



**T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**MEME KANSERİNDE SİKLOOKSİJENAZ-2 EKSPRESYONU
ARTIŞININ SAĞKALIM ÜZERİNE ETKİSİ**

**Dr. SERTAÇ ATA GÜLER
UZMANLIK TEZİ**

DANIŞMAN: Prof. Dr. BAHADIR M. GÜLLÜOĞLU

İSTANBUL 2010

ÖNSÖZ

Meme kanseri dokularının patolojik incelenmesinde yardımları için Prof. Dr. Handan Kaya'ya ve Naziye Özkan'a, istatistiksel analizlerde desteği için Prof. Dr. Önder Ergönül'e, hasta takip ve taramalarında yardımları için Op. Dr. Leyla Semiha Şen ve Uzman Hemşire Yasemin Nazlı'ya, tezimin yazımı sırasında her türlü anlayışı için eşim Dr. Özlem Güler'e teşekkür ederim.



ÖZET

Meme kanseri kadınlarda görülen en sık kanserdir. Bu kanserin görülme hızı her geçen gün daha da artmaktadır. Prostaglandin sentezinde görevli ana enzim olan siklooksijenaz-2 (*COX-2*) enziminin bir çok kanser tipinde olduğu gibi meme kanserinde de ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir. Günümüzde meme kanserinin değerlendirilmesinde ve tedavisinde kullanılan bazı prognostik ve prediktif faktörler vardır. Çalışmalar *COX-2*'nin meme kanseri sağkalımını da tahmin ettirebilecek prognostik ve prediktif bir faktör olabileceği konusunda işaretler ortaya koymuştur.

Bu çalışmanın amacı meme kanseri sağkalımı ile *COX-2* ekspresyonundaki artış arasındaki ilişkiyi göstermektir. Çalışmanın hipotezi, *COX-2* ekspresyonundaki artışın meme kanseri sağkalımı ile ters orantılı olduğudur.

Çalışmada *COX-2* ekspresyonunun genel sağkalım (GS), hastalıksız sağkalım (HS) ve meme kanserine özgün sağkalım (MKÖS) üzerine etkileri ortaya koyulmuştur. *COX-2* ekspresyonu ile meme kanserinin prognostik faktörleri arasındaki ilişki, GS, HS ve MKÖS'yi etkileyen bağımsız faktörler ve moleküler alt gruplarda *COX-2* ekspresyonunun GS, HS ve MKÖS üzerine etkileri gösterilmeye çalışılmıştır.

Çalışmanın sonucunda *COX-2* ekspresyonunun GS, HS ve MKÖS üzerine anlamlı bir etkisinin olmadığı gösterilmiştir. Buna rağmen takip süreleri ilerledikçe GS ve MKÖS için *COX-2* ekspresyonu pozitif olan hastaların sağkalımlarının daha kötüye gittiği görülmüştür. *COX-2* ekspresyonu ile Ki67 ekspresyonu arasında anlamlı bir ilişki olduğu, Ki67'si pozitif hastaların *COX-2* ekspresyon düzeyinin de yüksek olduğu gösterilmiştir. Sadece progesteron reseptör pozitifliğinin GS ve MKÖS'yi etkilediği, PR negatif olmasının GS ve MKÖS'yi azalttığı gösterilmiştir. Tümör çapının artmasının ve moleküler alt gruplandırmada luminal B tip ve bazal tip olmanın HS'yi azalttığı gösterilmiştir. Moleküler alt gruplar değerlendirmesinde ise her alt grup içinde *COX-2* ekspresyonunun negatif veya pozitif olmasının o alt grubun sağkalımı üzerine etkisinin olmadığı görülmüştür.

ANAHTAR SÖZCÜKLER : meme kanseri, sağkalım, siklooksijenaz-2 enzimi, prognostik faktör, prediktif faktör

SUMMARY

Breast cancer is the most common cancer in Turkish women and its incidence is increasing in time. Overexpression of cyclooxygenase-2 (*COX-2*), a major enzyme for prostaglandin synthesis, is also found in breast cancer. There are current predictive and prognostic factors of breast cancer which are taken under consideration for treatment assignment. Previous data revealed that *COX-2* expression is also a promising predictive and prognostic factor for breast cancer.

Aim of this present study is to assess the impact of *COX-2* expression on breast cancer survival. Hypothesis was determined as *COX-2* overexpression is related with poor prognosis in breast cancer patients.

The study assessed rates of overall (OS), disease free (DFS) and breast cancer specific survival (BCSS) in patients with and without *COX-2* overexpression in retrospective manner. In addition, relation between *COX-2* expression and other conventional prognostic factors such as tumor size, grade and hormone receptor expression for breast cancer was assessed. Independent factors for OS, DFS and BCSS and the impact of *COX-2* expression on OS, DFS as well as BCSS was analyzed in each molecular subgroup of breast cancer.

As result, OS, DFS and BCSS rates were not different in patients with *COX-2* negative and positive breast cancer. Ki67 expression was significantly increased in *COX-2* overexpressed patients. Progesteron receptor expression was found to be the independent factor for both OS and BCSS, in which progesteron receptor negative patients had significantly poorer survival rates. Additionally, increasing tumor size and molecular subtypes of luminal B and basal types were the independent predictive factors for poorer DFS. Survival rates were also similar within each molecular subgroup irrespective of their *COX-2* overexpression.

KEY WORDS : breast cancer, survival, cyclooxygenase -2 enzyme, prognostic factors, predictive factors

KISALTMALAR

COX	: Siklooksijenaz
COX-1	: Siklooksijenaz-1
COX-2	: Siklooksijenaz-2
ÖR	: Östrojen reseptörü
PR	: Progesteron reseptörü
NSAİİ	: Nonsteroidal antiinflamatuvar ilaç
LK	: Lökotrien
PG	: Prostaglandin
PGI	: Prostaglandin
TX	: Tromboksan
PGG	: Prostaglandin G
PGH	: Prostaglandin H
DKİS	: Duktal karsinoma in situ
SLNB	: Sentinel lenf nodu biyopsisi
GS	: Genel sağkalım
HS	: Hastalısız sağkalım
MKÖS	: Meme kanserine özgün sağkalım
SVO	: Serebrovasküler olay
MKC	: Meme koruyucu cerrahi
MRM	: Modifiye radikal mastektomi
BT	: Bilgisayarlı tomografi
FISH	: Flöresan in situ hibridizasyon
İHK	: İmmünohistokimyasal

İÇİNDEKİLER

Sayfalar

ÖNSÖZ.....	i
ÖZET.....	ii
İNGİLİZCE ÖZET (SUMMARY).....	iii
KISALTMALAR.....	iv
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Meme Kanseri.....	3
2.1.1. Meme kanserinin tanımı ve önemi.....	3
2.1.2. Meme kanserinin tedavisindeki gelişmeler.....	3
2.1.3. Meme kanserinde prognostik ve prediktif faktörlerin önemi.....	6
2.2. Eikozanoidler ve Metabolizmaları.....	8
2.2.1. Eikozanoidlere genel bakış.....	8
2.2.2. Eikozanoidlerin biyosentezi.....	8
2.2.3. Eikozanoidlerin farmakolojisi.....	11
2.2.4. Eikozanoidlerin görevleri.....	12
2.3. Siklooksijenaz Enzimleri.....	15
2.3.1. Siklooksijenaz enzimlerinin fonksiyonları.....	15
2.3.2. Siklooksijenaz enzimlerinin farmakolojisi.....	18
2.4. Siklooksijenaz-2 Enzimi.....	19
2.5. Siklooksijenaz-2 Enziminin Kansere İlişkisi.....	20
2.6. Siklooksijenaz-2 Enzimi ve Meme Kanseri İlişkisi.....	22
2.6.1. Siklooksijenaz-2 ekspresyonunun meme kanserinde patofizyolojik etkisi.....	22
2.6.2. Siklooksijenaz-2 ekspresyonunun meme kanseri sağkalımı ile ilişkisi.....	24
2.6.3. Siklooksijenaz-2 enzim blokajının tedavideki yeri.....	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	26
3.1. Çalışmanın Tipi ve Evreni.....	26
3.2. Çalışmanın Amacı ve Hipotezi.....	26

3.3. Çalışmanın Etik İzni.....	26
3.4. Çalışmaya Alınma ve Çıkarılma Kriterleri.....	26
3.5. Çalışmanın Çıkarımları.....	28
3.6. Çalışmada Kullanılan Ölçütler.....	29
3.7. Histopatolojik Değerlendirme.....	30
3.7.1. Patoloji bloklarından kesit hazırlanması.....	30
3.7.2. Kesitlerin immünohistokimyasal inceleme için boyanması.....	30
3.7.3. Doku kesitlerinin immünohistokimyasal olarak değerlendirilmesi.....	31
3.7.4. Siklooksijenaz-2 ekspresyonunun değerlendirilmesi.....	31
3.7.5. Ki67 ekspresyonunun değerlendirilmesi.....	32
3.7.6. Östrojen ve progesteron ekspresyonunun değerlendirilmesi.....	32
3.7.7. HER2/neu ekspresyonunun değerlendirilmesi.....	32
3.7.8. Moleküler alt gruplandırmanın yapılması.....	33
3.7.9. Moleküler alt grupların COX-2 ekspresyonuna göre sınıflandırılması.....	33
3.8. İstatistiksel Analiz.....	33
4. BULGULAR.....	35
4.1. Genel.....	35
4.1.1. Çalışmanın kohortu.....	35
4.1.2. Kohortun özellikleri.....	36
4.1.2.1. Demografik, klinik ve tedaviler ile ilgili özellikler.....	36
4.1.2.2. Histopatolojik özellikler.....	37
4.1.2.3. COX-2 ekspresyonu.....	40
4.1.3. Kohortun sağkalım sonuçları.....	44
4.2. COX-2 Ekspresyonunun Sağkalım Üzerine Etkisi.....	44
4.2.1. COX-2 ekspresyonunun genel sağkalım üzerine etkisi.....	44
4.2.2. COX-2 ekspresyonunun hastalıksız sağkalım üzerine etkisi.....	45
4.2.3. COX-2 ekspresyonunun meme kanserine özgün sağkalım üzerine etkisi.....	46
4.3. COX-2 Ekspresyonu ile Konvansiyonel Prognostik Faktörler Arasındaki İlişki.....	50
4.4. Sağkalım Üzerine Etkili Bağımsız Faktörler.....	51
4.4.1. Genel sağkalım üzerine etkili faktörler	51

4.4.2. Hastaliksız sağkalım üzerine etkili faktörler.....	51
4.4.3. Meme kanserine özgün sağkalım üzerine etkili faktörler.....	52
4.5. Moleküler Alt Grupların COX-2 Ekspresyonuna Göre Sınıflandırılmasının Sağkalım Üzerine Etkisi.....	53
4.5.1. Genel sağkalım üzerine etkisi.....	53
4.5.2. Hastaliksız sağkalım üzerine etkisi.....	54
4.5.3. Meme kanserine özgün sağkalım üzerine etkisi.....	55
5. TARTIŞMA.....	56
6. SONUÇLAR.....	63
7. KAYNAKLAR.....	64



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Meme kanseri kadınlarda görülen cilt kanseri dışındaki kanser tiplerinin içinde akciğer kanserinden sonra ikinci en sık kanser tipidir (1). Görülme sıklığı açısından bakılırsa dünyada kadınlarda %16'lık bir oranı vardır (2). Bu oran kolorektal kanser ve servikal kanserin iki katı, akciğer kanserinin ise üç katı kadardır. Kanser nedenli ölümlerin içinde de beşinci sırayı almaktadır (1). 2004 senesi içinde dünyada meme kanseri sebebiyle 519.000 kişi ölmüştür. Bu oran tüm kanser nedenli ölümlerin %7'sini kapsarken, tüm ölüm nedenleri içinde de %1'lik bir oranı kapsamaktadır (3). Meme kanseri olgularının görülme sıklığı 1970'lerden sonra hızla artmıştır. Bu artışın sebebi de modern yaşam tarzlarına bağlanmıştır (4, 5). Meme kanseri görülme sıklığı tüm dünyada değişiklikler göstermektedir. Az gelişmiş ülkelerde bu oran daha düşükken, gelişmişlik arttıkça meme kanseri görülme sıklığı da artmaktadır (6). Ayrıca meme kanserinin görülme sıklığı yaş ilerledikçe daha da artmaktadır. Günümüzde 40 yaş altında meme kanseri görülme oranı %5'i geçmemektedir (7).

Türkiye verileri incelendiğinde, 2004-2006 yıllarında, kadınlarda tüm kanserler içinde ilk beş sırayı meme, kolorektal, tiroid, uterus korpus ve akciğer almaktadır (8). 2004, 2005, 2006 yıllarında en sık görülen ilk üç kanser meme, kolorektal ve tiroid olarak sıralanmaktadır. Yine ülkemizde kadınlarda yerleşim yerine göre en sık görülen kanserler arasında meme kanseri %23,8'lik bir orana sahiptir ve kadınlarda en sık görülen kanser tipidir (8).

Meme kanseri tedavi edilebilir bir hastalıktır. Erken yakalandığında tamamen bu hastalıktan kurtulmak mümkün olabilmektedir. En iyi tedavi yöntemleri ile evreye bağlı olarak, on yıllık hastalıksız sağ kalım süresi %10 ile %98 arasında değişmektedir (9, 10). Günümüzde meme kanserinin tedavi yöntemleri başta cerrahi olmak üzere, hormon tedavileri, kemoterapiler, radyoterapi ve hedefe yönelik tedavi olmak üzere beş grupta toplanır.

İmmünohistokimyasal çalışmalar sonucunda da meme kanseri tedavi yöntemlerine yeni alternatifler getirilmektedir. Bulunan yeni biyokimyasal maddeler ve moleküller ile daha uzun etkili, daha az yan etkisi olan, mortalite ve morbidite üzerine olumlu etkiler sağlayabilecek tedavi çeşitleri çalışılmaktadır.

İmmünohistokimyasal olarak çalışılmakta olan siklooksijenaz-2 (COX-2) enziminin etkileri de bu nedenden dolayı oldukça önemlidir. COX-2 ile kanser mekanizmaları arasında bir ilişki olduğu bilinmektedir. İlk önce kolon kanseri ile bağlantısı bulunan COX-2 enziminin kanserle olan ilişkisi zamanla akciğer, özefagus, prostat ve meme kanseri ile de bildirilmiştir.

Sıçanlarda oluşturulan meme kanseri modelleri üzerindeki çalışmalar zamanla yerini klinik çalışmalara bırakmış ve COX-2 enziminin meme kanserinde etkisinin rolü açıklanmaya çalışılmıştır. Kısaca günümüzde gelinen nokta, meme kanserinin ileri evre olup, prognozu kötü seyreden olgularında; lokal veya uzak metastaz görülmesi durumunda, östrojen reseptörü (ÖR) ve progesteron reseptörü (PR) negatif olan, HER2/neu (C-erb B2) pozitif olan olgularında COX-2 ekspresyonunun arttığı yönündedir. Ayrıca COX-2 enziminin meme kanserinde hem prognostik, hem de prediktif bir faktör olduğu açıklanmaya çalışılmaktadır.

Bu çalışmanın amacı meme kanseri sağkalımı ile COX-2 ekspresyonunda artış arasındaki ilişkiyi ortaya koymaktır. Çalışmanın hipotezi “COX-2 ekspresyonunda artış meme kanseri genel sağkalımı, hastalıksız sağkalımı ve meme kanserine özgün sağkalımı ile ters orantılı olduğu” şeklindedir. Meme kanseri dokularında COX-2 ekspresyonu arttıkça sağkalımın azalacağı öngörülmüştür. Çalışmanın ana (birincil) çıkarımı COX-2 ekspresyonu artışının GS, HS ve MKÖS üzerine etkilerini saptamaktır. İkincil çıkarımları ise COX-2 ekspresyonu ile ÖR, PR, HER2/neu, Ki67, tümör çapı, tümör gradı, aksilla durumu, patolojik evre, moleküler alt gruplar ve yaş arasındaki ilişkiyi bulmak; GS, HS, MKÖS’ı etkileyen bağımsız faktörleri tespit etmek ve moleküler alt gruplarda COX-2 ekspresyonunun ayrı ayrı olarak GS, HS, MKÖS üzerindeki etkisi saptamaktır.

Bunun için retrospektif olarak, meme kanseri sebebiyle opere olmuş hastaların sağkalımları analiz edildi. Bu hastaların, mevcut meme kanseri doku örnekleri patoloji doku bankasından temin edilerek, immünohistokimyasal olarak değerlendirildi, her bir doku için COX-2, ÖR, PR, HER2/neu ve Ki67 ekspresyonları saptandı ve aralarındaki ilişki ortaya konulmaya çalışıldı. Bu kriterler doğrultusunda, COX-2 ekspresyonunun meme kanseri için bir prognostik ve prediktif faktör olup olmadığının ortaya konulması amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Meme Kanseri

2.1.1. Meme kanserinin tanımı ve önemi

Meme, süt bezleri ve burada üretilen sütü meme başına taşıyan kanallardan oluşur. Bu süt bezleri ve kanalları döşeyen hücrelerin, kontrol dışı olarak çoğalmaları ve vücudun çeşitli yerlerine giderek çoğalmaya devam etmelerine meme kanseri denir.

Kansere bağlı ölüm nedenleri arasında akciğer kanserinden sonra ikinci sırada yer alan meme kanseri, kadınlara kıyasla daha az görülmekle birlikte, erkeklerde de görülebilir. Her 100 meme kanserinden birisi erkeklerde görülür. 1993-1997 yılları arasında, erkeklerde görülen meme kanseri oranı %50 artış göstermiştir (1, 2, 3, 4, 5).

Dünyada her 11 dakikada 1 kadın, meme kanseri nedeni ile kaybedilmektedir. Yine dünyada her 3 dakikada 1 kadında, yeni meme kanseri tanısı konulmaktadır. Türkiye’de de her yıl yaklaşık 30 bin kadın meme kanserine yakalanmaktadır (8).

Hastalığın diğer bir özelliği de, görülme sıklığının artıyor olmasıdır. Meme kanseri görülme oranı artış göstermekle birlikte, teknolojik gelişme ve erken tanı olanaklarının artmasına bağlı olarak, meme kanseri ölüm oranı aynı kalmıştır. Bunun nedeni, sivil toplum örgütlerinin çalışmaları ve toplum bilincinin artması olarak özetlenmektedir.

Henüz meme kanserini kesin önleyen bir yöntem mevcut değildir. Günümüzde bilinen tek yöntem erken tanıdır. Erken tanı sayesinde, meme kanserinin getirdiği sorunlar büyük oranda çözülebilmektedir. Bu sayede hastalığın toplumda yaptığı hasar en aza indirilebilmekte, yaşam süresi ve kalitesi önemli ölçüde arttırılabilmektedir.

2.1.2. Meme kanserinin tedavisindeki gelişmeler

Meme kanseri tedavi edilebilir bir hastalıktır. Erken yakalandığında tamamen bu hastalıktan kurtulmak mümkün olabilmektedir. Son yıllarda meme kanseri tedavisinde oldukça önemli gelişmeler olmuştur. Bir çok tedavi olanakları ortaya

çıkıştır. Bu olanaklar önemli ölçüde hastalığın saptandığı safhaya göre değişmektedir. Hastalık ne kadar erken safhada saptanırsa tedavi olanağı ve seçeneğı o kadar fazla olmaktadır.

Günümüzde meme kanseri tedavisi uzmanlardan oluşan ekiplerce, multidisipliner şekilde yapılmaktadır. Böyle bir ekip içerisinde cerrah, onkolog, radyasyon onkoloğı, radyolog, patolog, psikolog, plastik cerrah, fizyoterapist gibi tıbbın değişik dallarından bir araya gelmiş ve özellikle çalışma alanları meme kanserinde yoğunlaşmış hekimler bulunmaktadır.

Günümüzde meme kanserinin tedavi yöntemleri cerrahi, hormon tedavisi, kemoterapi, radyoterapi ve hedefe yönelik tedavi olmak üzere beş grupta toplanmaktadır.

Meme kanserinde cerrahi tedavi ve radyoterapi hastalığın lokal kontrolünü sağlayan tedavi yöntemleridir. Meme kanserinin bugün bilinen en etkin tedavisi tümörün ve tümörden kopan tümör hücrelerinin yayıldığı lenf nodlarının cerrahi olarak çıkarılmasıdır. Tümörün tamamen çıkarılması için üç farklı yöntem kullanılır. Memenin tamamen alınması yani total mastektomi, meme koruyucu cerrahi yani tümörün sadece etrafındaki bir miktar doku çıkarılarak kalan meme dokusunun bırakılması, onkoplastik cerrahi yani memedeki tümör çıkarıldıktan sonra tekrar meme dokusu yapılmasıdır. Koltuk altı lenf bezlerinin temizlenmesi, uzak yayılım yapmamış tümürlü hastalarda koltuk altı bölgesinde kanserin kontrolü ve hastalığın yaygınlığının anlaşılabilmesi için yapılmaktadır. Koltuk altındaki tüm lenf bezi ve kanallar çıkarılabilindiğı gibi sentinel lenf nodu biyopsisi yapılarak sadece bekçi lenf bezinin durumu incelenerek gerekli görülürse tüm lenf bezlerinin temizlenmesi yapılabilmektedir.

Radyoterapi, meme bölgesine ve koltuk altına uygulanarak, cerrahi girişimden sonra kalma olasılığı olan kanser hücrelerinin öldürülmesini sağlamak amacıyla yapılmaktadır. Eğer meme korunmuşsa kalan meme dokusu içerisindeki muhtemel tümör hücrelerini ortadan kaldırmak için memeye radyoterapi uygulanmaktadır. Bunun dışında günümüzde aksiller bölgeye de radyoterapi uygulaması kullanılan tedavi yöntemlerinden birisidir.

Sistemik tedavide ise ilaçlarla meme dışına yayılmış olan kanser hücrelerine kan yoluyla ulaşılmaktadır. Bu ilaçlar ağızdan veya damardan verildikten sonra tüm

vücuda yayılmaktadır. Genellikle, aynı anda birkaç ilaç verildiğinde daha etkili olduklarından, değişik kombinasyonlar halinde verilmektedirler. Kemoterapi rejimleri cerrahi öncesinde, tümörün ameliyat edilebilirliğini arttırmak için verilebildiği gibi (neoadjuvan terapi), ameliyat sonrasında koruyucu önlem olarak da verilmektedirler (adjuvan terapi).

Bazı meme kanseri hücreleri, içerdikleri hormon reseptörleri aracılığıyla östrojene ve progesterona duyarlı olabilmektedir. Bu durumlarda östrojen hormonu kanser hücrelerinin büyümelerine ve artmalarına neden olabilmektedir. Hormon tedavisinde amaç, bu şekilde östrojen ve progesteron reseptörü içeren ve bu hormona duyarlı olan kanser tiplerinde, östrojen etkisini ortadan kaldırmak ve kanserin gelişmesini önlemektir.

Hedefe yönelik tedavide de, daha çok tümöre özgü ve daha az yan etkili tedaviler amaçlanılmaktadır (11). Yalnızca kanserli hücreye etki eden monoklonal antikolar ile kemoterapinin yarattığı yan etkiler ortadan kaldırılmaya çalışılmaktadır. Hastanın diğer hücrelerine zarar vermeden yalnızca kanserli hücrenin yok edilmesi amaçlanılmaktadır. Bu amaçla kanseri yok edecek monoklonal antikolar kullanılmaktadır. Meme kanserinde HER2/neu pozitif olgularda kullanılan *Transtuzumab* bu tedavi yöntemine bir örnektir. Ayrıca epidermal büyüme faktörü (EGF) ile ilgili çalışmalar da hedefe yönelik tedavi amacıyla geliştirilmektedir.

HER2/neu bir glikoproteindir. İnsan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 olarak da bilinen bu glikoprotein bir transmembran proteinidir ve büyüme faktörü reseptör ailesindendir. Normal hücre sağkalımı, proliferasyonu ve farklılaşmasında önemli rol oynamaktadır. Aşırı ekspresyonu, genin amplifikasyonu sonucunda gerçekleşir ve hücrenin malign transformasyonuna yol açabilmektedir. Sonuçta ekspresyonu kanser dokusunda artmaktadır. Ekspresyonundaki artış meme kanserlerinin %30'unda görülmektedir. Özellikle genin ürünü olan proteinin ekspresyonu immünohistokimyasal olarak ölçülerek değerlendirilmesi yapılmaktadır. HER2/neu aşırı ekspresyonu ile bazı tedavilere direnç arasında ilişki gösterilmiştir. HER2/neu pozitif meme kanseri olan kadınlarda tümör daha agresif, hastalığın bütün evrelerinde relapsa kadar geçen süre daha kısa ve genel prognoz kötü olma eğilimindedir. Pozitifliği, negatif bir prognostik belirteçtir.

2.1.3. Meme kanserinde prognostik ve prediktif faktörlerin önemi

Meme kanserindeki en önemli noktalardan biri de hastalığın prognostik ve prediktif faktörlerinin belirlenmiş olmasıdır. Bu sayede hastalıkla mücadelede daha başarılı sonuçlar doğmaktadır. St. Gallen kriterlerine göre meme kanserinin prognostik faktörleri: hastanın yaşı, tümör çapı, tümörün gradı, tümörün evresi, cerrahi sınır durumu, tümörün histolojik tipi, reseptör durumu (ÖR ve PR), HER2/neu ekspresyonu, Ki67 ekspresyonu olarak belirlenmiştir. Bunun dışında belirlenmiş olan hem prognostik hem de prediktif faktörler ise: ÖR, PR, HER2/neu ekspresyonları ve moleküler alt gruplandırmadır.

Moleküler alt gruplandırmada meme kanserinin ÖR, PR ve HER2/neu ekspresyonlarına bakılarak 4 alt tip olarak değerlendirilmektedir (Tablo 1) (12, 13).

Tablo 1. Meme kanserinin moleküler alt gruplandırması

Alt Tipler	ÖR	PR	HER2/neu
Luminal A	+	Ve / veya +	-
Luminal B	+	Ve / veya +	+
HER2/neuTip	-	-	+
Bazal Tip	-	-	-

Diğer bir çalışmada mevcut immün panele dördüncü bir faktör olan Ki67 ekspresyonu eklenmiştir (14). Ki67, bir proliferasyon indeksidir. Sadece proliferasyon alan hücrelerde bulunan nükleer antijene karşı geliştirilmiş monoklonal bir antikordur. Hücredeki Ki67 oranı yükseldikçe proliferasyon indeksi artmakta ve bu da kanserin kötü prognostik özellikte olduğunu göstermektedir. Ki67'nin eklenmesiyle, luminal A ile luminal B sınıfları birbirinden ayrılmaktadır. Prognostik açıdan da ayrımları bu şekilde yapılmaktadır. Buna göre luminal tümörler kendi içinde 3 alt gruba ayrılmaktadır. Bu sınıflamada Ki67 ekspresyonunun sınır noktası %14 olarak belirlenmiştir (Tablo 2).

Tablo 2. Luminal alt tiplerinin 4 marker immünoanaliz ile sınıflandırılması

Alt Tip	ÖR	PR	HER2/neu	Ki67
Luminal A	+	Ve / veya +	-	Düşük; <%14
Luminal B	+	Ve / veya +	-	Yüksek; >%14
Luminal- HER2/neu	-	-	+	Yüksek

Moleküler alt gruplandırma meme kanseri için hem prognostik, hem de prediktif faktör olma özelliği göstermektedir. Bu sayede hem hastalığın prognozu açısından fikir sahibi olunmakta, hem de bu faktörlere bakılarak hastalığın tedavisine etki edilebilmektedir. Kendi içinde bakıldığı zaman luminal A tipi, luminal B tipine göre prognostik açıdan daha iyi özelliklere sahiptir. HER2/neu tipi ve bazal tip ise kötü prognoz göstergeleridir. En kötü prognostik değere sahip olanı bazal tip veya triple negatif tiptir.

Ayrıca genetik paneller de hastalığın prognostik özelliklerini göstermekte fayda sağlamaktadır. Günümüzde kullanılan bu genetik paneller: 70 gen analizi ve *Oncotype DX* (21 gen analizi) analizidir. Bu gen analizlerinin sonuçlarına göre hastalığın prognostik özellikleri hakkında fikir sahibi olunmaktadır.

Bu belirtilen faktörlere göre meme kanserinin prognostik özellikleri hakkında önceden bilgi sahibi olunmakta ve prediktif olarak bu faktörlerin hastalığın tedavisinde yerinin olup olmadığı planlanmaktadır.

2.2. Eikozanoidler ve Metabolizmaları

2.2.1 Eikozanoidlere genel bakış

Eikozanoid Yunanca'da yirmi karbonlu anlamına gelen bir terimdir. Eikozanoidler, yirmi karbonlu esansiyel yağ asitlerinin oksidasyonu ile biyokimyasal olarak oluşmuş moleküllerdir. Başta inflamasyon ve immünite olmak üzere birçok vücut sistemi üzerinde kompleks kontrol görevleri vardır. Merkezi sinir sisteminde de mesajcı görevi üstlenmektedirler.

Eikozanoidler ya omega-3 esansiyel yağ asidi olan eikozapentonik asitten (EPA), ya omega-6 esansiyel yağ asidi olan araşidonik asitten, ya da bir diğer omega-6 esansiyel yağ asidi olarak isimlendirilen dihomo-gamma-linolenik asitten (DGLA) sentezlenmektedirler. Araşidonik asitten üretilen eikozanoidler genellikle proinflamatuvar ve daha yaygındır. İnsanın diyetle aldığı bu yağ asitlerinin miktarı ve dengesi eikozanoidler ile kontrol edilen fonksiyonları etkileyebilmektedir. Kardiyovasküler hastalıklar, kan basıncı, artritler gibi durumlar ile karşılaşılabilir. Aspirin ve diğer nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ) bu eikozanoid sentez mekanizmalarını etkileyerek fonksiyon göstermektedirler (15).

Eikozanoidler kendi içlerinde iki gruba ayrılmaktadırlar. Bu gruplar: lökotrienler (LT) ve prostanoidlerdir. Prostanoidler de kendi içinde üç gruba ayrılmaktadırlar: prostaglandinler (PG), prostasiklinler (PGI) ve tromboksanlar (TX) (16). Değişik kaynaklarda bu sınıflandırma farklı terimlerle adlandırılabilir da bu sınıflama temel alınmaktadır. Aynı zamanda bu eikozanoidler içerdikleri çift bağların sayılarına göre alt sayı ifadeleriyle de gösterilebilmektedirler (Örneğin; PGI₂, TXA₂).

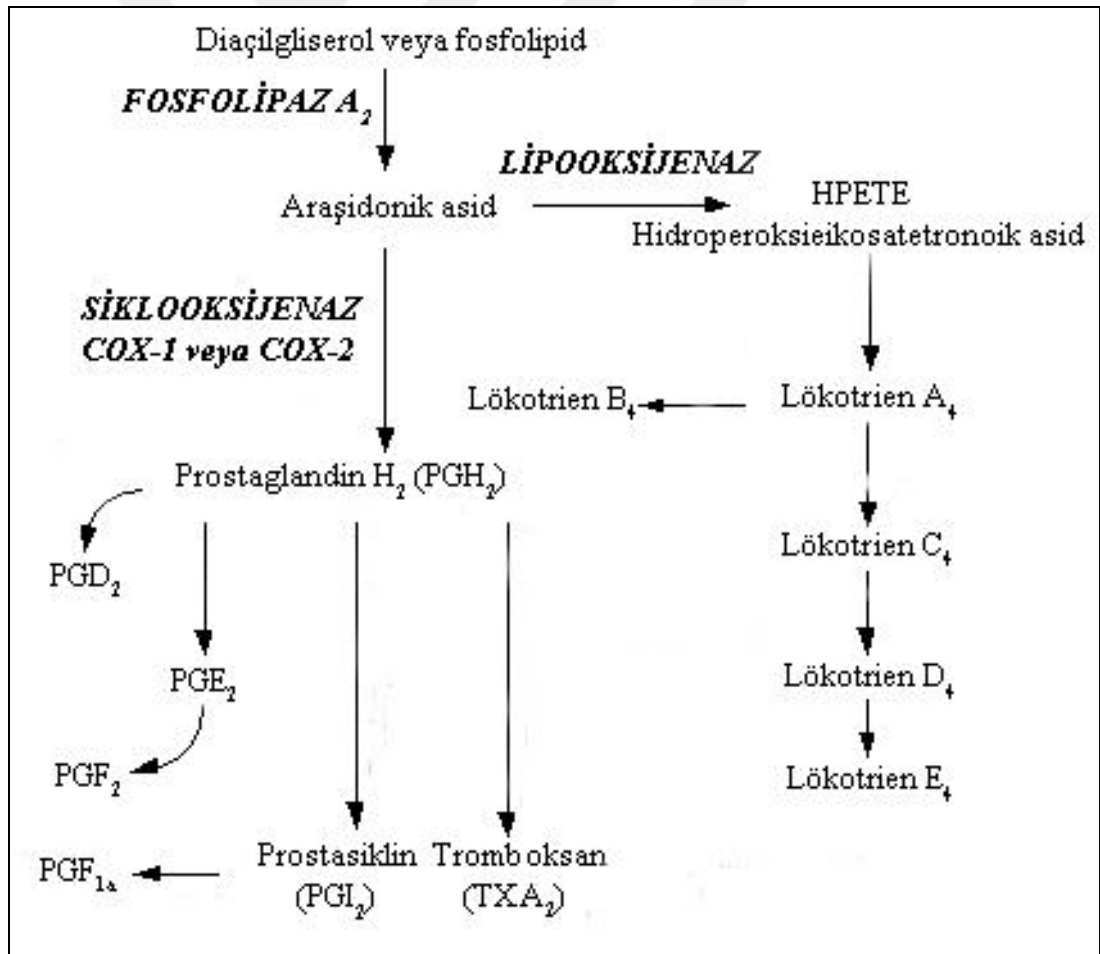
2.2.2 Eikozanoidlerin biyosentezi

Eikozanoidlerin üretilmesi için yağ asitlerini oksijenasyonunu katalizleyen iki enzim grubu vardır. Bunlardan siklooksijenaz prostanoidlerin sentezini katalizlerken, lipooksijenaz ise lökotrienleri sentezlemektedir (17).

Eikozanoidler hücrede depolanmazlar, gerekli oldukları zaman sentezlenmektedirler. Hücre zarını ve çekirdek zarını oluşturan yağ asitlerinden türemektedirler.

Eikozanoid biyosentezi, mekanik travma, sitokinler, büyüme faktörleri veya diğer uyarılar ile başlamaktadır. Bir diğer komşu hücrenin ürettiği eikozanoid ile de sentez başlayabilmektedir. Uyarının gelmesi hücre zarından fosfolipaz enziminin salınmasını tetiklemektedir. Fosfolipaz çekirdek zarına iletilip ve orada fosfolipaz A2 ile fosfolipidleri, fosfolipaz C ile de diaçilgliserolü hidrolizlemektedir. Bu hidroliz reaksiyonu 20 karbonlu esansiyel yağ asitlerinin serbestleşmesini sağlamakta ve hız belirleyici basamağı oluşturmaktadır (18).

Daha sonra bu serbest yağ asitleri yollar ile oksijenlenmektedir (Şekil 1).



Şekil 1. Eikozanoid yolu

Eikozanoid yolunda siklooksijenaz veya lipooksijenaz enzimi ile yağ asidine moleküler eklenme olmaktadır. Bu oksijenlenme çekirdeğe bitişik olmaktadır.

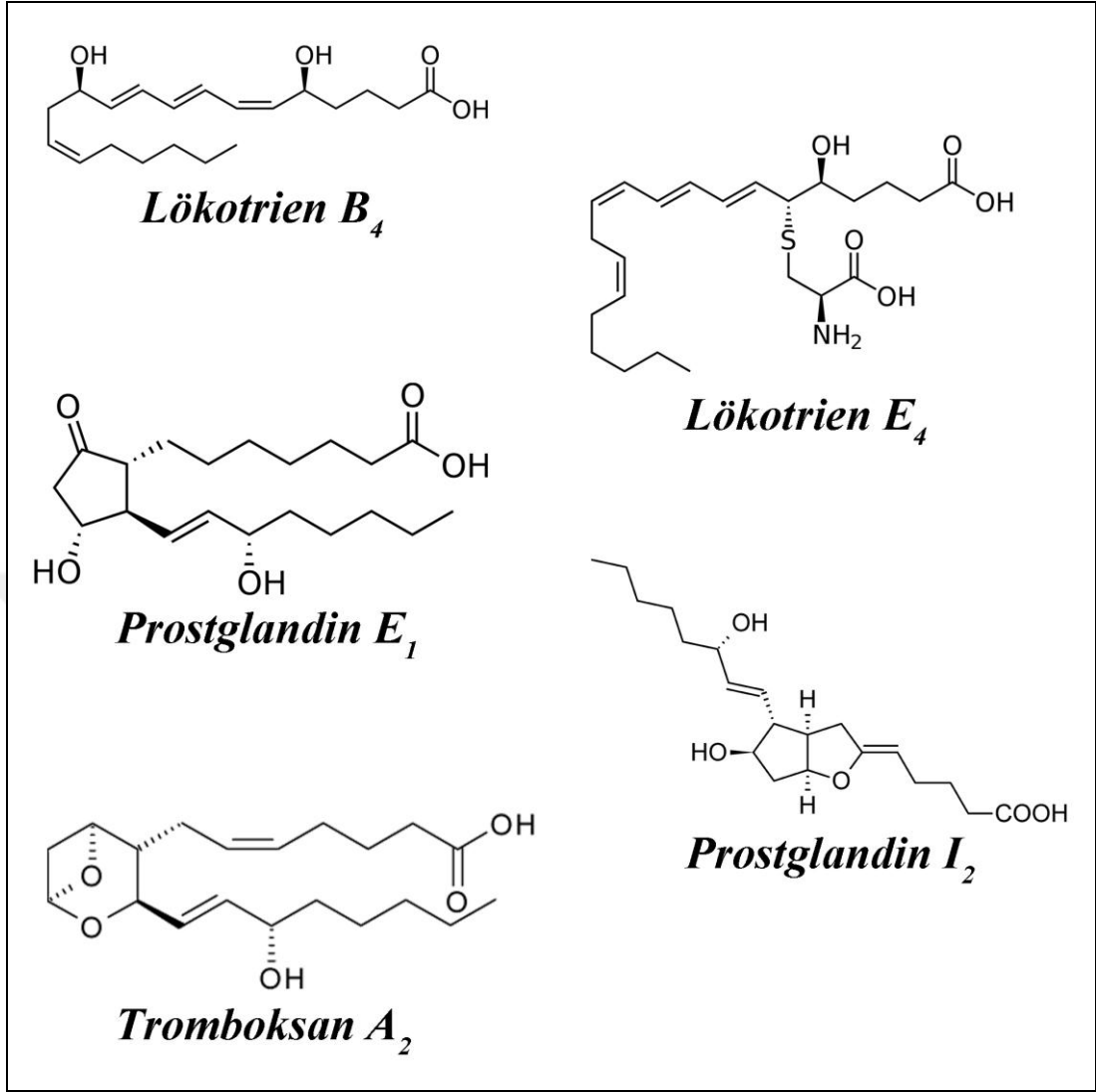
Oksijenlenme basamağı hücre için oldukça zarar verici bir etkiye sahiptir.

Bundan sonra yol üzerinde ikiye ayrılma olmaktadır. Oluşmuş olan araşidonik asit ya siklooksijenaz ile prostanoidleri ya da lipooksijenaz ile lökotrienleri oluşturmaktadır (19).

Siklooksijenaz serbest esansiyel yağ asitlerinin prostanoidlere dönüşümünü iki basamaklı bir işlem ile katalizlemektedir. Önce iki oksijen molekülü yağ asidi zincirine iki peroksit bağı olarak beşli karbon halkasına bağlamaktadır. Bu kısa ömürlü, dayanıksız bir prostaglandin ara ürünü oluşturmakta ve buna Prostaglandin G (PGG) denilmektedir. Ardından bir peroksit bağı tek bir oksijen ile ortaklaşmakta ve Prostaglandin H (PGH) oluşmaktadır (17).

Her üç grup prostaglandin de Prostaglandin H'den oluşmaktadır. Her birinin merkezinde kendine özel beş karbonlu halka mevcuttur ama yapısal olarak her biri birbirinden farklıdır. Birçok ilaç da bu prostanoid sentezini bloke ederek inflamasyonu baskılamaktadır.

Lipooksijenaz enzimi ise araşidonik asidi önce 5-hidroperoksieikosatetronoik aside (5-HPETE) ve ardından da spontan olarak 5-hidroksieikosatetronoik aside (5-HETE) dönüştürmektedir. Yine lipooksijenaz enzimi etkisi gösterilerek 5-HETE lökotriene dönüşmektedir (Şekil 1, 2).



Şekil 2. Eikozanoidlerin biyokimyasal yapıları

2.2.3 Eikozanoidlerin farmakolojisi

Eikozanoidler birçok vücut sistemi için kompleks kontrol görevleri üstlenmektedir. Temel olarak üstlendikleri görev inflamasyon veya bağışıklık üzerinedir. Aynı zamanda merkezi sinir sisteminde haberci görevi de görmektedirler. İnsanlarda, eikozanoidler birçok hücrenin salgıladığı bölgesel hormonlar olarak adlandırılmaktadır. Üretildikleri hücrede veya bu hücrenin çok yakın kesimindeki hücrelerde görev almaktadırlar. Bu yüzden de otokrin ve parakrin medyatörler olarak

adlandırılmaktadırlar. Bu eikozanoidler çok çabuk olarak aktifliğini yitirebilmektedir.

Eikozanoidler çok kısa yarılanma ömrüne sahiptirler. Bu yarılanma süresi saniyeler ile dakikalar arasında değişebilmektedir. Diyetle alınan, bazı antioksidan maddeler bu eikozanoidleri inhibe edebilmektedir. Çoğu eikozanoid reseptörleri G protein çiftli reseptör ailesinin alt gruplarından.

2.2.4. Eikozanoidlerin görevleri

Eikozanoidler esas olarak inflamatuvar süreçte görev almaktadır. İnflamasyonun kardinal işaretleri olan *color* (ısı artışı), *dolor* (ağrı), *tumor* (şişlik) ve *rubor* (kızarıklık) fonksiyonlarının her birinde eikozanoidlerin ayrı ayrı görevleri olmaktadır. Bunun dışında bağışıklık sisteminde de önemli görevler üstlenmektedirler. Bu görevleri lökotrienler ve prostanoidler olarak ayrı ayrı incelenmektedir.

Lökotrienler inflamasyonda önemli rol oynamaktadır. LTC₂'nin, luteinizan hormon (LH) salgılanmasında nöroendokrin fonksiyonları vardır. LTB₄ beyaz kürelere yapışma ve kemotaksi sağlamaktadır. Yine LTB₄ nötrofillerde agregasyonu, enzim salgılanmasını ve süperoksit oluşumunu stimüle etmektedir. Lökotrienlerin bloke edilmesi astım, sedef hastalığı, romatoid artrit gibi inflamatuvar hastalıkların tedavisinde önemli rol oynamaktadır (20). Bağışıklık sisteminde de önemli roller üstlenmektedir. Efektör hücre fonksiyonlarının kontrolünde, antijen sunulmasında, immün hücrelerin aktivasyonunda, matriks depozisyonunda ve fibroziste görevleri vardır. Ayrıca hızlı hipersensitivitede de rol almaktadırlar (21).

Prostanoidlerin genel görevi de inflamasyon üzerinedir. İnflamasyonun bölgesel semptomlarını yönetmektedirler. Vazokonstriksiyon, vazodilatasyon, koagülasyon, ağrı ve ateş prostanoidlerin etkisiyle gerçekleşmektedir.

Prostanoidlerin görevlerini daha ayrıntılı incelemek için kendi içinde iki gruba ayırmak gerekmektedir.

Bunlardan ilki tromboksandır. Asıl olarak bir vazokonstriktör moleküldür. Kuvvetli bir hipertansif ajandır. Aynı zamanda trombosit agregasyonunu

kolaylaştıma görevini üstlenmektedir. Dolaşım sisteminde prostasiklin ile birlikte bir bileşik oluşturarak hemostazın dengelenmesini sağlamaktadır.

Prostanoidlerin diğer grubunda da prostaglandinler bulunmaktadır. Değişik hücre gruplarında yaklaşık on kadar prostaglandin reseptörü mevcuttur. Bunlar G-protein bağlı reseptör aileleridir (22). Genel olarak fonksiyonları çok fazladır (Tablo 3).

Tablo 3. Prostaglandinlerin fonksiyonları

- | |
|---|
| <ul style="list-style-type: none">* Vasküler düz kas hücrelerinde konstrüksiyon veya dilatasyon sağlamak* Trombositlerin agregasyonunu veya disagregasyonunu sağlamak* Spinal nöronlarda ağrıya karşı sensitizasyon yapmak* İntroakler basıncı düşürmek* İnfiamatuvar süreci düzenlemek* Kalsiyum transportunu düzenlemek* Hormon regülasyonunu kontrol etmek* Hücre büyümesini kontrol etmek* Hipotalamusun termoregülatör merkezinde görev alarak vuct ısısının yükselmesine neden olmak* Böbrek glomerüllerinde fonksiyon göstererek, glomerüler filtrasyon oranını (GFR) arttırmak |
|---|

Ayrıca değişik prostaglandin tiplerinin de bağlandıkları reseptörlere göre değişen kendilerine özgü fonksiyonları vardır (Tablo 4).

Tablo 4. Prostaglandin tiplerinin reseptörlerine göre fonksiyonları

Tip	Reseptör	Fonksiyon
PGI ₂	IP	* vazodilatasyon * trombosit agregasyonun inhibisyonu * bronkodilatasyon
PGE ₂	EP ₁	* bronkokonstriksiyon * gastrointestinal düz kas kasılması
	EP ₂	* bronkodilatasyon * gastrointestinal düz kas relaksasyonu * vazodilatasyon
	EP ₃	* mide asidi salgısında azalma * mide mukus salgısında artma * gebelerde uterus kasılması * gastrointestinal düz kas kasılması * lipolizin inhibisyonu * otonomik nörotransmitterlerde artış * trombositlerin agonistlerine affinitesinde artış * in vivo aterotrombozda artış
	Belirsiz	* hiperaljezi * pirojenik etki
PGF _{2α}	FP	* uterus kasılması * bronkokonstrüksiyon

Bu fonksiyonlarından yola çıkarak klinikte de prostaglandinlerin sentetik türevleri birçok yerde kullanılmaktadır (Tablo 5).

Tablo 5. Prostaglandin türevlerinin klinik olarak kullanım alanları

* PGE ₂ , PGF ₂ : Doğum için veya kürtajda indüksiyonun sağlamak için kullanılır.
* PGE ₁ : Yenidoğanda patent duktus arteriosusun kapalı kalmasının sağlamak için kullanılır.
* PGE ₂ : Peptik ülser tedavisinde ve korumak için kullanılır.
* PGE ₂ : Ekstremitelerde Raynaud's fenomeni veya iskemi sebebiyle vazodilatasyon sağlamak için kullanılır.
* PGE ₁ : Pulmoner hipertansiyon tedavisinde kullanılır.
* PGF ₂ : Glokom tedavisinde kullanılır.
* PGE ₁ : Eretil disfonksiyon tedavisinde kullanılır.

Çeşitli antagonist ajanlarla inhibisyonları sağlanarak da klinik etkilerinden yararlanılmaktadır. NSAİİ'ler ile siklooksijenaz enzimin inhibisyonu, kortikosteroidlerle fosfolipaz A2 enzim üretiminin baskılanması bunların en temel örneklerindendir.

2.3. Siklooksijenaz Enzimleri

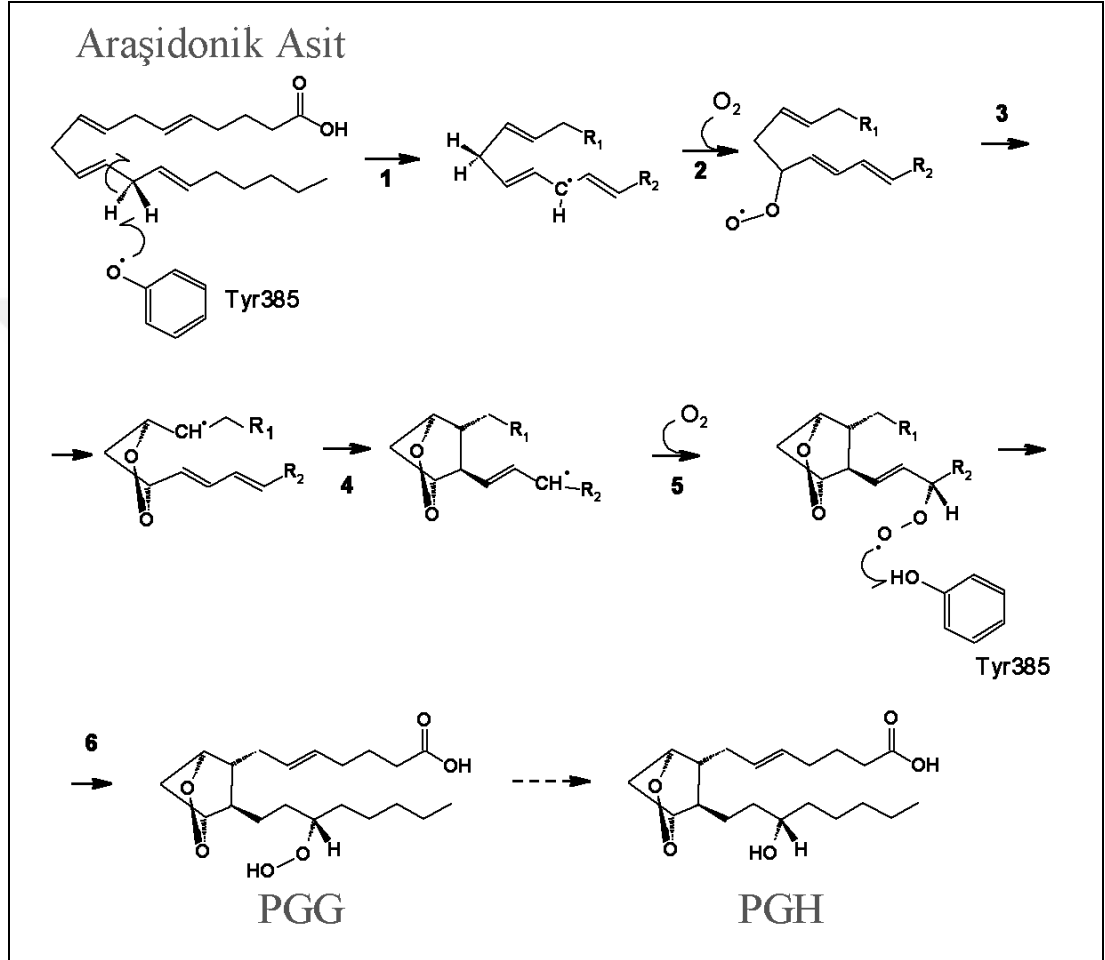
Eikozanoid metabolizmasında prostanoidlerin oluşumunun temel enzimatik basamağı araşidonik asidin prostaglandin H₂ (PGH₂)'ye dönüşümünü katalizleyen siklooksijenaz (COX) basamağıdır.

Siklooksijenaz (COX), prostanoidlerin oluşumundan sorumlu olan bir enzimdir. "Prostaglandin sentaz (PHA)" ve "prostaglandin endoperoksit sentetaz (PES)", COX'a verilen diğer isimlerdir.

2.3.1. Siklooksijenaz enzimlerinin fonksiyonları

Siklooksijenaz araşidonik asidi prostanoidlerin prekürsörü olan PGH₂'ye dönüştürmektedir. Enzimin iki aktif bölgesi vardır. Bunlardan biri, PGG₂'nin PGH₂'ye dönüşümünden sorumlu peroksidaz aktivitesi olan "hem" bölgesi, diğeri ise araşidonik asidin PGG₂'ye dönüştürüldüğü "siklooksijenaz" bölgesidir. Reaksiyon

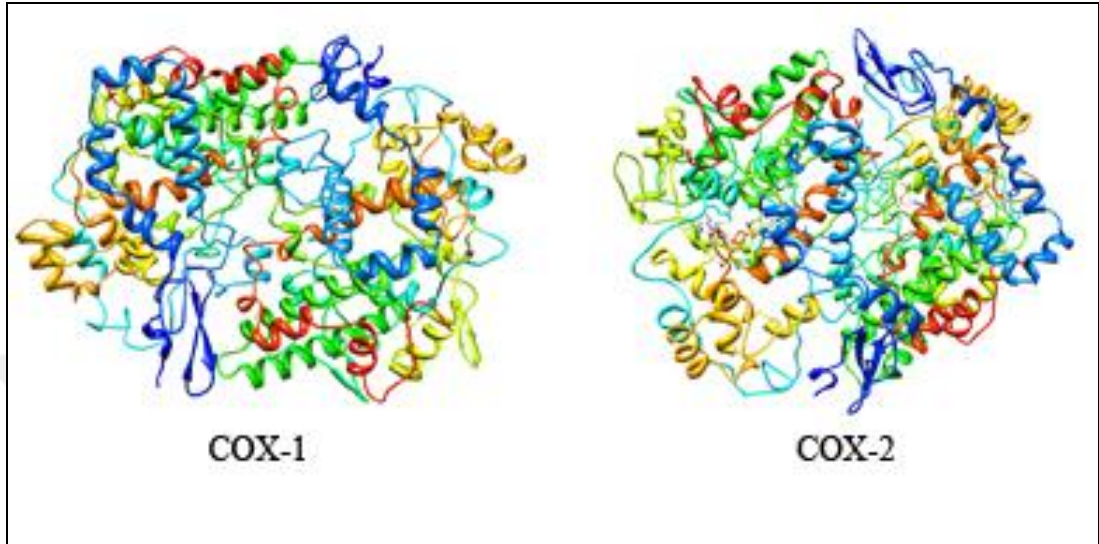
peroksidaz aktivite bölgesinde oluşturulmuş bir tirozin radikali tarafından araşidonik asitten, H atomu çıkarılması ile gerçekleşmektedir. Ardından iki O₂ molekülü araşidonik asit radikali ile reaksiyona girer ve son ürün olan PGG₂ oluşmaktadır (Şekil 3).



Şekil 3. Araşidonik asitten PGH oluşumunun basamakları.

Günümüzde üç tane COX izoenzimi bilinmektedir: COX-1, COX-2, COX-3. İzoenzimler aynı reaksiyonu katalizleyen fakat farklı aminoasit dizeleri ve farklı genetik yapıları ile fiziksel olarak farklılık gösteren enzimlerdir. Substratlarına afinite yönünden de bu izoenzimler farklılık gösterebilmektedir. COX-3, COX-1'in bir adet intron tutan ve *frameshift* mutasyonuna uğramış bir varyantıdır. Bu nedenle bazı kaynaklarda COX-3 yerine COX-1b veya COX-1v olarak da ifade edilmektedir (23).

Farklı dokular, çeşitli seviyelerde *COX-1* ve *COX-2* enzimlerini eksprese etmektedir. Her iki enzim de temel olarak benzer tarzda fonksiyon gösterebilir de farklılıkları mevcuttur (Şekil 4).



Şekil 4. *COX-1* ve *COX-2*'nin üç boyutlu sarmal yapıları.

COX-1 ve *COX-2*'nin kodlandıkları kromozomları farklıdır. *COX-1*, 9. kromozomda kodlanırken *COX-2* ise 1. kromozomda kodlanmaktadır (*COX-1*: Chr. 9 q32-q33.3 / *COX-2*: Chr.1 q25.2-25.3). *COX-1* memelilerin hemen her dokusunda hali hazırda bulunan yapısal bir enzim olarak kabul edilmektedir. Diğer taraftan *COX-2* birçok normal dokuda bulunmamaktadır. *COX-2* indüklenebilir bir enzimdir. Aktive makrofajlarda çoğalabilmektedir. İnflamasyon durumunda ise diğer tüm hücrelerde oluşabilmektedir. Aynı zamanda günümüzde birçok kanserde çoğaldığı ve tümörigenezde merkezi rol oynadığı gösterilmiştir. Sitokinler, büyüme faktörleri, mitojenler, inflamatuvar hücrelerdeki endotoksinler ve tümör promotorleri *COX-2* enzimini indüklemektedir (24, 25, 26).

Hem *COX-1* hem de *COX-2* aynı zamanda eikozapentonik asidi (EPA) ve dihomo-gamma-linolenik asidi (DGLA) de oksijenleyebilmektedir. DGLA ve EPA siklooksijenaz yolu için araşidonik asit ile birlikte yarışmalı inhibisyona giren maddelerdir. İçinde DGLA ve EPA içeren besinlerin oral alınımı ile inflamasyonun azalacağı düşünülmektedir.

2.3.2. Siklooksijenaz enzimlerinin farmakolojisi

Moleküler açıdan bakıldığında COX-1 ile COX-2 enzimlerinin aynı moleküler ağırlıkta oldukları görülmektedir. Yaklaşık olarak bu değerleri 70 ve 72 kDa'dır. İki izoenzim arasındaki en önemli fark ise COX-1'de 523 pozisyonunda bulunan izolösin aminoasidinin COX-2 enziminde yerini valin aminoasidine bırakmış olmasıdır. Selektif olarak etkili farmakolojik ajanlar da COX-2 inhibisyonunda bu Val₅₂₃ kısmına bağlanarak alternatif bir bağ oluşturmaktadır. Seçici COX-2 inhibitörlerinin etki mekanizması kısaca bu şekilde açıklanmaktadır.

COX enziminin farmakolojisinin içinde en önemli nokta inhibisyon mekanizmalarıdır. Esas COX inhibitörleri nonsteroidal antiinflamatuar ilaçlar (NSAİİ) olarak bilinen gruptur (Tablo 6).

Tablo 6. Kimyasal yapısına göre COX inhibitörleri

Kimyasal Yapı	Nonsteroidal Antiinflamatuar İlaçlar (NSAİİ)
Salisilat türevleri	Asetilsalisilik asit (Aspirin)
Propiyonik asit türevleri	Ibuprofen, Naproxen, Fenoprofen, Ketoprofen, Flurbiprofen, Oxaprozin
Asetik asit türevleri	Indomethacin, Sulindac, Etodolac, Diclofenac, Ketodolac, Nabumetone
Enolic asit (Oxicam) türevleri	Piroxicam, Meloxicam, Tenoxicam, Droxicam, Lornoxicam, Isoxicam
Fenamik asit türevleri	Mefenamic acid, Meclofenamic acid, Flufenamic acid, Tolfenamic acid
Seçici COX-2 inhibitörleri (Coxibs)	Celecoxib, Rofecoxib, Valdecoxib, Parecoxib, Lumiracoxib, Etoricoxib, Firocoxib

Klasik NSAİİ'ler hem *COX-1*, hem de *COX-2*'yi geri dönüşümlü olarak bloke ederken, *Aspirin* *COX-1* ve *COX-2*'yi geri dönüşümsüz olarak bloke eder.

Klasik olarak *COX* inhibitörleri seçici değildir ve her iki tip *COX* enzimini de inhibe edebilmektedir. İnhibisyonun sonucunda prostaglandin ve tromboksan sentezi durdurulmuş olur ve bu şekilde inflamasyon azaltılır, antipiretik, antianaljezik ve antitrombotik etkiler sağlanmaktadır. Bu inhibisyonun en önemli yan etkisi de mide mukozasında oluşan irritasyondur. Bunun nedeni de gastrointestinal sistem mukozası için koruyucu bir etkiye sahip olan prostaglandin sentezinin inhibe edilmiş olmasıdır.

Bazı yeni ilaçlar için *COX-2*'ye karşı seçici etki temel özellikleridir. Özellikle *celecoxib*, *rofecoxib* ve bu grubun diğer elemanları *COX-2* enziminde seçici inhibisyon yapmaktadırlar.

2.4. Siklooksijenaz-2 Enzimi

Siklooksijenaz-2 enzimi ilk defa 1991'de tanımlanmıştır (27). Asıl kullanılmasındaki amaç diğer NSAİİ'lerin neden olduğu gastrik şikayetlerin engellenmesidir. *COX-2* enziminin inhibe edilmesiyle mide için koruyucu görevi olan prostaglandinleri etkilemeden antiinflamatuvar etki sağlanabileceği düşünülmüştür.

COX-2 bir diğer adıyla "Prostaglandin-endoperoxit sentetaz-2" insanlarda PTGS2 geni tarafından kodlanan, enzim fonksiyonu olan bir proteindir (28).

COX-2 söylendiği gibi siklooksijaz enzim ailesinin iki üyesinden birisidir. Bunlar, prostanoidlerin biyosentesindeki anahtar enzimlerdir ve hem dioksijenasyon hem de preoksidasyon yaparlar. *COX-1* ile *COX-2* izoenzimlerdir. Ekspresyonlarının düzenlenmesi ve dokulardaki dağılımları açısından farklılık göstermektedirler. *COX-2*, %86 - %89 oranında fare, sıçan, koyun, domuz, at ve tavşan *COX-2* proteinleriyle benzerlik göstermektedir. İnsan *COX-2* enzimi kısıtlı sayıda hücre tipinde ekspresyon gösterir ve spesifik uyarıcı olaylar ile ancak eksprese olabilmektedir. İnflamasyon ve mitogenez için gerekli prostanoidlerin sentezi için eksprese olmaktadır (29).

1991 senesinde *COX-2* enziminin bulunmasının ardından, bazı yeni ilaçların *COX-2*'ye seçici etkisi temel özellik haline gelmiştir. Özellikle *celecoxib*, *rofecoxib* ve bu grubun diğer elemanları *COX-2* enzimine seçici inhibisyon yapmaktadırlar.

COX-2 enziminin esas olarak inflame dokuya özgün olması mide mukozasında daha az etkiye neden olmaktadır. Bu da peptik ülser riskinde azalma anlamına gelmektedir. COX-2 enziminin seçici etkisi NSAİİ'lerin diğer yan etkilerini ortadan kaldıramamaktadır. COX-2 inhibitörlerinin kullanımının miyokard enfarktüsü, tromboz ve SVO riskinde artmaya neden olduğu kanıtlanmıştır (30). Bunun nedeni COX-2 inhibitörleriyle azalmış prostasiklin üretimine karşın trombositlerdeki COX-1 enzimi ile oluşan dengesiz tromboksan üretiminde artma olarak açıklanmaktadır. Bu nedenden dolayı, seçici bir COX-2 inhibitörü olan *refecoxib* 2004 senesinde kullanımdan kaldırılmıştır. *Celecoxib* ve *etoricoxib* içeren diğer seçici COX-2 inhibitörlerinin kullanımı günümüzde hala devam etmektedir.

Birçok kanser tipinde de COX-2 ekspresyonu artmaktadır. COX-2 enziminin reaksiyonu sonucu oluşan PGH₂ prostaglandin E2 sentaz ile PGE₂'ye dönüşmektedir. Bu da kanserleşmeyi stimüle etmektedir. Sonuç olarak COX-2'nin inhibe edilmesi bazı kanser tiplerinde korunma ve tedavi açısından fayda sağlayabilmektedir (29, 31).

2.5. Siklooksijenaz-2 Enziminin Kanser ile İlişkisi

İnflamatuvar ve mitojenik uyarılarla indüklenen siklooksijenaz-2 enziminin, birçok tümör sisteminin prelinik modelinde protümörojenik rol oynadığı gösterilmiştir (32, 33, 34). Bunun ötesinde birçok insan kanser tipinde ve onların prekanseröz lezyonlarında COX-2 ekspresyonunda artış olmaktadır (35).

Yapılan çalışmalar COX-2 ekspresyonundaki artış ile özellikle kolon kanseri, akciğer kanseri, prostat kanseri, özefagus kanseri ve meme kanseri ilişkisini ortaya koymaktadır. Normal epitel hücrelere oranla, tümör epitel hücrelerinde COX-2 ekspresyonundaki artış oldukça fazladır (35).

Günümüzde bilinen en kuvvetli ilişki COX-2 ekspresyonundaki artış ile kolon kanseri arasındadır. Özellikle kolon poliplerinde COX-2 ekspresyonunun artmış olduğu ve düzenli Asatil Salisilik Asit (*Aspirin*) kullanan kolon polibi hastalarında, mevcut kolon poliplerinde kansere dönüşümünün azaldığı ortaya konulmuştur (36,

37). Çalışmalar rutin *Aspirin* veya NSAİİ kullanımının, kolorektal kanserin birincil korunmasında yeri olduğunu ortaya koymaktadırlar (38).

Bir diğer çalışmada rekürren kolon kanseri hastalarının kolon ve rektum spesmenlerinde *COX-2* ekspresyonu bakılmıştır. Bu rekürren kolon ve rektal kanserlerde, kuvvetli sitoplazmik ve perinükleer *COX-2* boyanması gözlenmiştir. Bu gözlem, kolorektal kanserin ilerlemesinde *COX-2* ekspresyonunun ek bilgiler verebileceğini göstermiştir (39).

NSAİİ'lerin kullanılmasının, diğer sindirim sistemi kanserlerinde de riski azaltacağı düşünülmektedir (40). Özefagus kanserinde, *COX-2* izoformlarının ekspresyonunda yükselme tespit edilmiştir. Fakat bunun klinik olarak önemi henüz açıklanamamıştır. Yapılmış olan çalışmada özefagus adenokarsinomu nedeniyle opere olmuş hastaların dokularında immünhistokimyasal olarak bakılan *COX-2* boyamasında %21 zayıf, %79 kuvvetli *COX-2* boyaması izlenmiştir. Yine bu hastalardaki sağ kalım incelemelerinde, *COX-2* boyaması kuvvetli olan grupta daha fazla uzak metastaz ve lokal nüks olduğu, ayrıca sağkalımın azaldığı gözlenmiştir (40). Bu çalışma, *COX-2* inhibitörlerinin, özefagus kanserinin adjuvan kemoterapisinde kullanılabilecek ek bir ajan olduğuna dair yeni çalışmalara destek olmaktadır.

Çalışmalar diğer kanser tiplerinde de *COX-2* ekspresyonundaki artışı ortaya koymaktadır. Bunlardan bir diğeri de endometriyum kanseridir. Bu kanser tipinde de *COX-2* ekspresyonu izlenmiştir (41).

Yine birçok kanser tipinin, preinvaziv lezyonlarında da *COX-2* ekspresyonunda artış izlenmektedir. Bunlara en sık örnekler; Barrett özefagus, kolorektal adenomlar ve servikal intraepitel neoplaziler verilebilmektedir (19, 34, 35).

En son yayınlar, *COX-2*'nin hücre apoptozunu antagonize ettiğini, malign hücrelerin invazivlik yetilerini arttırdığını ve anjiogenezi uyardığını ortaya koymaktadır (41).

Tüm bu çalışmalardaki son nokta, farklı kanser tiplerinde *COX-2* ekspresyonundaki artıştan faydalanarak, ek bir kemoterapötik tedavi alternatifi yaratmaktır.

Bu kanser tiplerinde olduğu gibi meme kanseri de *COX-2* ekspresyonundaki artışın izlendiği, bunun hem prognostik, hem de prediktif bir değer olarak kullanılmaya çalışıldığı bir kanser tipidir.

2.6. Siklooksijenaz-2 Enzimi ve Meme Kanseri İlişkisi

Siklooksijenaz-2 enziminin kanser ile olan bu sıkı ilişkisi meme tümörlerinde de oldukça büyük bir rol oynamaktadır. Bu konuyu açıklamak için günümüzde birçok klinik ve deneysel çalışma yapılmaktadır.

2.6.1. Siklooksijenaz-2 ekspresyonunun meme kanserinde patofizyolojik etkisi

Meme kanseri ile *COX-2* arasındaki ilişkiyi ortaya koyan çalışmalar her geçen gün artmaktadır. Bunlardan birinde Ristimaki ve arkadaşları 1576 invaziv meme kanseri spesmeninde *COX-2* ekspresyonu durumuna bakmıştır. %37 spesmeninde *COX-2* ekspresyonunun orta ve yüksek eksprese olduğunu gösterilmiştir (42).

Meme kanserinin yanı sıra DKİS olgularına ait spesmenlerde *COX-2* ekspresyonundaki artış oranının belirginleştiği gösterilmiştir (43, 44).

Bir çalışmada da atipik hiperplazi tanısı konmuş hastaların 15 senelik takipleri tutulmuştur. Bunun sonucunda, bu hastaların ileride meme kanserine dönmelerinin, *COX-2* ekspresyonu ile olan ilişkisine bakılmıştır. Görülmüştür ki, bu takip edilen hastaların %44'ünde *COX-2* orta ve kuvvetli olarak eksprese olmaktadır ve bu grubun ileride meme kanserine dönme riski istatistiksel olarak anlamlı olarak artmıştır (45).

Bir çok grubun yaptığı çalışmalarda da *COX-2* ile in situ ve invaziv meme kanseri fenotipleri arasında ilişki ortaya konulmuştur (42, 43, 44, 46, 47, 48, 49, 50).

Meme karsinogenezinde, *COX-2*'nin kuvvetli bir biomarker olduğu düşünülmektedir. Mitojenik ve inflamatuvar uyaranlarla artan *COX-2* ekspresyonu birçok protümörojenik etkisi bulunmaktadır. Bu etkiler; artmış proliferasyon,

anjiojenezde artış, apoptotik hücre ölüm mekanizmasına direnç geliştirme, immün baskılanma, invazyon ve metastaza yatkınlığın artmasıdır (19, 32, 33, 34, 35, 46, 47).

Siklooksijenaz-2 enzim aktivitesi, hem invaziv meme kanserinde, hem de DKİS patolojilerinde artmaktadır. Bu enzim aktivitesindeki artış da, tümörün histolojik ve klinik olarak agresivliği ile ilişkilidir (42, 43, 44, 46, 47, 48, 49, 50).

Yapılan çalışmalardan çıkarılan bir diğer sonuç ise, yaşla birlikte *COX-2* ekspresyonunda artışın gözlenmesidir (45). Yaşla birlikte *COX-2* ekspresyonunda gözlenen artış, yine yaşla birlikte artan aromataz ekspresyonuna bağlanmıştır. *CYP19* geni tarafından kodlanan aromataz enzimi, androjenik prokürsörlerden estradiol sentezini katalizlemektedir (35). Aromataz enzimi meme dokusunda bulunan bir enzimdir. Meme kanserinde ise aromataz enzim seviyeleri artmaktadır (51,52). *COX-2* enzimi tarafından üretilen PGE_2 , *CYP19* geninin transkripsiyonunu uyardığı gösterilmiştir (53, 54). Bu nedenden dolayı da *COX-2* ekspresyonundaki artış, aromataz enzimini uyarmakta ve bu da özellikle adipoz dokular gibi periferel dokularda östrojen hormonunun üretimini artırarak meme kanseri için protümörojenik bir etkiye neden olmaktadır (35). Anlatılan bu mekanizma, postmenapozal kadınlardaki meme kanseri mekanizmasının oluşması için *COX-2* ekspresyonu ile bağlantısını anlatan hipotezlerden bir tanesidir (55).

Bir diğer yol gösterici çalışmada ise *COX-2* ekspresyonundaki artışın atipik lobüler hiperplazide, atipik duktal hiperplaziye oranla daha yaygın olduğunu gösterilmiştir (56). Aynı şekilde lobüler meme kanserinde de *COX-2* ekspresyonunun yüksek oranlarda arttığı gösterilmiştir. Bunun patofizyolojisi açıklanırken, etki yine *COX-2* enziminin sentezini indüklediği PGE_2 üzerine kurulmaktadır. Lobüler neoplazi, E-kaderin gibi adezyon moleküllerinin kaybı ile karakterize olmaktadır (57, 58). *COX-2* enziminin katalizyerek ürettiği PGE_2 , bir transkripsiyonel baskılayıcı olan *Snail* üretimini artırmakta, *Snail* de CDH1 üzerindeki E-kaderin genini baskılamaktadır. Genin baskılanmasıyla E-kaderin oluşumu yavaşlamakta ve bu da lobüler meme kanseri oluşumunu tetiklemektedir.

Birçok deneysel çalışmayla da, *COX-2* ekspresyonunun, meme kanseri gelişmesindeki etkileri incelenmektedir. Transgenik sıçan modellerinde yapılan çalışmalarda, meme bezlerinde prostaglandin miktarlarında artış olduğu ve bunun sebebinin de *COX-2* ekspresyonundaki artış olduğu ortaya konulmuştur (32).

Meme tümörleri araştırıldığında, COX-2'nin meme kanseri hücrelerinin içinde yoğunlukla bulunduğu, stroma da yer almadığı gösterilmiştir (59).

2.6.2. Siklooksijenaz-2 ekspresyonunun meme kanseri sağkalımı ile ilişkisi

Yayınlar tarandığı zaman, COX-2 ekspresyonunun meme kanseri sağkalımı üzerindeki etkilerine dair çalışmalara sıklıkla rastlanabilir. Genel bilgi olarak COX-2 ekspresyonundaki artışın, meme kanseri sağkalımını kötüye etkilediği yönündedir (49, 50).

COX-2 ekspresyonundaki artış, karsinogenez ile olan ilişkisinin yanında hoşagitmeyen prognostik karakterleri de beraberinde getirmektedir. Meme kanserinde yüksek grad histolojisi, yüksek proliferasyon indeksi, düşük apoptotik indeks, negatif hormon reseptör ekspresyonu ve HER2/neu pozitifliği, prognostik olarak istenilmeyen kötü belirteçlerdir (42, 60, 61). Bu belirteçlerle beraber değerlendirilen COX-2ekspresyonunun, meme kanserinin yinelemesini arttırdığı, metastaz olasılığını yükselttiği, hastalığın seyrini olumsuz yönde çevirerek ölüm oranlarını arttırdığı ve sonucunda meme kanseri sağkalımını olumsuz olarak etkilediği düşünülmektedir (49, 50, 60, 61).

