

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**RATLARDA PARSİYEL ÖSTROJEN ANTAGONİSTİ
OLAN TAMOKSİFEN' İN VE AROMATAZ
İNİBİTÖRÜ OLAN LETROZOL' ÜN ENDOMETRİUM
ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI
VE NONSELEKTİF COX İNİBİTÖRÜ OLAN
ASETİLSALİSİLİK ASİT (ASİRİN) İLE
KOMBİNASYONU HALİNDEKİ ETKİLERİNİN
BELİRLENMESİ**

Dr. Hande TÖRE

Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

ESKİŞEHİR
2010

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**RATLARDA PARSİYEL ÖSTROJEN
ANTAGONİSTİ OLAN TAMOKSