A polimorfizmini osteonekrozlu hastalarda araştırmış ve yine bu polimorfizmin olmadığını ortaya koymuşlardır (14). Sharma ve arkadaşları Kuzey-Batı Hindistan'da meme kanseri üzerine yaptıkları çalışmada meme kanserli hastalarda ve sağlıklı kontrollerde C111A polimorfizminin olmadığını tespit etmişlerdir (15).

## Sonuç ve Öneriler

Yapmış olduğumuz çalışma sonucunda kanser ve hipoksik şartlarda aktitesi artan HIF-1  $\alpha$  nın C111A polimorfizmi ile Hgb konsantrasyonu arasındaki ilişkiyi belirlemeye çalıştık. Sonuç olarak HIF-1  $\alpha$  C111A polimorfizmi ile Hgb konsantrasyonları arasında herhangi bir ilişki tespit edemedik. Literatürleri taradığımızda çalışmamızın sonucunun literatürlerle uygun

olduğunu gördük. HIF-1  $\alpha$  C111A polimorfizminin hem kanserde hem de hipoksi sonucu artmış eritrositoz ve dolayısıyla artmış hemoglobin konsantrasyonu ile ilişkili olmadığını tespit ettik. Çalışmamız sonucunda araştırmacıların HIF-1  $\alpha$  polimorfizmleri ile yapmayı planladıkları çalışmalarda C111A varyantı ile ilgili çalışmamızı ve literatürlerde bu polimorfizmle alakalı sonuçları göz önünde bulundurarak yapmaları hem para hem de zaman açısından kazanç sağlayacağını düşünüyoruz.

Teşekkür

Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje (BAP) Birimi tarafından (kod no: 3780-YL2-13) desteklenmiştir.

## Kaynaklar

1. Carmeliet P, Dor Y, Herbert JM, Fukumura D, Brusselmans K, Dewerchin M, Neeman M, Bono F, Abramovitch R, Maxwell P, Koch CJ, Ratcliffe P, Moons L, Jain RK, Collen D, Keshert E. Role of HIF-1 $\alpha$  in hypoxia-mediated apoptosis, cell proliferation and tumor angiogenesis. *Nature* 1998;394:485-90.
2. Laderoute KR, Amin K, Calaoagan JM, Knapp M, Le T, Orduna J, Foretz M, Viollet B. 5'-AMP-activated protein kinase (AMPK) is induced by low-oxygen and glucose deprivation conditions found in solid-tumormicroenvironments. *Mol Cell Biol*. 2006;26:5336-47.
3. Wang GL, Semenza GL. Characterization of hypoxia-inducible factor 1 and regulation of DNA binding activity by hypoxia. *J. Biol. Chem*. 1993;268(29):21513-8.
4. Semenza GL. Regulation of mammalian O<sub>2</sub> homeostasis by hypoxia-inducible factor 1. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 1999;15:551-78.
5. Patiar S, Harris AL. Role of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  as a cancer therapy target. *Endocrine-Related Cancer* 2006;13:61-75.
6. Semenza GL. Evaluation of HIF-1 inhibitors as anticancer agents. *Cancer Lett* 2007;12(19-20):853-59.
7. Paez JG, Sellers WR. PI3K/PTEN/AKT pathway. *Cancer Treat Res*. 2003;115:145-67.
8. Benoist B, McLean E, Egli I, Cogswell M. Worldwide prevalence of anemia 1993-2005, WHO Global Database on Anemia 2008.
9. Wenger RH. Cellular adaptation to hypoxia: O<sub>2</sub>-sensing

- protein hydroxylases, hypoxia-inducible transcription factors, and O<sub>2</sub>-regulated gene expression. Federation of American Societies for Experimental Biology 2002;16:1151-62.
10. Narayan V, Iyer, Sandra W, Leung, Gregg L, Semenza. The Human Hypoxia-Inducible Factor 1 $\alpha$  Gene:HIF1A Structure and Evolutionary Conservation. Genomics 1998;52:159-65.
  11. Konac E, Onen HI, Metindir J, Alp E, Asyali AB, Ekmekci A. An investigation of relationships between hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  gene polymorphisms and ovarian, cervical and endometrial cancers. Cancer Detection and Prevention 2007;31:102-9.
  12. Apaydin I, Konac E, Onen HI, Akbaba M, Tekin E, Ekmekci A. Single Nucleotide Polymorphisms in the Hypoxia-inducible Factor-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) Gene in Human Sporadic Breast Cancer. Archives of Medical Research 2008;39:338-45.
  13. Naidu R, Har YC, Taib NA. Associations between hypoxia-inducible factor-1 alpha (HIF-1alpha) gene polymorphisms and risk of developing breast cancer. Neoplasma 2009;56:441-7.
  14. Chachami G, Kalousi A, Papatheodorou L, Lyberopoulou A, Nasikas V, Tanimoto K, Simos G, Malizos NK, Georgatsou E. An Association Study between Hypoxia Inducible Factor-1alpha (HIF-1 $\alpha$ ) Polymorphisms and Osteonecrosis. Public Library of Science 2013;8(11):1-8.
  15. Sharma S, Kapahi R, Sambyal V, Guleria K, Manjari M, Sudan M, Uppal MS, Singh NR. No Association of Hypoxia Inducible Factor-1 $\alpha$  Gene Polymorphisms with Breast Cancer in North-West Indians. Asian Pac J Cancer Prev 2014;15(22):9973-78.