Bunun aksini gösteren çalışmalar da mevcuttur. Erkek meme kanserli hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada COX-2 ile *survivin* denen maddenin etkisi meme kanserleri hastaların prognozu ile incelenmiştir. Sonuçlarına bakıldığında zaman COX-2 ekspresyonundaki artış %36 iken, *survivin* artışının %69 olduğu; kuvvetli intratümöral aromataz artışını etkileyen bu iki ajanın, meme kanseri sağkalımı üzerine prediktif bir etkisinin olmadığı gösterilmiştir (62).

2.6.3. Siklooksijenaz-2 enzim blokajının tedavideki yeri

Hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda COX inhibitör ajanlarının, deneysel meme kanserini baskıladığı izlenmiştir (34, 35). Kanıtlar, seçici COX-2 inhibitörlerinin meme kanserine karşı koruyucu olduğunu göstermektedir. Preklinik çalışmada, seçici COX-2 inhibitörü *celecoxib*'in sıçanlarda tümör insidansında

azalmaya ve 7, 12-dimetilbenzantrasen nedenli meme kanserinde azalmaya neden olduğunu göstermiştir (63, 64).

Bir ortotopik sıçan modelinde, COX-2 inhibitörü SC236'nın, meme tümörü büyümesini durdurduğu gösterilmiştir (65).

Bununla birlikte birçok epidemiyolojik çalışma, insanlarda NSAİİ kullanımının azalmış meme kanseri ile ilişkisini göstermiştir (66, 67, 68, 69). Bir olgu kontrol çalışmasında *Aspirin*, *ibuprofen*, *naproksen* gibi selektif ve non-selektif COX-2 inhibitörü kullananlarda, meme kanseri oluşma riskinde azalma gözlenirken; *asetaminofen* kullananlarda bu azalma izlenmemiştir (67).

Bir metaanalizde ise NSAİİ'lerin düzenli kullanımı ile meme kanseri riskinde azalma olduğu ortaya konulmuştur (66).

Diğer bir çalışmaya göre de COX-2 ekspresyonu, özellikle hormon reseptör pozitif olan hastalarda meme kanseri tedavisinde kullanılabilir. Bu, COX-2'nin aromataz üzerine etki mekanizması göze önüne alınarak sağlanmaktadır (62).

Bu bilgiler, COX-2 inhibitörlerinin meme kanseri tedavisinde bir kemoprevansiyonal ajan olarak kullanılabilirliğini göstermektedir. Ayrıca yine hormon reseptör pozitif meme kanserinde, COX-2 hormon tedavisine birleştirilebilecek bir strateji olabilmektedir.

Östrojen reseptörü pozitif olan meme kanseri olgularında, başarılı tedavi alternatifleri mevcutken, ÖR negatif olan patolojilerde tedavi alternatifleri hala yetersizdir. Özellikle ÖR negatif olup da, HER2/neu pozitif olan durumlarda yeni tedavi protokollerine ihtiyaç vardır. Bu tümör fenotipi yaklaşık olarak %25 - %30 meme kanseri olgusunda izlenmektedir (70). Bu fenotip özellikle artmış progresyon, metastaz ve azalmış sağkalım ile karakterizedir (70). Yine bu fenotipe ait tümör dokularında COX-2 ekspresyonunda artış olduğu gösterilmiştir (42, 71). Özellikle de HER2/neu pozitif meme tümörlerinde COX-2 enzim proteini oldukça fazla miktarda bulunmaktadır (60). Bu fenotipe ait meme kanseri olgularında COX-2 inhibitörlerinin tedaviye eklenebileceğini göstermektedir.

Siklooksijen-2 enziminin, normal meme dokusuna oranla , DKİS meme dokularında daha çok eksprese olmaktadır. Bu da COX-2'nin meme kanseri oluşumunda bir erken basamak olduğunu ve meme kanserinden korunma açısından bir hedef olabileceğini ortaya koymaktadır (59).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışmanın Tipi ve Evreni

Araştırma retrospektif kohort bir çalışma olarak planlandı. Çalışma evreni Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda Kasım 2000 ile Aralık 2008 tarihleri arasında meme kanseri nedeni ile ameliyat edilmiş hastalar olarak belirlendi.

3.2. Çalışmanın Amacı ve Hipotezi

Çalışmanın amacı meme kanseri sağkalımı ile COX-2 ekspresyonundaki artış arasındaki ilişkiyi ortaya koymaktır.

Çalışmanın hipotezi "COX-2 ekspresyonundaki artışın meme kanseri genel sağkalımı, hastalıksız sağkalımı ve meme kanserine özgün sağkalımı ile ters orantılı olduğu" şeklindedir. Meme kanseri dokularında COX-2 ekspresyonu arttıkça sağkalımın azalacağı öngörülmüştür.

3.3. Çalışmanın Etik İzni

Çalışmanın etik izni İstanbul 9 No'lu Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 24.12.2009 tarihinde onaylanmış ve B.30.2.MAR.0.01.02/AEK/659 sayı numarası verilmiştir.

3.4. Çalışmaya Alınma ve Çıkarılma Kriterleri

Çalışmaya Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda meme kanseri nedeniyle ameliyat olmuş hastalar

alındı. Bunların içinden çalışmaya alınma (Tablo 7) ve çalışmadan çıkarılma kriterlerine (Tablo 8) göre hastalar seçildi.

Tablo 7. Çalışmaya alınma kriterleri.

- * Meme kanseri nedeniyle ameliyat olması.
- * Yeterli bölgesel cerrahi tedavi almış olması.
- * Ameliyat sonrasındaki süreçte yıllık kontrollerine düzenli ve son bir yılda en az bir kez gelmiş olması.
- * Tanı anında “klinik olarak Evre 1 veya Evre 2” olması.
- * Tanı anında veya neoadjuvan tedavi sonrası en fazla “ameliyat edilebilir klinik Evre 3” olması.

Tablo 8. Çalışmadan çıkarılma kriterleri.

- * Hiç cerrahi tedavi almamış olması veya yeterli bölgesel cerrahi tedavi almamış olması.
- * Klinik ve/veya patolojik Evre IV olması.
- * İnflamatuvar meme kanseri olunması.
- * Kesin patolojik tanının DKİS olması.
- * Patoloji bloklarının elde edilmemiş olması.
- * Kemoterapisinin yetersiz veya hiç yapılmamış olması.
- * ÖR ve/veya PR pozitif olup hormon terapisi almamış olması.
- * Son bir yılda takibe gelmemiş olması.
- * Patolojik tanısının yetersiz olması.

Çalışmaya alınma kriterlerine uyan hastaların her birinin demografik, klinik, patolojik, tedavi ve takipleri ile ilgili verileri kayıt altına alındı. Buna göre demografik bilgiler için isim, soyisim, cinsiyet, vücut kitle indeksi; klinik bilgiler için tanı anındaki yaşı, ameliyat tarihi, ameliyat nedeni, ameliyatın tipi, ameliyat sonrası 7 gün içinde komplikasyon varlığı ve tipi, ailede meme kanseri öyküsü, menapoz durumu, neoadjuvan KT alıp almadığı, postop KT, RT ve HT alıp almadığı, ameliyat öncesinde ve sonrasında COX-2 inhibitörü veya klasik NSAİİ kullanımı;

patolojik bilgiler için tümörün histolojisi, tümörün çapı, tümörün gradı (Modifiye Scarff-Bloom-Richardson sistemine göre), tümörün patolojik evresi, reseptör ekspresyonu (ÖR ve PR), HER2/neu ekspresyonu, Ki67 ekspresyonu, COX-2 ekspresyonu; sağkalım analizi için yaşam durumu, ölümüş ise sebebi, GS, HS, MKÖS, uzak veya bölgesel yineleme varlığı ve varsa yinelemeye kadar kaç ay geçtiği ayrıntılı olarak kayıt altına alındı.

Hastaların kontrolleri yılda 1 kez mastektomi yapıldı ise geride kalan memeye, MKC yapıldı ise bilateral mamografi ve fizik muayene ile yapıldı. Gerektiğinde meme ultrasonografisi, kemik sintigrafisi, karaciğer ultrasonografisi veya üst karın BT ve toraks BT yapıldı.

Yetersiz bölgesel cerrahi yapılmış olan hastalar çalışmadan çıkarıldı. Yetersiz bölgesel cerrahi kriterleri ise a. Aksillasında 3 metastatik lenf nodu tespit edilmiş olup bölgesel lenfatiklere ve aksillaya RT almamış olunması, b. MKC yapılmış olup memeye RT alınmamış olunması, c. SLNB yapılmış olup SLN pozitif çıkan hastalarda aksillar diseksiyon yapılmamış veya aksillaya RT verilmemiş olunması ve d. MKC yapılmış olan hastalarda cerrahi sınır pozitif olup ek cerrahi yapılmamış olunması olarak tanımlandı.

3.5. Çalışmanın Çıkarımları

Ana (birincil) çıkarımlar:

1. COX-2 ekspresyonu artışının GS üzerine etkisi,
2. COX-2 ekspresyonu artışının HS üzerine etkisi,
3. COX-2 ekspresyonu artışının MKÖS üzerine etkisi.

İkincil çıkarımlar:

1. COX-2 ekspresyonu ile ÖR, PR, HER2/neu, Ki67, tümör çapı, tümör gradı, aksilla durumu, patolojik evre, moleküler alt gruplar ve yaş arasındaki ilişki,
2. GS, HS, MKÖS'ı etkileyen bağımsız faktörler,
3. Moleküler alt gruplarda COX-2 ekspresyonunun ayrı ayrı olarak GS, HS, MKÖS üzerindeki etkisi.

3.6. Çalışmada Kullanılan Ölçütler

Çalışmanın çıkarımları için kullanılan esas ölçütler genel sağ kalım (GS), hastalıksız sağ kalım (HS) ve meme kanserine özgün sağ kalım (MKÖS) idi.

Genel Sağkalım: Hastanın meme kanseri tanısını aldığı tarihten itibaren, yaşıyorsa, en son kontrol edildiği veya, öldü ise, öldüğü tarih arasında geçen süre “ay” cinsinden kayıt altına alındı ve analiz edildi. Ölen hastaların ölüm nedeni “meme kanserine bağlı” veya “meme kanseri dışı diğer nedenler” olarak kayıt altına alındı.

Hastalıksız Sağkalım: Hastanın meme kanseri tanısı aldığı tarihten itibaren, hastalığın (nerede olursa olsun; uzak veya bölgesel) yinelediği tarihe kadar geçen süre “ay” cinsinden kayıt altına alındı ve analiz edildi. Meme kanserinin yinelediği durum “genel yineleme” olarak belirlendi. Genel yineleme kendi içinde “bölgesel yineleme” ve “uzak yineleme” olarak ikiye ayrıldı. Hangi tip yineleme olursa olsun saptandığı zaman hastalıksız sağkalım için belirleyici oldu.

Bölgesel Yineleme: Meme kanseri nedeniyle ameliyat olunmuş olan taraftaki memede, aksiller, internal mamaryan ile infraklaviküler lenfatik bölgelerde, mastektomi olanlarda göğüs duvarında, karşı memede veya bunların birden fazlasında kanserin tekrar ortaya çıkması olarak tanımlandı.

Uzak Yineleme: İskelet sistemi, toraks içi oluşumlar (mediyastinal lenfatikler, akciğer), karaciğer, beyin, supraklaviküler lenfatik bölgeler, diğer uzak organ, yumuşak dokularda veya bunların birden fazlasında kanserin ortaya çıkması olarak tanımlandı.

Hem bölgesel hem de uzak yineleme olan hastalarda, hangisi önce gelişti ise o yineleme tipi esas alındı. Eğer her ikisi de aynı anda gelişti ise yineleme tipi uzak yineleme olarak kabul edildi.

Meme Kanserine Özgün Sağkalım: Hasta öldü ve ölüm nedeni meme kanserine bağlandı ise kanser tanısı alması ile öldüğü tarih arasında geçen süre “ay” cinsinden kayıt altına alındı. Bu grup meme kanseri dışı diğer nedenlere bağlı ölenlerden ve çalışmanın sonunda halen yaşayan hastalardan ayrı olarak analiz edildi.

Hastaların GS, HS ve MKÖS süreleri hasta dosyalarından ve prospektif olarak tutulan klinik veri tabanından kayıt altına alındı.

3.7. Histopatolojik Değerlendirme

Çalışmaya alınan hastaların tümör dokusu içeren parafin blokları patoloji arşivinden elde edildi.

3.7.1. Patoloji bloklarından kesit hazırlanması

%10 tamponlu formaldehitte fikse edilmiş parafine gömülü doku bloğundan, Thermo Shandon Finesse E marka mikrotomda pozitif şarjlı lamlara 3µm kalınlığında kesitler alındı. Hazırlanması anlatılmış olan yöntem ile her bir parafin doku bloğundan ayrı ayrı olarak ÖR, PR, HER2/neu, Ki67 ve COX-2 immünohistokimyasal boyaması için lamalar hazırlandı (45, 72).

3.7.2. Kesitlerin immünohistokimyasal inceleme için boyanması

ÖR, PR, HER2/neu, COX-2 ve Ki67 ekspresyonunun gösterilmesinde streptavidin biotin peroksidaz immünohistokimya boyama yöntemi kullanıldı (45, 72, 73). Bu yöntemde her bir lam 37°C'de 1 gece bekletildi. Ardından ksilende deparafinize edilen kesitler etanolden geçilerek hidrate edildi. Dokulardaki endojen peroksidaz aktivitesi %3 H₂O₂ (metanolde) ile baskılandı. Maskelenen antijenleri açığa çıkarmak amacıyla mikrodalga fırında 400 W güçte 20 dakika süre ile pH 6.0 Sitrat tampon çözeltisinde ön işlem yapıldı. Kesitler pH 7,4 fosfat tampon solüsyonu (PBS) ile yıkandı. Non spesifik boyanmayı engellemek için Super Block solüsyonu (SensiTek HRP Anti-Polyvalent Kit, ScyTek Laboratories, UK) ile protein blokajı yapıldı. Kesitlere ayrı ayrı fare monoklonal Östrojen Reseptör antikoru (Klon 6F11, Novocastra, UK), fare monoklonal Progesteron Reseptör antikoru (Klon 1A6, Novocastra, UK) ve fare monoklonal HER2/neu Onkoprotein antikoru (Klon CB11, Novocastra, UK) 1:40 dilüsyon oranında, fare monoklonal Siklooksijenaz-2 antikoru

(Klon 4H12, Novocastra, UK) 1:100 dilüsyonunda, fare monoklonal Ki67 antikoru ise (klon MM1, Novocastra, UK) 1:50 dilüsyon oranında damlatılarak her bir antikor oda ısısında 60 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında kesitler PBS ile yıkandı, ardından kesitlere sırasıyla biotinlenmiş sekonder antikor ve streptavidin peroksidaz (SensiTek HRP Anti-Polyvalent Kit, ScyTek Laboratories, UT) damlatılarak 10'ar dakika inkübe edildi. Kesitler tekrar PBS ile yıkandı. Görüntüleme aşamasında 3.3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB) kullanıldı ve nükleer zıt boyama Mayer hematoxilen ile yapıldı. Etanol ile dehidrate edilen kesitler entellan ile kapatıldı (11, 45, 72).

3.7.3. Doku kesitlerinin immünohistokimyasal olarak değerlendirilmesi

ÖR, PR, HER2/neu , COX-2 ve Ki67 ekspresyonu için değerlendirilecek olan doku kesitleri ışık mikroskobunda değerlendirildi. Değerlendirme yapan patoloji uzmanı hastaların klinik ve takip verilerinden habersiz (kör) idi.

3.7.4. Siklooksijenaz-2 ekspresyonunun değerlendirilmesi

Her bir kesit için tek tek COX-2 boyanma skorlaması ışık mikroskobu ile yapıldı. Sitoplazmik boyanmanın yoğunluğu baz alınarak değerlendirildi. COX-2 ekspresyonu değerlendirmesi iki ayrı ölçekte yapıldı: 1. Semikantitatif ekspresyon ölçeği ile ve 2. İkili değerlendirme ölçeği ile.

Semikantitatif ekspresyon ölçeği ile boyanmalar, 0 = hiç boyanma olmayan; 1+ = zayıf boyanma gösteren, yamalı olarak sitoplazmik boyanma görülen; 2+ = orta yoğunlukta boyanma gösteren, çoğunlukla sitoplazmik boyanma, fokal olarak plazma membranı yayılımı da gösteren; 3+ = kuvvetli immün boyanma gösteren, açık olarak plazma membranı yayılımı gösteren olarak değerlendirildi (42, 45).

İkili değerlendirme ölçeği ile elde edilen skarlama değerlerinden 0 ve 1+ olanları “negatif” veya “ekspresyon yok” olarak değerlendirilirken, 2+ ve 3+ olanları ise “pozitif” veya “ekspresyon var” olarak kabul edildi (72).

3.7.5. Ki67 ekspresyonunun değerlendirilmesi

Ki67 için kesitler de yine aynı patoloji uzmanı tarafından değerlendirildi. Ki67 ekspresyonu değerlendirilirken ışık mikroskopunda, en kuvvetli boyanma gösteren 3 ayrı alanda (x40 büyütmede), minimum 1000 tümör hücresi sayıldı. Sonuçlar yüzde (%) değeri olarak verildi. Skorlamada pozitif ve negatif hücre toplam sayısının pozitif hücre sayısına bölümü olarak değerlendirme yapıldı. İki şekilde ölçümler kayıt altına alındı ve değerlendirildi. Birincisinde hesaplanan değerlendirme sonucu mutlak değer olarak kayıt edildi. Diğerinde ise çıkan sonuçlardan %10'dan fazla tümör hücrelerinde boyanma gösteren kesitler "yüksek Ki67 ekspresyon varlığı" veya "pozitif" olarak değerlendirilirken, %10'dan az boyanma gösterenler ise "düşük Ki67 ekspresyon varlığı" veya "negatif" olarak değerlendirildi (72, 73).

3.7.6. Östrojen ve progesteron ekspresyonunun değerlendirilmesi

Östrojen ve progesteron reseptör ekspresyonunun değerlendirilmesi için kesitlerdeki tümör hücrelerinin immünohistokimyasal olarak boyanma yoğunlukları yine ışık mikroskobu altında değerlendirildi (73). ÖR ve PR için değerler yüzde (%) olarak ifade edildi. İki şekilde ölçümler kayıt altına alındı ve değerlendirildi. Birincisinde hesaplanan değerlendirme sonucu mutlak değer olarak kayıt edildi. Diğerinde ise okunan değerlerin %1 ve üzeri olması halinde "pozitif", %1'in altında olması halinde ise "negatif" olarak kabul edildi (72).

3.7.7. HER2/neu ekspresyonunun değerlendirilmesi

HER2/neu ekspresyonunun değerlendirilmesi de ışık mikroskopunda yapıldı. Kesitlerdeki tümör hücrelerindeki HER2/neu immünohistokimyasal (İHK) boyanma yoğunluğu ışık mikroskobu altında 0, 1+, 2+ ve 3+ olarak değerlendirildi. 0 ve 1+ değerler "negatif", 3+ değerler ise "pozitif" olarak kabul edildi. İHK ile 2+ olarak değerlendirilen hastalar FISH testi sonucuna göre kategorize edildi. FISH pozitif

olanlar “pozitif”, FISH negatif olanlar ise “negatif” olarak sınıflandırıldı. FISH yapılmayan İHK 2+ hastalar ise “belirsiz” olarak sınıflandırıldı (72).

3.7.8. Moleküler alt gruplandırmanın yapılması

Moleküler alt gruplandırma tipleri Tablo 1’de verildiği gibi sınıflandırıldı. ÖR (+), PR (+) ve/veya (-), HER2/neu (-) olan hastalar “Luminal A Tip”; ÖR (+), PR (+) ve/veya (-), HER2/neu (+) olan hastalar “Luminal B Tip”; ÖR (-), PR (-), HER2/neu (+) olan hastalar “HER2/neu Tip”; ÖR (-), PR (-), HER2/neu (-) olan hastalar “Bazal Tip (Triple Negatif Tip)” olarak kabul edildi. FISH testi yapılmayan İHK 2+ HER2/neu sonucu olan hastalar ÖR ve PR sonucu ne olursa olsun “Belirsiz” olarak kabul edildi.

3.7.9. Moleküler alt grupların COX-2 ekspresyonuna göre sınıflandırılması

Her bir moleküler alt grup kendi içerisinde COX-2 ekspresyonu durumuna göre COX-2 pozitif veya negatif olarak gruplandırıldı. Gruplar COX-2 (+) / Luminal A Tipi, COX-2 (-) / Luminal A Tipi, COX-2 (+) / Luminal B Tipi, COX-2 (+) / Luminal B Tipi, COX-2 (+) / HER2(neu) Tip ve COX-2 (-) / HER2(neu) Tip ve COX-2 (+) / Bazal Tip, COX-2 (-) / Bazal Tip olarak 8 grup olarak sınıflandırıldı.

3.8. İstatistiksel Analiz

Veriler SPSS 18 bilgisayar programı ile kayıt altına alındı ve istatistiksel analizleri yapıldı. Genel olarak kohorttaki tüm COX-2 ekspresyonu pozitif ve negatif olan hastalar sağkalım (GS, HS ve MKÖS) açısından birbiri ile karşılaştırıldı. Bu karşılaştırmada COX-2’ye göre tüm kohortun GS, HS ve MKÖS analizleri Kaplan Meier sağkalım analizi ile yapıldı. COX-2 ile konvansiyonel prognostik faktörler arası ilişki, sürekli değişkenli verilerde t test ile, kategorik değişkenli verilerde ise ki

kare testi ile analiz edildi. GS, HS ve MKÖS için tüm varyantlar arasında bağımsız faktör analizi Cox regresyon analizi ile yapıldı. Moleküler alt grupların COX-2 ekspresyon durumuna göre sınıflandırmasının sağkalım üzerine etkileri yine Kaplan Meier sağkalım analizi ile yapıldı. Her bir moleküler alt grup kendi içerisinde COX-2 ekspresyon durumuna göre sağkalım açısından karşılaştırıldı. Sonuçlar ortalama (standart sapma) olarak verildi. *p* değerinin 0.05'den az olması anlamlı olarak kabul edildi.



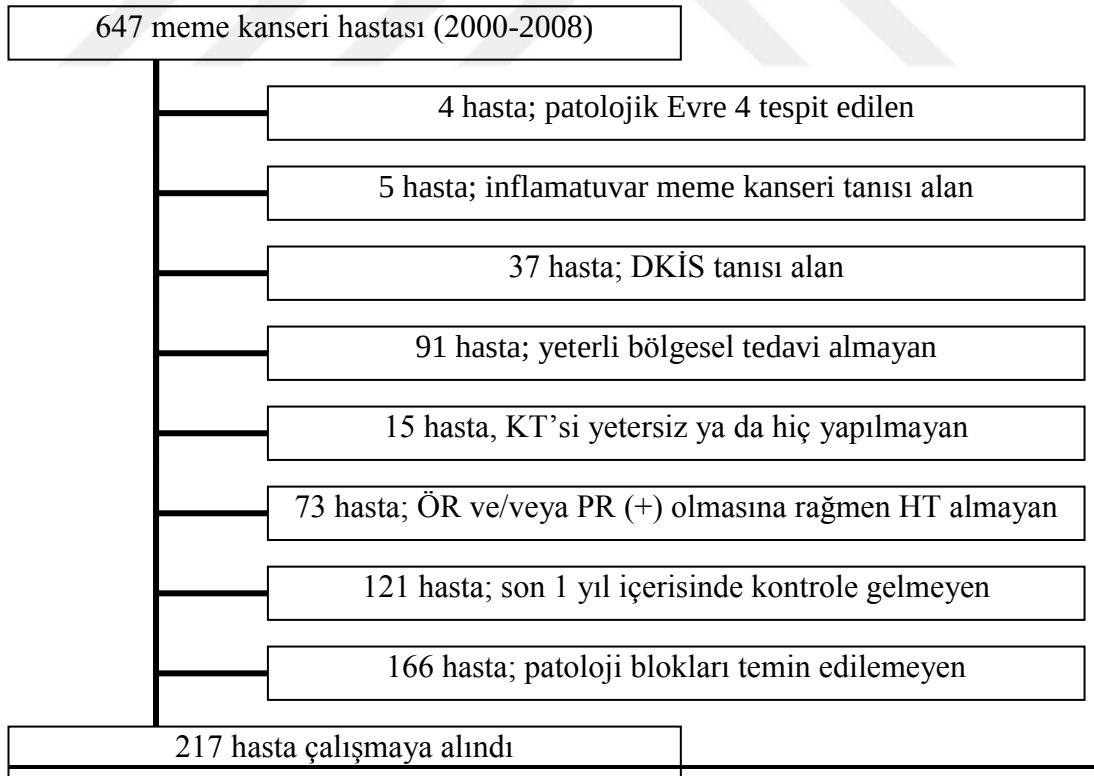
4. BULGULAR

4.1. Genel

4.1.1. Çalışmanın kohortu

Kasım 2000 ile Aralık 2008 tarihleri arasında Marmara Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda meme kanseri nedeniyle ameliyat edilmiş ve çalışmaya alınma kriterlerine uyan 647 hasta ön değerlendirmeye alındı. Çalışmadan çıkarılma kriterlerine göre uygun olmayan hastalar kohorttan çıkartılığında analiz için toplam 217 hasta kaldı (Şekil 5).

37 hasta patolojik tanısı DKİS olduğu, 4 hasta Evre 4 olduğu, 5 hasta inflamatuvar meme kanseri tanısı aldığı, 91 hasta yeterli bölgesel tedavi almadığı, 15 hasta yetersiz KT aldığı, 73 hasta ÖR ve/veya PR pozitif olmasına rağmen HT almadığı, 121 hasta son 1 sene içerisinde kontrole gelmediği ve 166 hasta da patoloji blokları temin edilemediği için çalışmadan çıkarıldı.



Şekil 5. Çalışmadan çıkarılan hastaların özellikleri

4.1.2. Kohortun özellikleri

4.1.2.1. Demografik, klinik ve tedaviler ile ilgili özellikler

Hastaların cinsiyet dağılımında 213 (%98)'ü kadın, 4 (%2)'ü erkek hastaydı. Tanı anında hastaların yaş ortalaması 56 (12,6)'ydı. Memeye yapılan cerrahi girişim açısından 84 (%39)'üne lumpektomi yapılırken, 133 (%61)'üne mastektomi yapıldı. Aksillar girişim olarak 65 (%30)'ine sadece SLNB yapılırken, 152 (%70)'sine aksillar diseksiyon yapıldı.

Çalışmaya alınan 92 (%42) hasta radyoterapi almazken, 125 (%58) hasta radyoterapi aldı. Çalışmaya alınan tüm standart MRM yapılan hastalara 25 fraksiyone 200 cGy, toplam 50 Gy göğüs duvarına ışın verildi. Yine çalışmaya alınan tüm MKC yapılan hastaların bütün memesine 25 fraksiyone 200 cGy, toplam 50 Gy ve tümör lojuna 5 fraksiyone 200 cGy, toplam 10 Gy ışın verildi.

Çalışmaya alınan 84 (%39) hasta kemoterapi almazken, 133 (%61)'ü aldı. Bu hastalara rutin siklofosfamid, epirubisin, 5-fluorourasilden oluşan CEF protokolü 6 kür veya lenf nodu pozitifliği ve tümör çapında büyüklüğe göre CEF yanına docetaxel eklenerek toplam 3'er kür verildi. Hiçbir hastaya neoadjuvan kemoterapi verilmedi.

Çalışmaya alınan 63 (%29) hasta HT almazken, 154 (%71) hasta aldı. ÖR ve PR pozitif olan hastalara menapoz öncesi iseler östrojen reseptör blokleri, menapoz sonrası iseler aromataz inhibitörü verildi.

Çalışmaya alınan 21 (%10) hasta *Trastuzumab* tedavisi alırken, 196 (%90) hasta bu tedaviyi almadı (Tablo 9).

Tablo 9. Çalışmanın kohortunun demografik, klinik ve tedavi ile ilgili özellikleri

Hastanın özellikleri	Genel	COX-2 (-)	COX-2 (+)	p
Cinsiyet; n (%)				0,6
Kadın	213 (98)	134 (99)	79 (98)	
Erkek	4 (2)	2 (1)	2 (2)	
Yaş; ort. yıl (SS)	56 (12,6)	57 (13,03)	56 (11,9)	0,82
Memeye cerrahi girişim; n (%)				0,72
Lumpektomi	84 (39)	52 (38)	32 (40)	
Mastektomi	133 (61)	84 (62)	49 (60)	
Aksillaya cerrahi girişim; n (%)				0,5
Sadece SLNB	65 (30)	43 (32)	22 (27)	
Aksiller diseksiyon	152 (70)	93 (68)	59 (73)	
Radyoterapi; n (%)				0,5
Yok	92 (42)	55 (40)	37 (46)	
Var	125 (58)	81 (60)	44 (54)	
Kemoterapi; n (%)				0,5
Yok	84 (39)	55 (40)	29 (36)	
Var	133 (61)	81 (60)	52 (64)	
Hormonoterapi; n (%)				0,1
Yok	63 (29)	34 (25)	29 (36)	
Var	154 (71)	102 (75)	52 (64)	
Trastuzumab; n (%)				0,04
Yok	196 (90)	127 (93)	69 (85)	
Var	21 (10)	9 (7)	12 (15)	

Ort.: Ortalama

SS: Standart Sapma

4.1.2.2. Histopatolojik özellikler

Histopatolojik tümör tipi olarak 188 (%87) hasta invaziv duktal kanser, 11 (%5) hasta invaziv lobüler kanser, 15 (%7) hasta invaziv mikst kanser ve 3 (%1) hasta ise diğer olarak sınıflandırılan 1'i apokrin kanser ve 2'si kribriform kanserdi. Ortalama tümör çapı 27 (15,8) mm'ydı. TNM sınıflamasına göre 77 (%35) hasta T₁, 123 (%57) hasta T₂, 17 (%8) hasta T₃tü. T₄ olan hasta yoktu. 111 (%51) hasta N₀, 65 (%30) hasta N₁, 31 (%14) hasta N₂ ve 10 (%5) hasta ise N₃'tü. Bir diğer bakışla 111 (%51)

hastanın aksillası negatifken (N_{neg}), 106 (%49) hastanın aksillası metastatik en az bir lenf nodu içeriyordu (N_{poz}). Patolojik evre olarak 54 (%25) hasta Evre 1, 119 (%55) hasta Evre 2, 44 (%20) hasta ise Evre 3'tü.

Çalışmaya alınan 31 (%14) hasta Grad 1 (iyi diferansiye), 118 (%54) hasta Grad 2 (orta diferansiye) ve 68 (%32) hasta ise Grad 3 (kötü diferansiye) idi.

Çalışmaya alınan hastaların ortalama ÖR ekspresyon değeri %51 (36,1)'di. 48 (%22) hasta ÖR negatifken, 169 (%78) hasta ÖR pozitif. Hastaların ortalama PR değeri %32 (34,4)'ydi. 74 (%34) hasta PR negatif, 143 (%66) hasta PR pozitif. Ortalama Ki67 ekspresyon değeri %13 (14,9)'tü. 100 (%46) hastanın Ki67'si negatifken, 117 (%54) hastanın ekspresyonu artmıştı. Hastaların 136 (%63)'ünün HER2/neu ekspresyon değeri 0, 27 (%12)'sinin 1+, 30 (%14)'ünün 2+, 24 (%11)'ünün ise 3+'ti. HER2/neu immunekspresyon ölçümü 2+ gelen hastalardan sadece 7 tanesine FISH tekniği ile ileri değerlendirme yapıldı. FISH yapılmayan 2+ sonuca sahip geri kalan hastanın nihai HER2/neu'si "belirsiz" olarak kabul edildi. Buna göre 166 (%76) hasta "HER2/neu negatif", 28 (%13) hasta "HER2/neu pozitif", kalan 23 (%11) hasta da "HER2/neu belirsiz" olarak değerlendirildi.

Bu sonuçlara göre moleküler alt gruplandırma yapıldığında; 140 (%64) hasta Luminal A tip, 15 (%7) hasta Luminal B tip, 13 (%6) hasta HER2/neu tip, 26 (%12) hasta ise bazal tip olarak belirlendi. 23 (%11) hastanın nihai HER2/neu değeri bilinmediği için moleküler alt tiplendirilmede de belirsiz olarak gruplandırıldı (Tablo 10).

Tablo 10. Çalışmanın kohortunun histopatolojik özellikleri

Histopatolojik özellikler	Genel	COX-2 (-)	COX-2 (+)	p
Histolojik tip; n (%)				0,2
İnvaziv lobüler kanser	11 (5)	9 (7)	2 (2)	
İnvaziv duktal kanser	188 (87)	115 (84)	73 (91)	
İnvaziv mikst kanser	15 (7)	11 (8)	4 (5)	
Diğer	3 (1)	1 (1)	2 (2)	
Tümör çapı; ort. mm (SS)	27 (15,8)	28 (17,4)	25 (12,4)	0,1
Tümör boyutu; n (%)				0,2
T ₁	77 (35)	49 (36)	28 (34)	
T ₂	123 (57)	73 (54)	50 (62)	
T ₃	17 (8)	14 (10)	3 (4)	
T ₄	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
Grad; n (%)				0,7
I	31 (14)	19 (14)	12 (15)	
II	118 (54)	77 (57)	41 (51)	
III	68 (32)	40 (29)	28 (34)	
Patolojik evre; n (%)				0,2
Evre 1	54 (25)	30 (22)	24 (30)	
Evre 2	119 (55)	74 (54)	45 (56)	
Evre 3	44 (20)	32 (24)	12 (14)	
Aksiller durum; n (%)				0,13
N ₀	111 (51)	63 (46)	48 (59)	
N ₁	65 (30)	43 (32)	22 (27)	
N ₂	31 (14)	21 (15)	10 (13)	
N ₃	10 (5)	9 (7)	1(1)	
Aksiller durum; n (%)				0,07
N _{neg}	111 (51)	63 (46)	48 (59)	
N _{poz}	106 (49)	73 (54)	33 (41)	
ÖR; ort. % (SS)	51 (36,1)	52 (35,4)	50 (37,4)	0,64
ÖR; n (%)				0,3
Negatif	48 (22)	27 (20)	21 (26)	
Pozitif	169 (78)	109 (80)	60 (74)	
PR; ort. % (SS)	32 (34,4)	32 (33,6)	31 (35,8)	0,9
PR; n (%)				0,2
Negatif	74 (34)	42 (31)	32 (40)	
Pozitif	143 (66)	94 (69)	49 (60)	

Ki67; ort. % (SS)	13 (14,9)	11 (13,8)	16 (16,4)	0,04
Ki67; n (%)				0,02
Negatif	100 (46)	71 (52)	29 (36)	
Pozitif	117 (54)	65 (48)	52 (64)	
HER2/neu ; n (%)				0,3
0	136 (63)	90 (66)	46 (57)	
1 +	27 (12)	18 (13)	9 (11)	
2 +	30 (14)	16 (12)	14 (17)	
3 +	24 (11)	12 (9)	12 (15)	
HER2/neu; n (%)				0,07
Negatif	166 (76)	111 (82)	55 (68)	
Pozitif	28 (13)	14 (10)	14 (17)	
Belirsiz	23 (11)	11 (8)	12(15)	
Moleküler alt grupta; n (%)				0,24
Luminal A Tip	140 (64)	94 (69)	46 (57)	
Luminal B Tip	15 (7)	7 (5)	8 (10)	
HER2/neu Tip	13 (6)	7 (5)	6 (7)	
Bazal Tip	26 (12)	17 (13)	9 (11)	
Belirsiz	23 (11)	11 (8)	12 (15)	

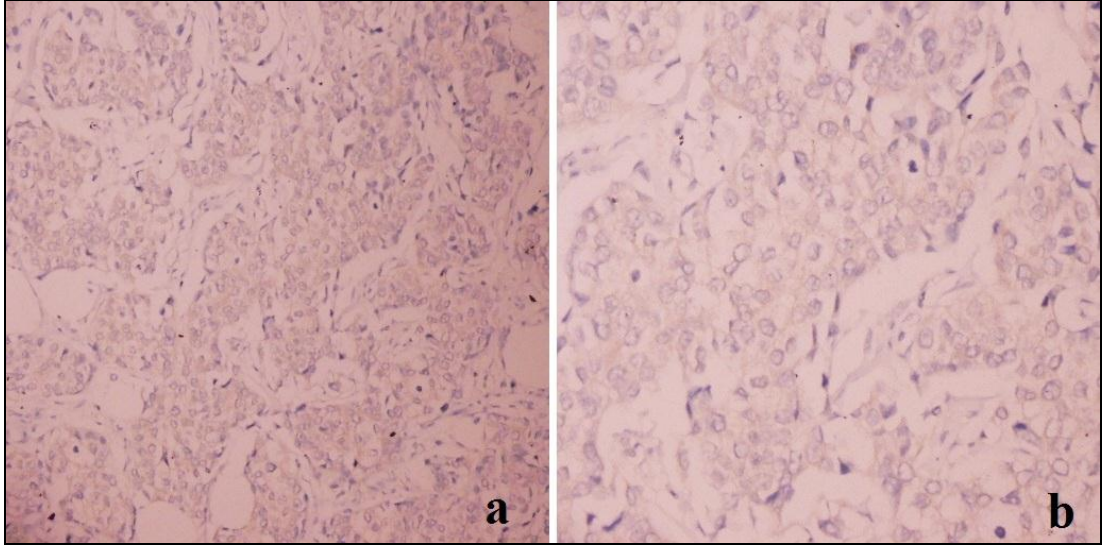
Ort.: Ortalama

SS: Standart Sapma

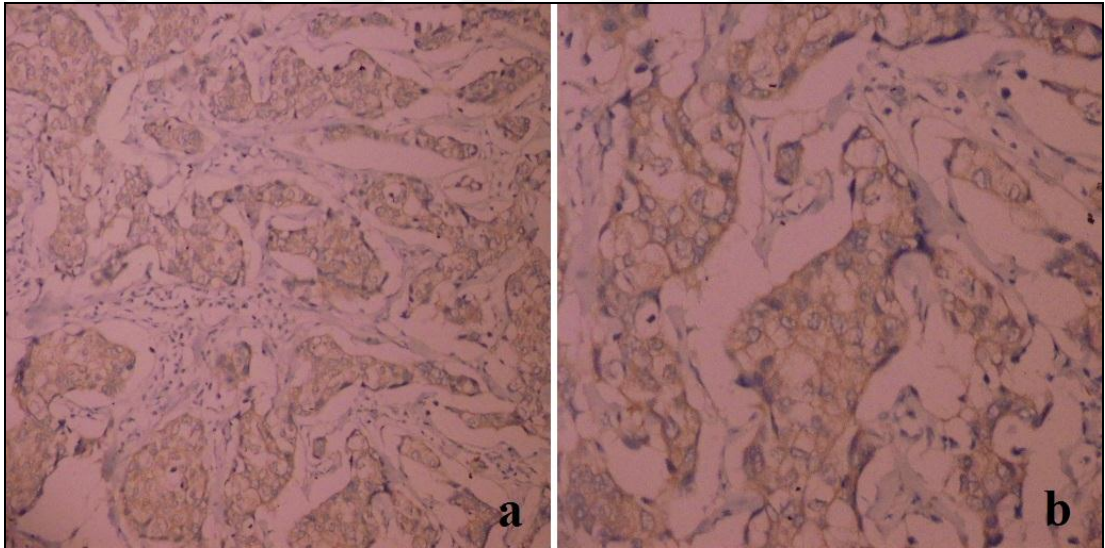
4.1.2.3. COX-2 ekspresyonu

Çalışmaya alınan 56 (%26) hastanın COX-2 ekspresyonu 0 (Şekil 6a,b), 80 (%37) hastanın 1+ (Şekil 7a,b), 53 (%24) hastanın 2+ (Şekil 8a,b) ve 28 (%13) hastanın da 3+ (Şekil 9a,b) olarak değerlendirildi (Şekil 10).

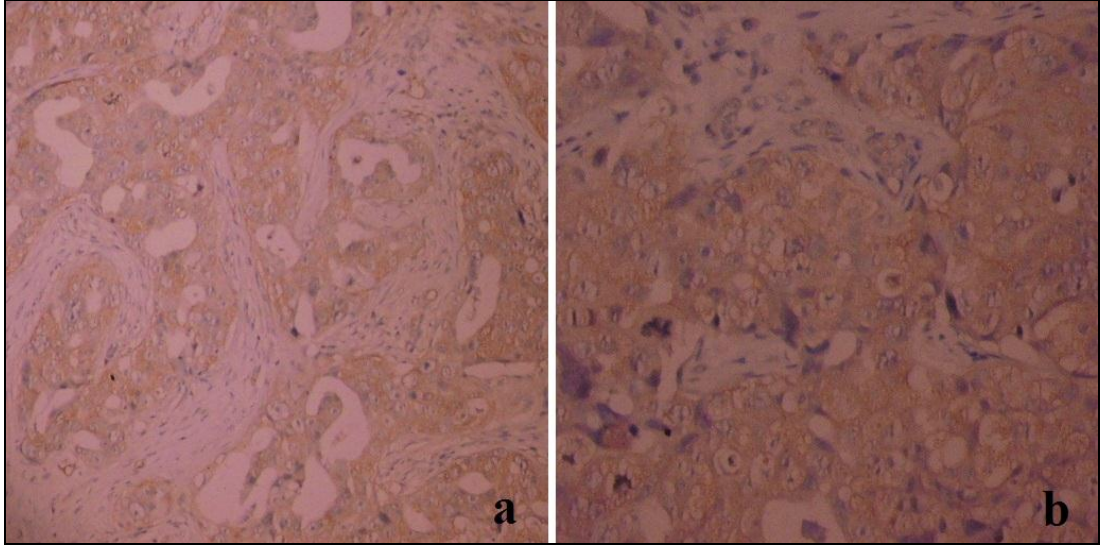
Bu sonuçlara göre genel olarak 136 (%63) hastanın COX-2 ekspresyonu negatif olarak bulunurken, 81 (%37) hastanın ise ekspresyonu pozitif olarak bulundu (Şekil 11).



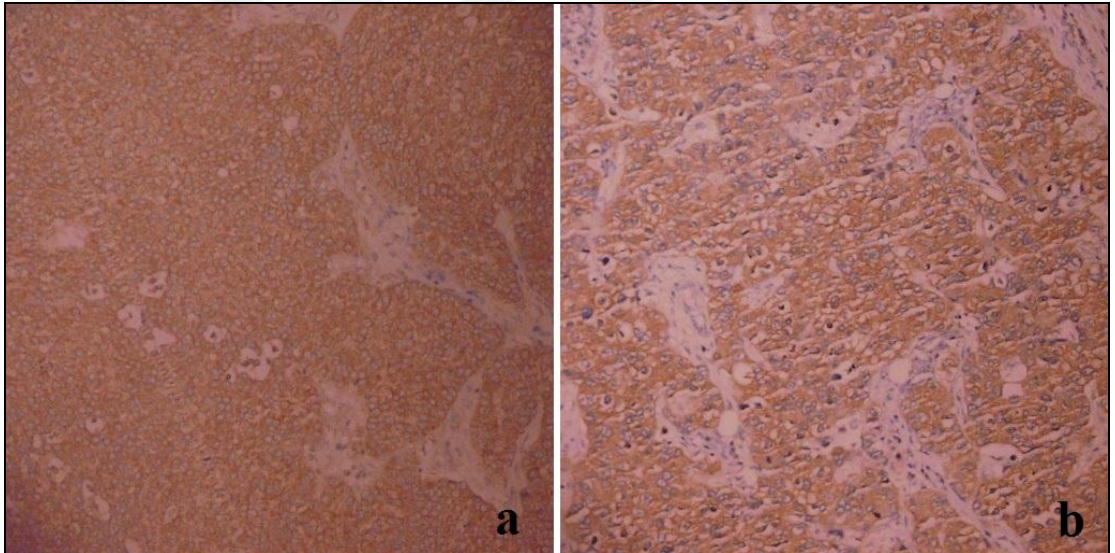
Şekil 6. Işık mikroskopunda COX-2 0 görünümü (a. 200 büyütme, b. 400 büyütme)



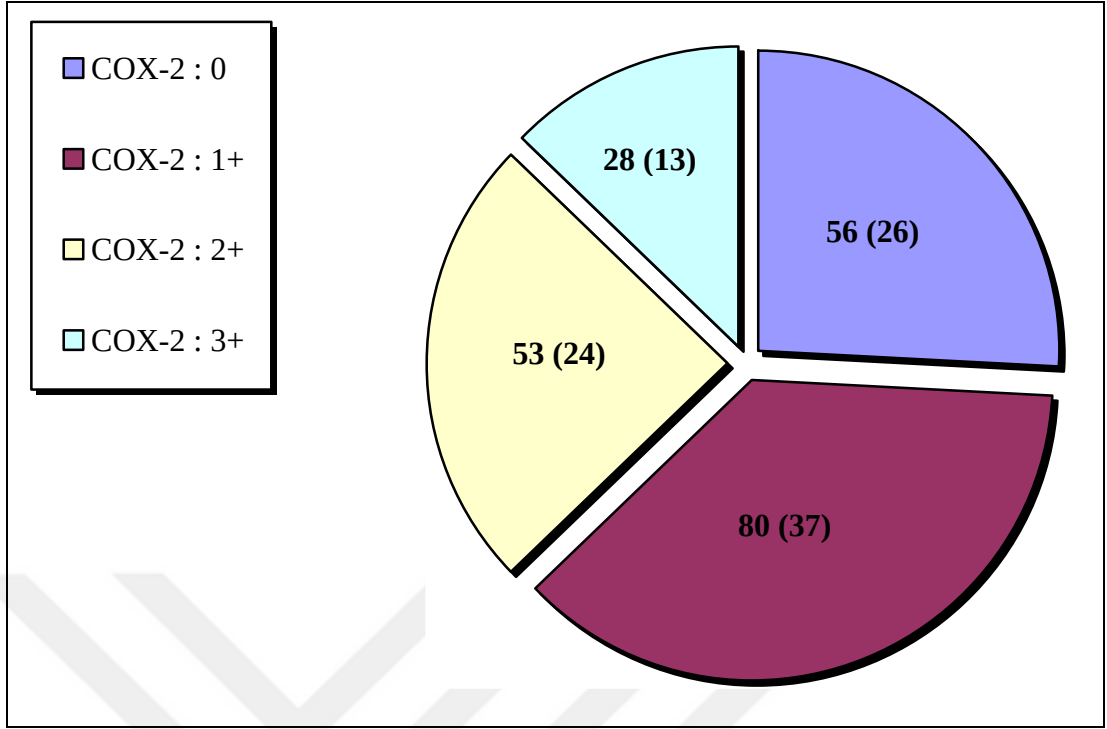
Şekil 7. Işık mikroskopunda COX-2 1+ görünümü (a. 200 büyütme, b. 400 büyütme)



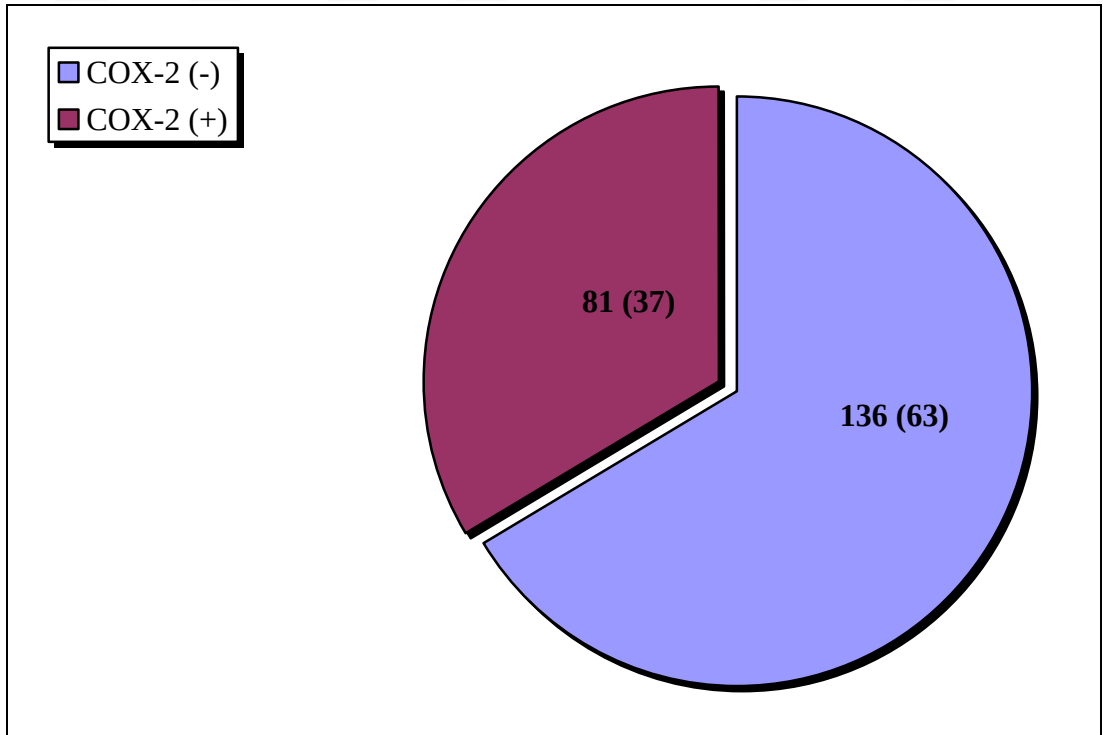
Şekil 8. Işık mikroskopunda COX-2 2+ görünümü (a. 200 büyütme, b. 400 büyütme)



Şekil 9. Işık mikroskopunda COX-2 3+ görünümü (a. 200 büyütme, b. 400 büyütme)



Şekil 10. COX-2 ekspresyonunun 0, 1+, 2+ ve 3+ olarak dağılımı; n (%)



Şekil 11. COX-2 ekspresyonunun “negatif” ve “pozitif” olarak dağılımı; n (%)

4.1.3. Kohortun Sağkalım Sonuçları

Çalışmaya alınan hastaların ortalama takip süresi 37 (5 – 107) ay idi. Hastaların 13 (%6)'ünün öldüğü, 204 (%94)'ünün ise son 1 yıl içerisindeki kontrollerinde halen yaşadığı saptandı. Ölen hastaların 7 (%3)'ünün ölüm nedeni meme kanseri idi. Diğer 6 hasta ise myokard enfarktüsü (n=5) ve serebrovasküler olay (n=1) nedeni ile ölmüşlerdi. 199 (%92) hastada kanser yinelenmesi saptanmazken, 18 (%8) hastada bölgesel ve/veya uzak hastalık (genel) yinelenmesi tespit edildi. Çalışmaya alınan hastaların ortalama hastalıksız sağ kalım süresi 36 (3 – 107) ay olarak saptandı. 213 (%98) hastada bölgesel yinelenme yokken, 4 (%2) hastada bölgesel yinelenme saptandı. 2 hastada lumpektomi sonrası memede, 1 hastada aksillada ve 1 hastada ise mastektomi sonrası göğüs duvarında bölgesel yinelenme saptandı. 203 (%94) hastada uzak yinelenme saptanmazken, 14 (%6) hastada en az bir organda uzak yinelenme bulundu. 5 hastada akciğerde, 4 hastada karaciğerde, 3 hastada iskelet sisteminde, 1 hastada intrakraniyel ve 1 hastada da hem akciğerde hem intrakraniyel uzak yinelenme tespit edildi (Tablo 14).

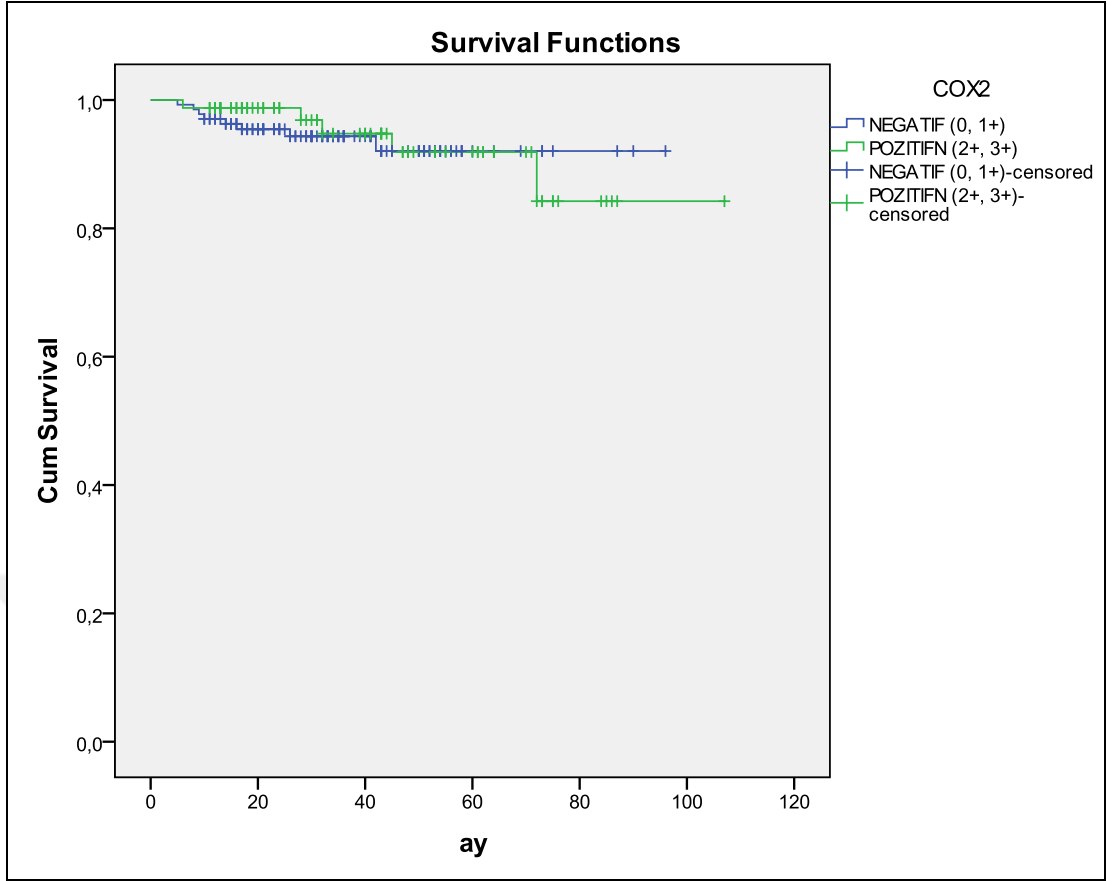
4.2. COX-2 Ekspresyonunun Sağkalım Üzerine Etkisi

4.2.1. COX-2 ekspresyonunun genel sağkalım üzerine etkisi

Ortanca genel sağkalım COX-2 negatif hastalarda 32 ay (5 - 96) iken, COX-2 pozitif hastalarda 40 (6 - 107) ay idi (Tablo 11, Şekil 12). 5 yıllık genel sağkalım oranları her iki grupta benzerdi (COX-2 negatif hastalarda %92, COX-2 pozitif hastalarda %91,9; $p=0,82$).

Tablo 11. COX-2 ekspresyonunun genel sağkalım üzerine etkisi

	COX-2 (-)	COX-2 (+)	<i>p</i>
5 yıllık Genel Sağkalım	%92	%91,9	0,82



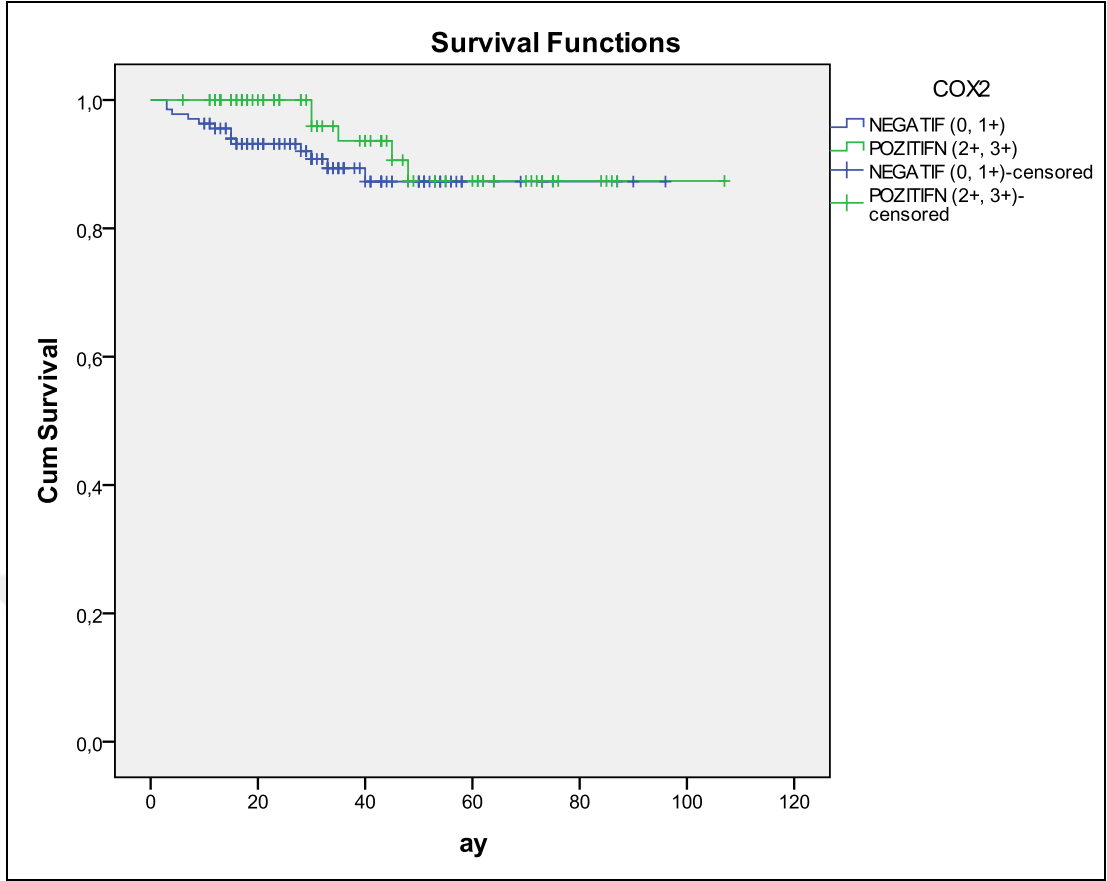
Şekil 12. COX-2 ekspresyonunun genel sağkalım üzerine etkisinin yaşam grafiği

4.2.2. COX-2 ekspresyonunun hastalıksız sağkalım üzerine etkisi

Ortanca hastalıksız sağkalım COX-2 negatif hastalarda 31.5 ay (3 - 96) iken, COX-2 pozitif hastalarda 39 (6 - 107) ay idi (Tablo 12, Şekil 13). 5 yıllık hastalıksız sağkalım oranları her iki grupta benzerdi (COX-2 negatif hastalarda %87.3, COX-2 pozitif hastalarda %87.4; $p=0,28$).

Tablo 12. COX-2 ekspresyonunun hastalıksız sağkalım üzerine etkisi

	COX-2 (-)	COX-2 (+)	<i>p</i>
5 yıllık Hastalıksız Sağkalım	%87.3	%87,4	0,28



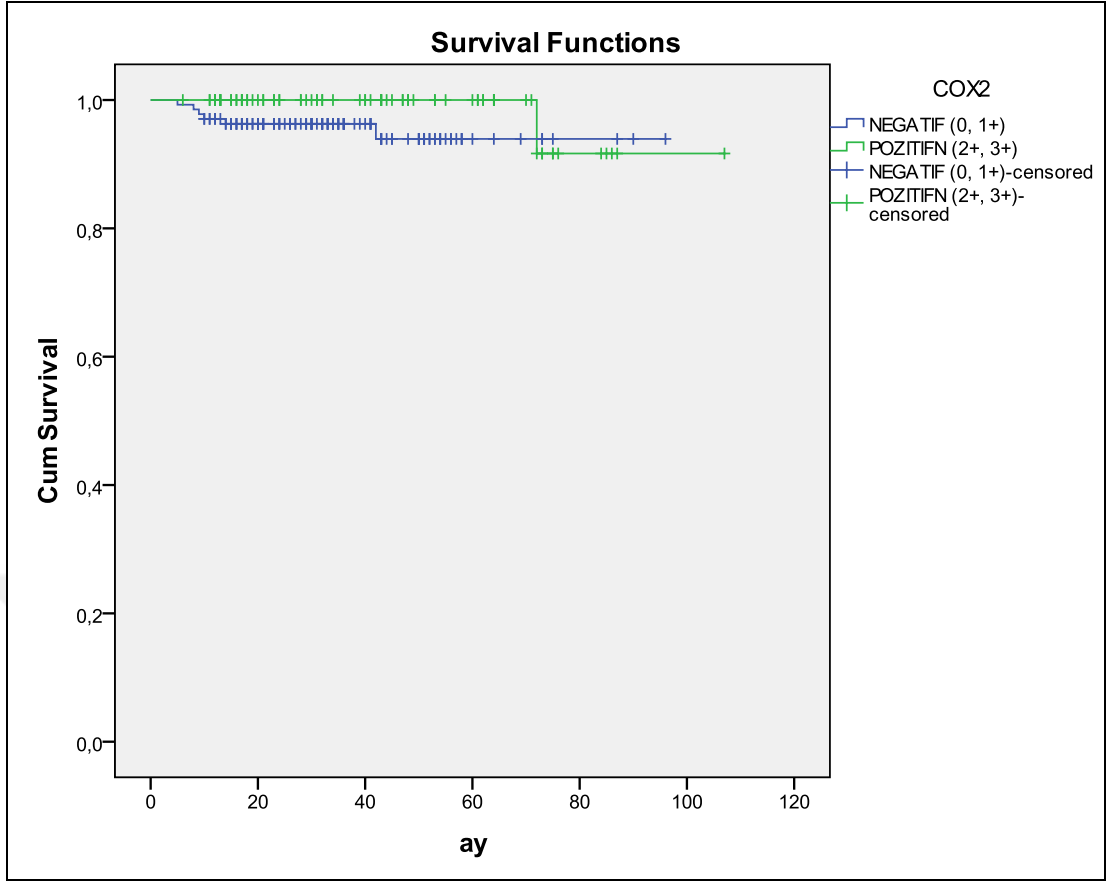
Şekil 13. COX-2 ekspresyonunun hastalıksız sağkalım üzerine etkisinin yaşam grafiği

4.2.3. COX-2 ekspresyonunun meme kanserine özgün sağkalım üzerine etkisi

Ortanca meme kanserine özgün sağkalım COX-2 negatif hastalarda 32 ay (5 - 96) iken, COX-2 pozitif hastalarda 40 (6 - 107) ay idi (Tablo 13, Şekil 14). 5 yıllık meme kanserine özgün sağkalım oranları her iki grupta benzerdi (COX-2 negatif hastalarda %93.9, COX-2 pozitif hastalarda %100; $p=0,12$).

Tablo 13. COX-2 ekspresyonunun meme kanserine özgün sağkalım üzerine etkisi

	COX-2 (-)	COX-2 (+)	<i>p</i>
5 yıllık Meme Kanserine Özgün Sağkalım	%93.9	%100	0,12



Şekil 14. COX-2 ekspresyonunun meme kanserine özgün sağkalım üzerine etkisinin yaşam grafiği

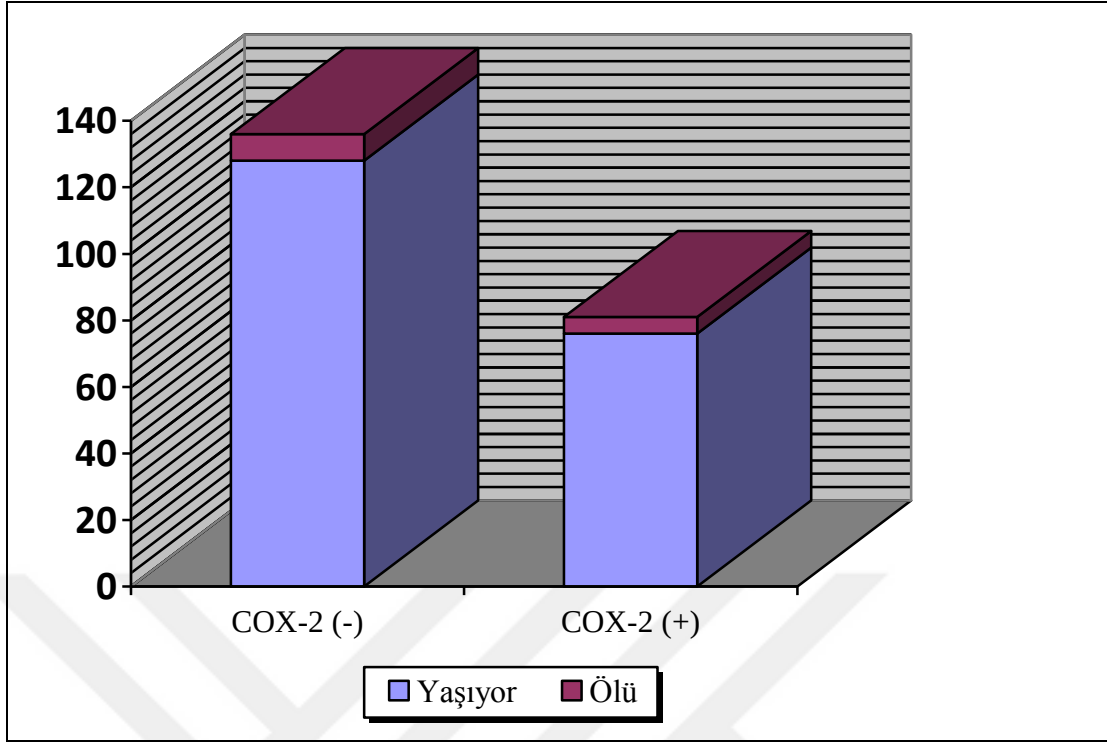
COX-2 negatif ve pozitif hastaların genel yaşam oranları benzerdi ($p=0,93$; Tablo 14, Şekil 15). COX-2 negatif olan hastaların 128 (%94)'ü yaşarken, COX-2 pozitif olan hastaların da benzer olarak 76 (%94)'sı yaşıyordu. Her iki grup için de yaşayanların oranları benzerdi ($p=0,93$). Çalışma bittiğinde COX-2 negatif 8 (%6) hasta ölmüşken, COX-2 pozitif olan grupta ise 5 (%6) hasta ölmüştü. İstatistiksel fark yoktu ($p=0,93$).

COX-2 negatif ve pozitif hastaların meme kanserine bağlı ölüm oranları benzerdi ($p=0,2$; Tablo 14, Şekil 16). COX-2 negatif olan hastaların 128 (%94)'ü yaşarken, COX-2 pozitif olan hastaların da benzer olarak 76 (%94)'sı yaşıyordu. Her iki grup için de yaşayanların oranları benzerdi ($p=0,2$). Çalışma bittiğinde COX-2 negatif 7 (%3) hasta meme kanserine bağlı ölmüşken, COX-2 pozitif olan grupta ise 6 (%4) hasta meme kanserine bağlı ölmüştü. İstatistiksel fark yoktu ($p=0,2$).

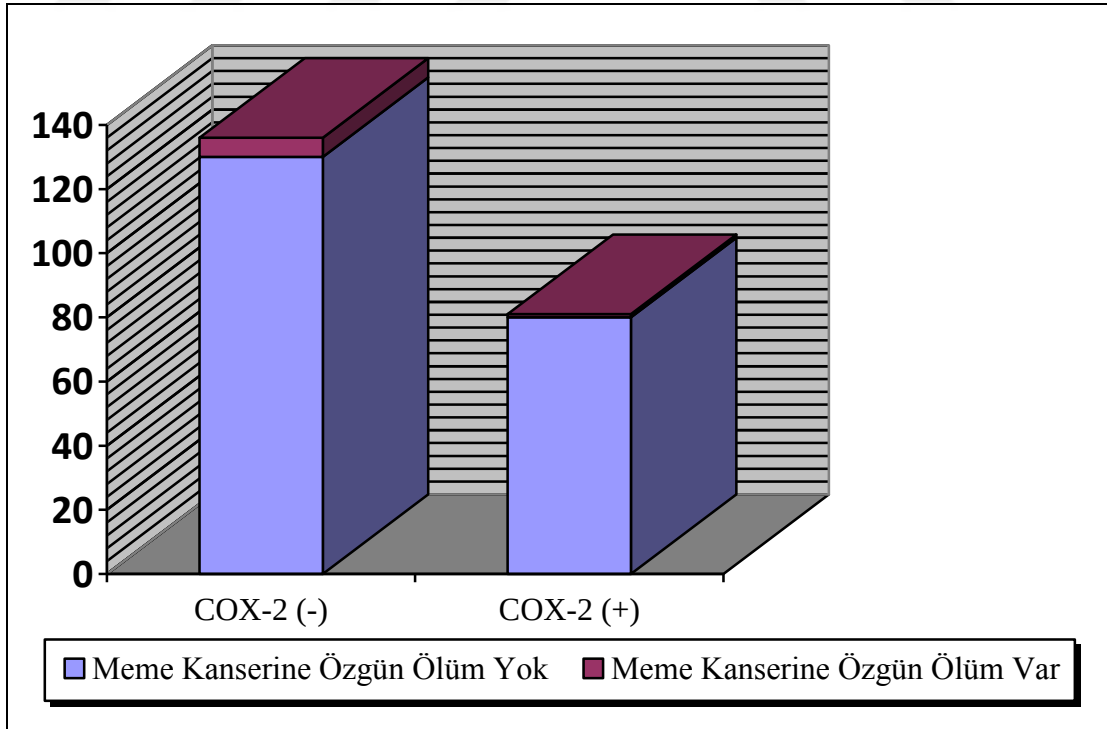
COX-2 negatif ve pozitif hastaların genel yineleme oranları benzerdi ($p=0,4$; Tablo 14, Şekil 17). COX-2 negatif olan hastaların 123 (%90)'ünde genel yineleme varken, COX-2 pozitif olan hastaların da benzer olarak 76 (%94)'ünde genel yineleme yoktu. Her iki grup için de genel yineleme oranları benzerdi ($p=0,4$). Çalışma bittiğinde COX-2 negatif 13 (%10) hastada genel yineleme varken, COX-2 pozitif olan grupta ise 5 (%6) hastada genel yineleme vardı. Aralarında istatistiksel fark yoktu ($p=0,4$).

Tablo 14. Çalışmanın kohortunun sağkalım özellikleri

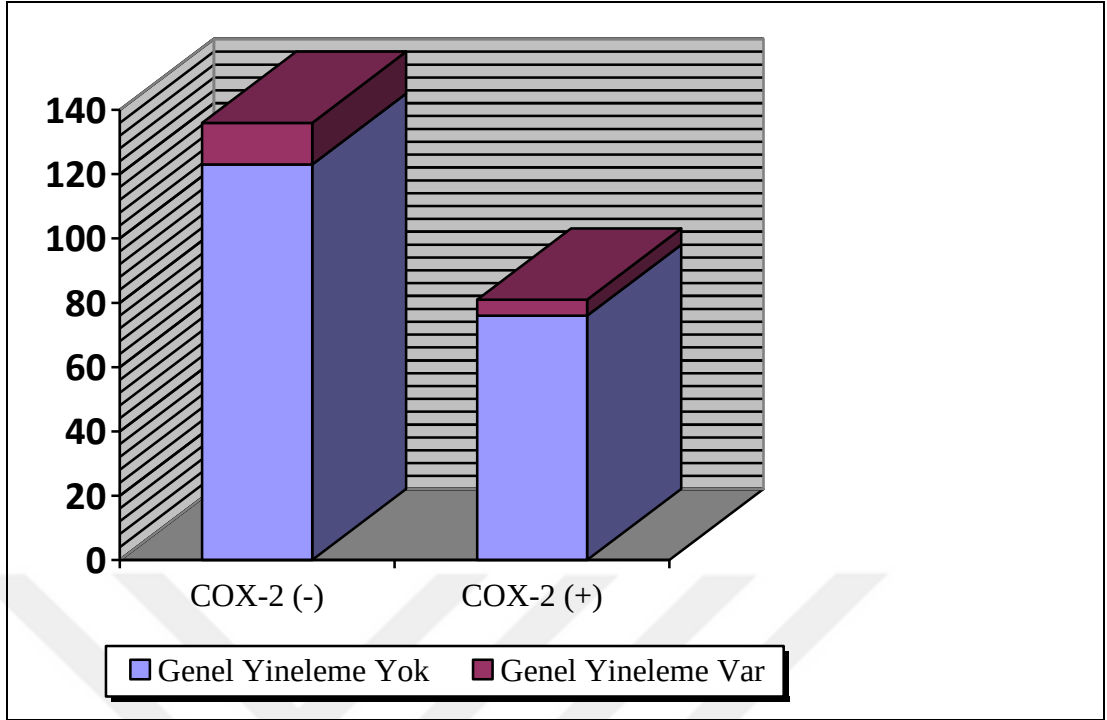
Sağkalım özellikleri	Genel	COX-2 (-)	COX-2 (+)	<i>p</i>
Yaşam; n (%)				0,93
Ölü	13 (6)	8 (6)	5 (6)	
Yaşıyor	204 (94)	128 (94)	76 (94)	
Genel Yineleme; n (%)				0,4
Yok	199 (92)	123 (90)	76 (94)	
Var	18 (8)	13 (10)	5 (6)	
Bölgesel Yineleme; n (%)				0,6
Yok	213 (98)	133 (98)	80 (99)	
Var	4 (2)	3 (2)	1 (1)	
Uzak Yineleme; n (%)				0,5
Yok	203 (94)	126 (93)	77 (95)	
Var	14 (6)	10 (7)	4 (5)	
Meme Kanserine Bağlı Yaşam; n (%)				0,2
Yaşıyor	204 (94)	128 (94)	76 (94)	
Meme kanserine bağlı ölüm	7 (3)	6 (4)	1 (1)	
Diğer nedenlerle ölüm	6 (3)	2 (2)	4 (5)	



Şekil 15. COX-2 negatif ve pozitif hastaların yaşam durumları



Şekil 16. COX-2 negatif ve pozitif hastaların meme kanserine özgün ölüm durumları



Şekil 17. COX-2 negatif ve pozitif hastaların genel yineleme durumları

4.3. COX-2 Ekspresyonu ile Konvansiyonel Prognostik Faktörler Arasındaki İlişki

COX-2 ekspresyonunun pozitif veya negatif olması ile konvansiyonel prognostik faktörler olan ÖR, PR, HER2/neu ile Ki67 ekspresyonları, tümör çapı, tümör gradı, aksilla durumu, patolojik evre, moleküler alt grupta ve yaş arasındaki ilişkiye bakıldığında sadece Ki67 ekspresyonu ile COX-2 ekspresyonu arasında anlamlı ilişkisi olduğu saptandı ($p=0,02$; Tablo 9, 10). Ki67 ekspresyonu yüksek olanların COX-2 ekspresyonunun da yüksek olduğu gözlemlendi.

4.4. Sağkalım Üzerine Etkili Bağımsız Faktörler

4.4.1. Genel sağkalım üzerine etkili faktörler

Genel sağkalım için sadece PR ekspresyonunun ($p=0.03$) anlamlı bağımsız prognostik etkiye sahip olduğu saptandı (Tablo 15). PR negatif olan hastaların genel sağkalımının, PR pozitif olanlara göre daha kötü olduğu görüldü.

Tablo 15. Genel sağkalım üzerine etkili bağımsız faktörler

Faktörler	Genel Sağkalım <i>p</i>
Yaş	0,988
Tümör çapı	0,550
Aksiller tutulum	0,956
Patolojik evre	0,859
Grad	0,740
ÖR ekspresyonu	0,767
PR ekspresyonu	0,03
HER2/neu ekspresyonu	0,636
Ki67 ekspresyonu	0,613
COX-2 ekspresyonu	0,574
Moleküler alt gruplama	0,174

4.4.2. Hastalıklı sağkalım üzerine etkili faktörler

Hastalıklı sağkalım için tümör çapı ($p=0.02$) ve moleküler alt sınıflamanın ($p=0.03$) anlamlı bağımsız prognostik etkiye sahip olduğu saptandı (Tablo 16). Tümör çapı arttıkça, hastalıklı sağkalımın azaldığını saptandı. Moleküler alt gruplardan Luminal B tipin ve bazal tipin daha fazla yinelemeye yol açtığı görüldü.

Tablo 16. Hastaliksız sağkalım üzerine etkili bağımsız faktörler

Faktörler	Hastaliksız Sağkalım <i>p</i>
Yaş	0,053
Tümör çapı	0,019
Aksiller tutulum	0,936
Patolojik evre	0,961
Grad	0,855
ÖR ekspresyonu	0,399
PR ekspresyonu	0,345
HER2/neu ekspresyonu	0,140
Ki67 ekspresyonu	0,259
COX-2 ekspresyonu	0,087
Moleküler alt gruptama	0,027

4.4.3. Meme kanserine özgün sağkalım üzerine etkili faktörler

Meme kanserine özgün sağkalım için sadece PR ekspresyonunun ($p=0.03$) anlamlı bağımsız prognostik etkiye sahip olduğu saptandı (Tablo 17). PR negatif olan hastaların meme kanserine özgün sağkalımlarının, PR pozitif olanlara göre daha kötü olduğu görüldü.

Tablo 17. Meme kanserine özgün sağkalım üzerine etkili bağımsız faktörler

Faktörler	Meme Kanserine Özgün Sağkalım <i>p</i>
Yaş	0,099
Tümör çapı	0,570
Aksiller tutulum	0,976
Patolojik evre	0,994
Grad	0,821
ÖR ekspresyonu	0,439
PR ekspresyonu	0,028
HER2/neu ekspresyonu	0,398
Ki67 ekspresyonu	0,163
COX-2 ekspresyonu	0,119
Moleküler alt grupta	0,259

4.5. Moleküler Alt Grupların COX-2 Ekspresyonuna Göre Sınıflandırılmasının Sağkalım Üzerine Etkisi

4.5.1. Genel sağkalım üzerine etkisi

COX-2 negatif ve COX-2 pozitif Luminal A tipi meme kanserlerinin 5 yıllık GS'leri benzerdi (sırası ile %91,1 ve %90; $p=0,69$). COX-2 negatif ve COX-2 pozitif Luminal B tipi meme kanserlerinin 5 yıllık GS'leri benzerdi (sırası ile %85,5 ve %100; $p=0,29$). COX-2 negatif ve COX-2 pozitif HER2/neu tipi meme kanserlerinin 5 yıllık GS'leri benzerdi (sırası ile %50 ve %100; $p=0,11$). COX-2 negatif ve COX-2 pozitif bazal tipi meme kanserlerinin 5 yıllık GS'leri benzerdi (sırası ile %88,2 ve %100; $p=0,3$; Tablo18).

Tablo 18. Moleküler alt grupların COX-2 ekspresyonuna göre sınıflandırmasının genel sağkalım üzerine etkisi

	Luminal A Tipi			Luminal B Tipi			HER2/neu Tipi			Bazal Tip		
	COX-2 (-)	COX-2 (+)	<i>p</i>	COX-2 (-)	COX-2 (+)	<i>p</i>	COX-2 (-)	COX-2 (+)	<i>p</i>	COX-2 (-)	COX-2 (+)	<i>p</i>
5 yıllık GS	%91,1	%90	0,69	%85,7	%100	0,29	%50	%100	0,11	%88,2	%100	0,3

4.5.2. Hastalıksız sağkalım üzerine etkisi

COX-2 negatif ve COX-2 pozitif Luminal A tipi meme kanserlerinin 5 yıllık HS'leri benzerdi (sırası ile %87,4 ve %88,8; $p=0,3$). COX-2 negatif ve COX-2 pozitif Luminal B tipi meme kanserlerinin 5 yıllık HS'leri benzerdi (sırası ile %85,7 ve %100; $p=0,92$). COX-2 negatif ve COX-2 pozitif HER2/neu tipi meme kanserlerinin 5 yıllık HS'leri benzerdi (sırası ile %66,7 ve %100; $p=0,19$). COX-2 negatif ve COX-2 pozitif bazal tipi meme kanserlerinin 5 yıllık HS'leri benzerdi (sırası ile %81,4 ve %100; $p=0,18$; Tablo19).

Tablo 19. Moleküler alt grupların COX-2 ekspresyonuna göre sınıflandırmasının genel sağkalım üzerine etkisi

	Luminal A Tipi			Luminal B Tipi			HER2/neu Tipi			Bazal Tip		
	COX-2 (-)	COX-2 (+)	<i>p</i>	COX-2 (-)	COX-2 (+)	<i>p</i>	COX-2 (-)	COX-2 (+)	<i>p</i>	COX-2 (-)	COX-2 (+)	<i>p</i>
5 yıllık HS	%87,4	%88,8	0,3	%85,7	%100	0,92	%66,7	%100	0,19	%81,4	%100	0,18

4.5.3. Meme kanserine özgün sağkalım üzerine etkisi

COX-2 negatif ve COX-2 pozitif Luminal A tipi meme kanserlerinin 5 yıllık MKÖS'leri benzerdi (sırası ile %93,8 ve %100; $p=0,18$). COX-2 negatif ve COX-2 pozitif Luminal B tipi meme kanserlerinin 5 yıllık MKÖS'leri benzerdi (sırası ile %85,7 ve %100; $p=0,29$). COX-2 negatif ve COX-2 pozitif HER2/neu tipi meme kanserlerinin 5 yıllık MKÖS'leri benzerdi (sırası ile %100 ve %100; $p=-$). COX-2 negatif ve COX-2 pozitif bazal tipi meme kanserlerinin 5 yıllık MKÖS'leri benzerdi (sırası ile %88,2 ve %100; $p=0,3$; Tablo20).

Tablo 20. Moleküler alt grupların COX-2 ekspresyonuna göre sınıflandırmasının genel sağkalım üzerine etkisi

	Luminal A Tipi			Luminal B Tipi			HER2/neu Tipi			Bazal Tip		
	COX-2 (-)	COX-2 (+)	<i>p</i>	COX-2 (-)	COX-2 (+)	<i>p</i>	COX-2 (-)	COX-2 (+)	<i>p</i>	COX-2 (-)	COX-2 (+)	<i>p</i>
5 yıllık MKÖS	%93,8	%100	0,18	%85,7	%100	0,29	%100	%100	-	%88,2	%100	0,3

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada *COX-2* ekspresyonu artışının 5 yıllık meme kanseri genel, hastalıksız ve meme kanserine özgün sağkalımını anlamlı olarak etkilemediği görülmüştür. Prognostik ve prediktif faktörler arasından sadece Ki67 ekspresyonunun *COX-2* ekspresyonu ile ilişkisi olduğu, Ki67 ekspresyonu yüksek olan meme kanserli hastalarda *COX-2* ekspresyonunun anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmıştır. Genel sağkalım üzerinde etkili bağımsız faktör olarak sadece PR ekspresyonu saptanmıştır. PR ekspresyonu negatif olan hastaların pozitif olanlara göre genel sağkalımının azaldığı görülmüştür. Hastalıksız sağkalım üzerinde etkili bağımsız faktörlerin ise tümör çapı ve moleküler alt gruplama olduğu saptanmıştır. Tümör çapı artmasıyla ve moleküler alt grupların luminal B tipinde ve bazal tipinde hastalıksız sağkalımın azaldığı görülmüştür. Meme kanserine özgün sağkalım üzerinde etkili bağımsız faktör olarak sadece PR ekspresyonu saptanmıştır. PR ekspresyonu negatif olan hastaların pozitif olanlara göre meme kanserine özgün sağkalımının azaldığı görülmüştür. Her bir moleküler alt grupta *COX-2* ekspresyonunun varlığının 5 yıllık genel sağkalım, hastalıksız sağkalım ve meme kanserine özgün sağkalım üzerine etkisinin olmadığı gösterilmiştir.

Çalışmanın güçlü yönleri arasında en önemlisi, başlangıçta çalışmaya alınma kriterleri ve çalışmadan çıkarılma kriterleri belirlenerek homojen bir hasta popülasyonuna ulaşılmıştır. Bu şekilde çalışmanın homojenitesini bozacak ve sonuçları farklı etkileyecek hasta grupları en baştan ekarte edilmiştir. Evre 4 meme kanseri hastaları, inflamatuvar meme kanseri hastaları, DKİS tanıli hastalar, yeterli lokal tedavi almamış olan hastalar, takipleri eksik olan veya ulaşılmayan hastalar çalışmaya alınmamıştır. Ayrıca *COX-2* ekspresyonunun değerlendirilmesi aşamasında tüm preperatlarda tek bir patoloğun kör olarak değerlendirmeyi yapması çalışmanın tarafsızlığını sağlamıştır. Bu çalışmanın daha önceki benzerlerinden farklı yönleri mevcuttur. Çalışmanın en başta gelen orijinalliği moleküler alt gruplandırmaya *COX-2* ekspresyonunun entegre edilerek sağkalım analizlerinin yapılmasının amaçlanmasıdır. Yine bu çalışmada farklı olarak *COX-2* ekspresyonunun sadece genel sağkalım değil hastalıksız ve meme kanserine özgün sağkalım üzerindeki etkileri de araştırılmıştır.

Öte yandan bu çalışmanın en önemli zayıf yönleri retrospektif olması ve çalışmaya alınabilen hasta sayısının azlığıdır. Başlangıçta hedeflenen zaman dilimi içerisinde tanı konulup tedavisi yapılan hasta sayısı 647 iken çalışmadan çıkarılanlar sonrasında bu sayının 217'ye düşmüş olması çalışmanın gücünü azaltmıştır. Az hasta sayısının getirdiği dezavantaj özellikle moleküler alt gruplarda *COX-2* ekspresyonunun sağkalım üzerine etkisi analiz edilirken belirgin hale gelmiştir. Moleküler alt grupların kendi içinde *COX-2* negatif ve pozitif olarak stratifiye edildiği analizlerde her bir grupta yer alan hasta sayısı daha da yetersiz hale gelmiştir. Ayrıca İHK ile HER2/neu 2+ olanlarının pozitif veya negatif olarak değerlendirilebilmesi için ileri tetkik olarak FISH testinin çok az hastada yapılmış olması da yine analizlerde kullanılan hasta sayısını azaltmıştır. Bu nedenden ötürü bu grupların sağkalım analizlerinde yaşam grafikleri değerlendirilememiştir. Çalışmanın bir diğer kısıtlılığı, çalışmaya alınan hastaların özellikle sağkalım sonuçlarına etki edebilecek olan selektif *COX-2* inhibitörü veya klasik NSAİİ kullanım öykülerinin analiz edilememiş olmasıdır. Aslında çalışmanın kurgusu içerisinde bu durumu değerlendirmek için hastalara bu ilaçları kullandıklarına dair sistematik bir sorgulama yapılmıştır. Ancak buna ait veriler hastaların yeterli bilgi vermemesi nedeni ile çok az elde edilebilmiştir. Bu nedenle *COX-2* inhibitörü veya klasik NSAİİ kullanımının çalışmanın çıkarımları üzerindeki etkisi değerlendirilememiştir. Çalışmanın bir diğer zayıf noktası da ortalama takip süresinin kısalığıdır. Çalışmaya alınan hastaların ortalama takip süresi yaklaşık 3 yıl idi. Bu da özellikle sağkalım analizleri için seçilen hasta grubunun yüksek sağkalım beklentisi de göz önüne alındığında oldukça kısa bir süre idi.

Çalışmanın sonuçları daha önce yayınlanmış çalışmalarla karşılaştırıldığı zaman tam bir benzerlik göstermemektedir. Önceki çalışmalarda genel olarak *COX-2* ekspresyonunun varlığı meme kanseri genel sağkalımını olumsuz yönde etkilediği gösterilmiştir (42, 60, 61). Bu çalışmada ise böyle bir etkinin varlığı gösterilememiştir. Aksine Kaplan-Meier sağkalım analizi ve yaşam grafiklerine bakıldığında *COX-2* ekspresyonunun negatif olduğu hastalarda, istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte, sağkalım oranlarının daha kötü seyrettiği görülmüştür. Ancak takip süresi ilerledikçe bu durumun değiştiği ve *COX-2* ekspresyonu pozitif olan hastaların genel ve meme kanserine özgün sağkalımlarının kötüye gitmeye

başladığı dikkati çekmektedir. Hem takip süresinin kısalığı hem de uzun takip sürelerine sahip hasta sayısının yetersiz olması *COX-2* ekspresyonunun prognostik önemi konusunda kesin yargıya varmayı engellemektedir. Öte yandan bahsi geçen diğer çalışmaların takip süreleri en az ortalama 60 ay olarak verilmiştir (42, 60). Daha önceki kısıtlı sayıdaki çalışmalardan sadece bir tanesi bizim çalışmamız ile benzer sonuçlardan bahsetmiş ve *COX-2* ekspresyonunun meme kanserinin sağkalımı için prognostik bir faktör olarak saptanmadığını bildirmiştir (62). Ancak bizim çalışmamızda gruplar arasında fark olmamasına yol açabilecek bir diğer unsur ise zaten bu çalışma için seçilmiş hasta grubunun yaşam beklentilerinin çok yüksek olması olabilir. Beklendiği gibi erken evre meme kanserinin sağkalım oranları oldukça iyi seyretmektedir. Sağkalımları kötü seyretmesi beklenen inflamatuvar meme kanseri gibi ileri evre hastalar ve metastatik hastalar çalışmaya alınmamıştır. Bu çalışmanın bulgularına bakıldığı zaman 5 yıllık genel sağkalımların %90'ın üzerinde olduğu görülmektedir. Bunun bir diğer nedeni çalışmanın örnekleminde standart dışı tedavi uygulanan ve tedavisini eksik alan hastaların yer almamasıdır.

Bilindiği üzere ÖR ve PR ekspresyonunun negatif olması, HER2/neu ekspresyonunun pozitif olması, tümör çapının artması, tümör gradının artması, aksillada metastaz olması, patolojik evrenin artması, yaşı ileri olması meme kanseri için kötü prognostik faktörlerdir (78). *COX-2* ekspresyonunun fizyolojik etkilerine bakıldığı zaman, ürettiği prostaglandinlerle kanseri ilerlettiği bilinmektedir (19, 32, 33, 34). Bu da meme kanserinin agresifliğini arttırmakta ve *COX-2* ekspresyonunun da meme kanseri için kötü bir prognostik faktör olduğunu göstermektedir (42, 43, 48). Ayrıca *COX-2* ekspresyonunun önceden kanıtlanmış kötü prognostik faktörler ile ilişkili olduğu da düşünülmektedir (42, 71). Bu ilişki birçok çalışmayla aydınlatılmaya çalışılmıştır. Öncelikle kötü prognostik faktörlerden sayılan, ÖR ve PR ekspresyonu olmayıp HER2/neu ekspresyonu olan hastalarda *COX-2* ekspresyonunun daha yüksek olduğu gösterilmiştir (42, 60, 71). Bununla birlikte yine bir diğer kötü prognostik faktör olan Ki67 ekspresyonu ile ilişki de ortaya konulmuştur. Burada da Ki67 ekspresyonu artmış olan hastalarda, *COX-2* ekspresyonunun da arttığı gösterilmiştir (14, 72). Bir başka kötü prognostik faktör olan artmış yaş ile de *COX-2* ekspresyonu arasındaki ilişki aydınlatılmıştır. Meme kanseri hastalarında yaşı artmasıyla beraber *COX-2* ekspresyonunun arttığı da

gösterilmiştir (45). Bu çalışmada ise COX-2 ekspresyonunun sadece Ki67 ekspresyonu ile anlamlı ilişkisi gösterilmiştir. Ki67 ekspresyonu arttıkça, COX-2 ekspresyonu pozitifleşmektedir. Anlamlı olmamakla birlikte, beklentinin aksine, COX-2 pozitif hastalarının ortalama tümör çapı, T evresi, histolojik gradı ve patolojik evresi daha düşük, aksillası da çoğunlukla N₀ olarak tespit edilmiştir. Yine daha önceki yayınlarda ÖR ve PR ekspresyonu negatif olup HER2/neu ekspresyonu pozitif olan hastalarda COX-2 ekspresyonunun pozitif olduğu bildirilirken (42, 60, 71), bizim çalışmamızda, aksine, ÖR ve PR ekspresyonu pozitif olup, HER2/neu ekspresyonu negatif olan hastalarda COX-2 pozitifliği daha yüksek çıkmıştır. Bu bulguları değerlendirirken özellikle İHK ile yapılan skorlamalarda tek bir patoloji uzmanının değerlendirme yapmış olmasını göz önüne almak gerekir. Çünkü bu skorlamaların semikantitatif bir yöntemle yapılıyor olması da çalışmanın sonuçlarını etkileyen faktörlerden biri olabilmektedir. Sonuçta hücre sitoplazmasındaki boyanmanın ışık mikroskobu altında değerlendirilmesi yöntemiyle COX-2 ekspresyon düzeyi bildirilmiştir. Bu skorlamayı aynı preperat için birden fazla patoloji uzmanının yapmamış olması kişilerarası değerlendirme değişkenliğini (*interobserver variability*) ortaya koyamamamıza yol açmıştır. Daha önce bu konuda yapılmış çalışmalarda bu hata payını ortadan kaldırmak için farklı birkaç patoloji uzmanı aynı preperatları değerlendirmiş ve sonuçlar için ortak bir değerlendirmeye varılmıştır (45, 72, 73).

Meme kanseri için günümüzde tedaviyi şekillendirmek ve prognozu belirlemek amacıyla göz önüne alınan belli başlı prognostik ve prediktif faktörler vardır (78). Bu faktörlerin sağkalım açısından önemi çeşitli çalışmalarla ortaya konulmaya çalışılmıştır. Prognostik faktörlerin sağkalım üzerine etkileri incelendiğinde, MRM yapılan hastalarda GS ve HS'yi etkileyen faktörlerin başında nodal tutulum ve yanı sıra ileri grad ve aksiller yağ dokusu tutulumu olduğu görülmüştür (74). 10 yıllık sağkalımı etkileyen konvansiyonel prognostik faktörlerin en önemlilerinin tümör çapı, lenf nodu durumu ve grad olduğu gösterilmiştir (75). Meme kanserinin patolojik genel evrelendirmesinin de belirleyici prognostik faktör olduğu ispatlanmıştır (76). Bir diğer prognostik faktör olarak bilinen Ki67 ekspresyonunun sağkalımı olumsuz etkilediği, rutin klinik kullanımda meme kanseri için hem bir prognostik hem de prediktif faktör olarak kullanılması önerilmektedir

(77). Öte yandan son zamanlarda moleküler alt gruplamanın da prognostik bilgi verebildiği konusunda kanıtlar ortaya konmuştur. Örneğin bu gruplardan HER2/neu ve bazal tiplerinde meme kanseri sağkalımının kötü seyrettiği bilinmektedir (12). Bu prognostik ve prediktif faktörlerin hastanın genel ve hastalıksız sağkalımı konusunda bilgilendirici ve dolayısı ile tedavi kararlarında belirleyici olduğu belirtilmektedir (78). Bu çalışmada ise hem genel, hem hastalıksız, hem de meme kanserine özgün sağkalım üzerine etkileri olabilecek faktörler analiz edildiğinde GS ve MKÖS için sadece PR ekspresyonunun bağımsız prognostik bir faktör olduğu, HS için ise tümör çapı ve moleküler alt gruplamanın bağımsız anlamlı prognostik faktör olduğu ortaya çıkmıştır. PR ekspresyonu negatif olan hastaların GS ve MKÖS'lerinin daha kötü seyrettiği gözlenmiştir. Diğer prognostik faktörler ile GS ve MKÖS arasında anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir. Tümör çapının artması ve moleküler alt gruplardan luminal B tipin ve bazal tipin var olmasının HS'yi olumsuz etkilediği görülmüştür. Çalışmada ilginç olarak moleküler alt gruplardan luminal B tipi kansere sahip hastalarda hastalıksız sağkalımının bazal tip ve HER2/neu tiplerine kıyasla daha kötü seyrettiği saptanmıştır. Bu daha önceki çalışmalarla çelişki gösteren bir bulgudur. Moleküler alt gruplandırmanın sadece HS için anlamlı bir prognostik faktör olduğu, ancak GS veya MKÖS için anlamlı olmadığı sonucu elde edilmiştir. Daha önceki çalışmalarda moleküler alt gruplandırmanın meme kanseri sağkalımı üzerine etkili olduğu, meme kanseri sonuçlarını alt gruplandırma tiplerine bakarak değerlendirilebileceği gösterilmiştir. Ama hastalıksız sağkalım ile ilgili bir veri ortaya konmamıştır (12). Öte yandan moleküler alt gruplardan bazal tip meme kanseri hastalarında diğer tiplere oranla daha yüksek oranda beyin, akciğer ve uzak lenf nodu metastazı yaptıkları gösterilmiştir (79). Bu da meme kanseri moleküler alt gruplarının genel sağkalımı dolayısı ile etkileyecek metastatik yinelemeleri tahmin ettirebilecek bir faktör olduğunu ortaya koymaktadır . Yine HER2/neu ve bazal tip meme kanseri hastalarının bölgesel yineleme oranlarının, Luminal A ve B tiplerine göre çok daha fazla oranda olduğu gösterilmiştir (13). Bu bulgu başka bir çalışma ile de onaylanmıştır. Bu çalışmada Luminal A tipi meme kanseri hastalarının bölgesel yineleme açısından diğer gruplara oranla daha az riskli olduğunu gösterilmiştir (80). Bizim çalışmamızda ise bazal tip ile birlikte Luminal B tipinin de HS üzerine etkili olduğu ve bölgesel yinelemede anlamlı bir artışa yol açtığı açtığı görülmüştür.

Ayrıca benzer çalışmaların aksine HER2/neu alt tipi meme kanserinin diğer tiplere oranla daha kötü HSA sahip olmadığı görülmüştür.

Bu çalışmada moleküler alt grupların her biri kendi içerisinde COX-2 pozitif veya negatif olmasına göre gruplandırıldığında aralarında sağkalım farkı saptanmamıştır. Bilindiği kadarı ile bu tür bir klinik karşılaştırma daha önce hiç yapılmamıştır. Bu çalışmada böyle bir alt grup karşılaştırması yapılmak istenmesinin nedeni genel kohort üzerinde prognostik etkisi olduğu öne sürülen COX-2 ekspresyonunun bu etkisinin her bir moleküler alt grup için de geçerli olup olmadığını ortaya koymaktır. Ancak çalışmanın örnekleminin düşük sayıda olması yeterli kuvvette analiz yapamamıza yol açmıştır. Bu nedenle COX-2 ekspresyonunun moleküler alt gruplar içerisinde de ek bir prognostik etkiye sahip olduğu dışlanamamıştır.

Bu çalışmanın sonucunda COX-2 ekspresyonunun meme kanseri sağkalımı üzerine etkisi olmadığı ortaya konmasına rağmen, takibin ilerleyen aylarında COX-2 ekspresyonu pozitif hastalarda sağkalımın kötüye gitmesi COX-2 ekspresyonu varlığının meme kanseri için prognostik bir faktör olabileceği konusunda ipucu vermektedir. Ayrıca COX-2 reseptörünün inhibe edilmesiyle daha önce anlatılmış olan patofizyolojik yolların engellenerek kanserin ilerlemesinin önlenebileceği düşünülmektedir. Bu da COX-2 ekspresyonunun meme kanseri için prognostik bir faktör olmasının yanı sıra prediktif bir faktör de olabileceğini düşündürmektedir. Bu şekilde günümüzde kullanılan tedavi yöntemlerine ek olarak COX-2 reseptör inhibisyonu ek bir hedefe yönelik tedavi olarak kullanılabilecektir (66, 67, 68, 69). Özellikle ÖR ve PR negatif, HER2/neu pozitif hastaların adjuvan tedavilerinde COX-2 reseptör inhibisyonunun yeri olabileceği tahmin edilmektedir (59). Bundan sonra kurgulanacak çalışmalarda, kullanılan ilaç öyküsünün, yani COX-2 inhibitörü veya klasik NSAİİ kullanımının, da kayıt altına alınması ile COX-2 ekspresyonunun sağkalım üzerindeki etkileri daha objektif olarak değerlendirilebilecektir.

Sonuç olarak, bu çalışmada COX-2 ekspresyonunun meme kanseri olan hastaların genel, hastalıksız ve meme kanserine özgün sağkalımları üzerine anlamlı etkisi saptanmamıştır. Yine tüm prognostik faktörler ile birlikte analiz edildiğinde COX-2 ekspresyonunun her üç sağkalım tipinde de anlamlı bir etmen olmadığı cox regresyon analizi sonucu ortaya konmuştur. Ayrıca ilk kez bu çalışma ile araştırıldığı

şekliyle *COX-2* enzim aktivitesinin her bir moleküler alt grupta da anlamlı bir sağkalım farkı yaratmadığı gösterilmiştir. Bunların ötesinde Ki67 ekspresyonu dışında diğer bilinen klasik prognostik faktörler ile *COX-2* ekspresyonu seviyesi arasında da anlamlı bir benzerlik saptanmamıştır. Takip süresi ortalama en az 60 ay olan ve daha geniş örneklemleri prospektif bir çalışma ile hedeflediğimiz çıkarımların daha kuvvetle analiz edilmesi elde ettiğimiz bulguların geçerliliğini ortaya koyabilecektir.



6. SONUÇLAR

Bu çalışmada;

1. *COX-2* ekspresyonu artışının 5 yıllık meme kanseri genel sağkalımını anlamlı olarak etkilemediği görülmüştür.
2. *COX-2* ekspresyonu artışının 5 yıllık meme kanseri hastalıksız sağkalımını anlamlı olarak etkilemediği görülmüştür.
3. *COX-2* ekspresyonu artışının 5 yıllık meme kanserine özgün sağkalımı anlamlı olarak etkilemediği görülmüştür.
4. Prognostik ve prediktif faktörler arasından sadece Ki67 ekspresyonu yüksek olan meme kanserli hastalarda *COX-2* ekspresyonunun anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmıştır.
5. Genel sağkalım üzerinde etkili bağımsız faktör olarak sadece PR ekspresyonu saptanmıştır. PR ekspresyonu negatif olan hastaların pozitif olanlara göre genel sağkalımının azaldığı görülmüştür.
6. Hastalıksız sağkalım üzerinde etkili bağımsız faktörler olarak tümör çapı ve moleküler alt gruplama saptanmıştır. Tümör çapının artması ile luminal B tipi ve bazal tipte moleküler alt grupta olunmasının hastalıksız sağkalımı azalttığı görülmüştür.
7. Meme kanserine özgün sağkalım üzerinde etkili bağımsız faktör olarak sadece PR ekspresyonu saptanmıştır. PR ekspresyonu negatif olan hastaların pozitif olanlara göre meme kanserine özgün sağkalımlarının azaldığı görülmüştür.
8. Her bir moleküler alt grupta *COX-2* ekspresyonunun varlığının 5 yıllık genel sağkalım üzerine etkisinin olmadığı saptanmıştır.
9. Her bir moleküler alt grupta *COX-2* ekspresyonunun varlığının 5 yıllık hastalıksız sağkalım üzerine etkisinin olmadığı saptanmıştır.
10. Her bir moleküler alt grupta *COX-2* ekspresyonunun varlığının 5 yıllık meme kanserine özgün sağkalım üzerine etkisinin olmadığı saptanmıştır.

7. KAYNAKLAR

1. Boyle P, Levin B. WHO World Cancer Report 2008. pp.12-39, International Agency for Research on Cancer Press, Lyon, France, 2008.
2. WHO (World Health Organisation), Breast cancer: prevention and control, 2010, <http://www.who.int/cancer/detection/breastcancer/en/index1.html>
3. WHO (World Health Organisation), Fact sheet No.297: Cancer , 2010, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/index.html>
4. The Independent, Breast cancer cases rise 80% since Seventies, 2009, <http://www.independent.co.uk/life-style/health-and-families/health-news/breast-cancer-cases-rise-80-since-seventies-417990.html>
5. Imaginis, Breast Cancer: Statistics on Incidence, Survival, and Screening, 2008, <http://www.imaginis.com/breast-health/breast-cancer-statistics-on-incidence-survival-and-screening-2>
6. Stewart BW, Kleihues P. WHO World Cancer Report 2003. pp.12-17, International Agency for Research on Cancer Press, Lyon, France, 2003.
7. WebMD, Breast Cancer: Breast Cancer in Young Women, 2010, <http://www.webmd.com/breast-cancer/guide/breast-cancer-young-women?page=2>
8. Eser S, Olcayto E, Karakılınç H, Karaoğlanoğlu O, Yakut C, Ozalan S, Üçüncü N, Anbaroğlu Z, Ergün A, Akın Ü, Yazıcı M, Özdemir R, Özgül N, Tuncer M. Nüfus tabanlı kanser kayıt merkezleri veri havuzu: Sekiz İl, 2004-2006 Değerlendirilmesi. T.C. Sağlık Bakanlığı Kanserle Savaş Daire Başkanlığı, 2006.
9. Merck Manual Online, Breast Cancer, 2008, <http://www.merck.com/mmpe/sec18/ch253/ch253e.html?qt=breastcancer&alt=sh#sec18-ch253-ch253e-517>
10. CancerMath.net, Calculates survival breast cancer based on prognostic factors and treatment. From the Laboratory for Quantitative Medicine, Massachusetts General Hospital, 2010, <http://www.lifemath.net/cancer/breastcancer>

11. Demirelli FH. Hedefe yönelik kanser tedavisi ve monoklonal antikorlar. ANKEM Derg 2005;19(2):123-125.
12. Marc PJ, Nuala AH, Michael JK. Breast cancer subtypes and molecular biomarkers. Diagnostic Histopathology 2009; 15(10): 485-489.
13. Gabos Z, Thoms J, Ghosh S, Hanson J, Dechenes J, Sabri S, Abdulkarim B. The association between biological subtype and locoregional recurrence in newly diagnosed breast cancer. Breast Cancer Res Treat 2010 (basılma aşamasında)
14. Cheang MC, Chia SK, Voduc D, Gao D, Leung S, Snider J, Watson M, Davies S, Bernard PS, Parker JS, Perou CM, Ellis MJ, Nielsen TO. Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. J Natl Cancer Inst 2009; 101(10): 736-750.
15. Piomelli D. Arachidonic Acid, Neuropsychopharmacology: The Fifth Generation of Progress, 2006, <http://www.acnp.org/g4/GN401000059/Default.htm>
16. Colin D. Prostaglandins and Leukotriens: Advances in Eicosanoid Biology. Science 2006; 294 (5548): 1871-1875.
17. Smith WL, DeWitt DL, Garavito RM. Cyclooxygenases: structural, cellular, and molecular biology. Annu Rev Biochem 2000; 69: 145-182.
18. Eicosanoids and Inflammation, University of Kansas Medical Center, 2004, http://classes.kumc.edu/som/bioc801/small_group/eicosanoids/eicosanoids-2004
19. Dannenberg AJ, Lipman SM, Mann JR, Subbaramaiah K, DuBois RN. Cyclooxygenase-2 and epidermal growth factor receptor: pharmacologic targets for chemoprevention. J Clin Oncol 2005; 23(2): 254-266.
20. Samuelsson B, Dahlen SE, Lindgren JA, Rouzer CA, Serhan CN. Leukotriens and lipoxins: structures, biosynthesis, and biological effects. Science 1987; 237 (4819):1171-1176.
21. Boyce J. Eicosanoid mediators of mast cells: receptors, regulation of synthesis, and pathobiologic implications. Chem Immunol Allergy 2005; 87: 57-79.
22. Nelson RJ. An introduction to behaviour endocrinology. pp 100-101, Springer Science and Business Media Press, Sinauer Associates Inc., Sunderland, Massachusetts, USA, 2005.

23. Chandrasekharan NV, Dai H, Roos KL, Evanson NK, Tomsik J, Elton TS, Simmons DL. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/ antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99(21): 13926-13931.
24. Jones DA, Carlton DP, McIntyre TM, Zimmerman GA, Prescott SM. Molecular cloning of human prostaglandin endoperoxide synthase type II and demonstration of expression in response to cytokines. *J Biol Chem* 1993; 268(12): 9049-9054.
25. Prescott SM, White RL. Self-promotion? Intimate connections between APC and prostaglandin H synthase-2. *Cell* 1996; 87(5): 783-786.
26. Subbaramaiah K, Altorki N, Chung WJ, Mestre JR, Sampat A, Dannenberg AJ. Inhibition of cyclooxygenase 2 gene expression by p53. *J Biol Chem* 1999; 274(16): 10911-10915.
27. Xie WL, Chipman JG, Robertson DL, Erikson RL, Simmons DL. Expression of a mitogen-responsive gene encoding prostaglandin synthase is regulated by mRNA splicing. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88(7): 2692-2696.
28. Hla T, Neilson K. Human cyclooxygenase-2 cDNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89(16): 7384-7388.
29. Entrez Gene, PTGS2 prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (prostaglandin G/H synthase and cyclooxygenase, 2010, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?Db=gene&Cmd=retrieve&dopt=full_report&list_uids=5743
30. Kerney PM, Baigent C, Godwin J, Halls H, Emberson JR, Patrono C. Do selective cyclo-oxygenase-2 inhibitors and traditional non-steroidal anti-inflammatory drugs increase the risk of atherothrombosis? Meta-analysis of randomised trials. *BMJ* 2006; 332 (7553): 1302-1308.
31. Menter DG, Schilsky RL, Dubois RN. Cyclooxygenase-2 and cancer treatment: understanding the risk should be worth the reward. *Clin Cancer Res* 2010; 16(5): 1384-1390.
32. Liu CH, Chang SH, Narko K, Trifan OC, Wu MT, Smith E, Haudenschild C, Lane TF, Hla T. Overexpression of cyclooxygenase-2 is sufficient to induce tumorigenesis in transgenic mice. *J Biol Chem* 2001; 276(21): 18563-18569.

33. Howe LR, Chang SH, Tolle KC, Dillon R, Young LJ, Cardiff RD, Newman RA, Yang P, Thaler HT, Muller WJ, Hudis C, Brown AM, Hla T, Subbaramaiah K, Dannenberg AJ. HER2/neu-induced mammary tumorigenesis and angiogenesis are reduced in cyclooxygenase-2 knockout mice. *Cancer Res* 2005; 65(21): 10113-10119.
34. Wang D, DuBois RN. Cyclooxygenase-2: a potential target in breast cancer. *Semin Oncol* 2004; 31(1): 64-73.
35. Howe LR. Inflammation and breast cancer. Cyclooxygenase/prostaglandin signaling and breast cancer. *Breast Cancer Res* 2007; 9(4): 210-219.
36. Lanas A. Nonsteroidal antiinflammatory drugs and cyclooxygenase inhibition in the gastrointestinal tract: a trip from peptic ulcer to colon cancer. *Am J Med Sci* 2009; 338(2): 96-106.
37. Elwood PC, Gallagher AM, Duthie GG, Mur LA, Morgan G. Aspirin, salicylates, and cancer. *Lancet* 2009; 373(9671): 1301-1309.
38. U.S. Preventive Services Task Force. Routine aspirin or nonsteroidal anti-inflammatory drugs for the primary prevention of colorectal cancer: U.S. Preventive Services Task Force recommendation statement. *Ann Intern Med* 2007; 146(5): 361-364.
39. Loukanov TS, Kirilov M, Fürstenberg G, Müller-Decker K. Localization of cyclo-oxygenase-2 in human recurrent colorectal cancer. *Clin Invest Med* 2010; 33(1): 22-29.
40. Buskens CJ, Van Rees BP, Sivula A, Reitsma JB, Haglund C, Bosma PJ, Offerhaus GJ, Van Lanschot JJ, Ristimäki A. Prognostic significance of elevated cyclooxygenase 2 expression in patients with adenocarcinoma of the esophagus. *Gastroenterology* 2002; 122(7): 1800-1807.
41. Keser SH, Gül AE, Barışık NO, Cakır C, Senses S, Kandemir NO, Karadayı N. The relationship of COX-2 expression with estrogen receptor, progesterone receptor and prognostic parameters in endometrial carcinomas. *J Obstet Gynaecol Res* 2010; 36(3): 560-566.
42. Ristimäki A, Sivula A, Lundin J, Lundin M, Salminen T, Haglund C, Joensuu H, Isola J. Prognostic significance of elevated cyclooxygenase-2 expression in breast cancer. *Cancer Res* 2002; 62(3): 632-635.

43. Boland GP, Butt IS, Prasad R, Konx WF, Bundred NJ. COX-2 expression is associated with an aggressive phenotype in ductal carcinoma in situ. *Br J Cancer* 2004; 90(2): 423-429.
44. Shim V, Gauthier ML, Sudilovsky D, Mantei K, Chew KL, Moore DH, Cha I, Tisty TD, Esserman LJ. Cyclooxygenase-2 expression is related to nuclear grade in ductal carcinoma in situ and is increased in its normal adjacent epithelium. *Cancer Res* 2003; 63(10): 2347-2350.
45. Visscher DW, Pankratz VS, Santisteban M, Reynolds C, Ristimaki A, Vierkant RA, Lingle WL, Frost MH, Hartmann LC. Association between cyclooxygenase-2 expression in atypical hyperplasia and risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2008; 100(6): 421-427.
46. Costa C, Soares R, Reis –Filho JS, Leitao D, Amendoeira I, Schmitt FC. Cyclooxygenase-2 expression is associated with angiogenesis and lymph node metastasis in human breast cancer. *J Clin Pathol* 2002; 55(6): 429-434.
47. Davies G, Salter J, Hills M, Martin LA, Sacks N, Dowsett M. Correlation between cyclooxygenase-2 expression and angiogenesis in human breast cancer. *Clin Cancer Res* 2003; 9(7): 2651-2656.
48. Denkert C, Winzer KJ, Müller BM, Weichert W, Pest S, Köbel M, Kristiansen G, Reles A, Siegert A, Guski A, Hauptman S. Elevated expression of cyclooxygenase-2 is a negative prognostic factor for disease free survival and overall survival in patients with breast carcinoma. *Cancer* 2003; 97(12): 2978-2987.
49. Shim JY, An HJ, Lee YH, Kim SK, Lee KP, Lee KS. Overexpression of cyclooxygenase-2 is associated with breast carcinoma and its poor prognostic factors. *Mod Pathol* 2003; 16(12): 1199-1204.
50. Tan KB, Yong WP, Putti TC. Cyclooxygenase-2 expression: a potential prognostic and predictive marker for high grade ductal carcinoma in situ of the breast. *Histopathology* 2004; 44(1): 24-28.
51. Bulum SE, Price TM, Aitken J, Mahendroo MS, Simpson ER. A link between breast cancer and local estrogen biosynthesis suggested by quantification of breast adipose tissue aromatase cytochrome P450 transcripts using competitive

- polymerase chain reaction after reverse transcription. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 77(6): 1622-1628.
52. Brodie AM, Lu Q, Long BJ, Fulton A, Chen T, Macpherson N, DeJong PC, Blankenstein MA, Nortier JW, Slee PH, van de Ven J, van Gorp JM, Elbers JR, Schipper ME, Blijham GH, Thijssen JH. Aromatase and COX-2 expression in human breast cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2001; 79(1-5): 41-47.
 53. Diaz-Cruz ES, Shapiro CL, Brueggemeier RW. Cyclooxygenase inhibitors suppress aromatase expression and activity in breast cancer cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90(5): 2563-2570.
 54. Richards JA, Brueggemeier RW. Prostaglandin E2 regulates aromatase activity and expression in human adipose stromal cells via two distinct receptor subtypes. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(6): 2810-2816.
 55. Subbaramaiah K, Hudis C, Chang SH, Hla T, Dannenberg AJ. EP2 and EP4 receptors regulates aromatase expression in human adipocytes and breast cancer cells. Evidence of a BRCA1 and p300 exchange . *J Biol Chem* 2008; 283(6): 3433-3444.
 56. Perrone G, Zagami M, Santini D, Vincenzi B, Gullotta G, Morini S, Battista C, Guerriero G, Altomare V, Tonini G, Rabitti C. COX-2 expression in lobular in situ neoplasia of the breast: correlation with histopathological grading system according to the Tavassoli classification. *Histopathology* 2007; 51(1): 33-39.
 57. Dohadwala M, Yang SC, Luo J, Sharma S, Batra RK, Huang M, Lin Y, Goodglick L, Krysan K, Fishbein MC, Hong L, Lai C, Cameron RB, Gemmill RM, Drabkin HA, Dubinett SM. Cyclooxygenase-2 dependent regulation of E-cadherin: prostaglandin E(2) induces transcriptional repressors ZEB1 and snail in non-small cell lung cancer. *Cancer Res* 2006; 66(10): 5338-5345.
 58. Mann JR, Backlund MG, Buchanan FG. Repression of prostaglandin dehydrogenase by epidermal growth factor and snail increases prostaglandin E2 and promotes cancer progression. *Cancer Res* 2006; 66(13): 6649-6656.
 59. Half E, Tang XM, Gwyn K, Sahin A, Wathen K, Sinicrope FA. Cyclooxygenase-2 expression in human breast cancer and adjacent ductal carcinoma in situ. *Cancer Res* 2002; 62(6): 1676-1681.

60. Subbaramaiah K, Norton L, Gerald W, Dannenberg AJ. Cyclooxygenase-2 is overexpressed in HER2/neu-positive breast cancer. Evidence for involvement of AP-1 and PEA3. *J Biol Chem* 2002; 277(21): 18649-18657.
61. Boland GP, Butt IS, Prasad R, Knox WF, Bundred NJ. COX-2 expression is associated with an aggressive phenotype in ductal carcinoma in situ. *Br J Cancer* 2004; 90(2): 423-429.
62. Younis T, Hache KD, Rayson D, Dewar R, Gray S, Barnes PJ. Survivin and COX-2 expression in male breast carcinoma. *Breast* 2009; 18(4): 228-232.
63. Harris RE, Alshafie GA, Abou-Issa HM, Seibert K. Chemoprevention of breast cancer in rats by celecoxib, a cyclooxygenase 2 inhibitor. *Cancer Res* 2000; 60(8): 2101-2103.
64. Alshafie GA, Abou-Issa HM, Seibert K, Harris RE. Chemotherapeutic evaluation of Celecoxib, a cyclooxygenase-2 inhibitor, in rat mammary tumor model. *Oncol Rep* 2000; 7(5): 1377-1381.
65. Connolly EM, Harmey JH, O'Grady T, Foley, Roche-Nagle G, Kay E, Bouchier-Hayes DJ. Cyclo-oxygenase inhibition reduces tumor growth and metastasis in an orthotopic model of breast cancer. *Br J Cancer* 2002; 87(2): 231-237.
66. Harris RE, Beebe-Donk J, Doss H. Aspirin, ibuprofen, and other non-steroidal anti-inflammatory drugs in cancer prevention: a critical review of non-selective COX-2 blockade. *Oncol Rep* 2005; 13(4): 559-583.
67. Harris RE, Beebe-Donk J, Alshafie GA. Reduction in the risk of human breast cancer by selective cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitors. *BMC Cancer* 2006; 6: 27-31.
68. Arun B, Goss P. The role of COX-2 inhibition in breast cancer treatment and prevention. *Semin Oncol* 2004; 31(2): 22-29.
69. Agrawal A, Fentiman IS. NSAIDs and breast cancer: a possible prevention and treatment strategy. *Int J Clin Pract* 2008; 62(3): 444-449.
70. Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA, Holt JA, Wong SG, Keith DE, Levin WJ, Stuart SG, Udove J, Ullrich A. Studies of the HER-2/neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer. *Science* 1989; 244: 707-712.
71. Liu XH, Rose DP. Differential expression and regulation of cyclooxygenase in two human breast cancer cells lines. *Cancer Res* 1996; 56(22): 5125-5127.

72. Kerlikowske K, Molinaro AM, Gauthier ML, Berman HK, Waldman F, Bennington J, Sanchez H, Jimenes C, Stewardt K, Chew K, Lyung BM, Tlsty TD. Biomarker expression and risk of subsequent tumors after initial ductal carcinoma in situ diagnosis. *J Natl Cancer Inst* 2010; 102(9): 585-587.
73. Rosa FE, Caldeira JR, Felipes J, Bertonha FB, Quevedo FC, Domingues MA, Moraes Neto FA, Rogatto SR. Evaluation of estrogen receptor alpha and beta and progesterone receptor expression and correlation with clinicopathologic factors and proliferative marker Ki-67 in breast cancers. *Hum Pathol* 2008; 39(5): 720-730.
74. Dağlar G, Yüksek YN, Gözalan U, Kama NA. Meme kanserinde genel ve hastalıksız sağ kalımı etkileyen faktörlerin analizi. *Meme Sağlığı Dergisi* 2009; 5: 98-103.
75. Soerjomataram I, Louwman MWJ, Ribot JG, Roukema JA, Coebergh JWW. An overview of prognostic factors for long-term survivors of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2008; 107(3): 309-330.
76. Razaianzadeh A, Peacock J, Reidpath D, Talei A, Hosseini SV, Mehrabani D. Survival analysis of 1148 women diagnosed with breast cancer in Southern Iran. *BMC Cancer* 2009; 5: 9-168.
77. Wiesner FG, Magener A, Fasching PA, Wesse J, Bani MR, Rauh C, Jud S, Schrauder M, Loehberg CR, Beckmann MW, Hartmann A, Lux MP. Ki-67 as a prognostic molecular marker in routine clinical use in breast cancer patients. *Breast* 2009; 18(2): 135-141.
78. Decker T, Hungermann D, Böcker W. Prognostic and predictive factors of invasive breast cancer: update 2009. *Pathologe* 2009; 30(1): 49-55.
79. Kennecke H, Yerushalmi R, Woods R, Cheang MC, Voduc D, Speers CH, Nielsen TO, Gelmon K. Metastatic behaviour of breast cancer subtypes. *J Clin Oncol* 2010; 28(20): 3271-3277.
80. Voduc KD, Cheang MC, Tyldesly S, Gelmon K, Nielsen TO, Kennecke H. Breast cancer subtypes and the risk of local and regional relapse. *J Clin Oncol* 2010; 28(10): 1684-1691.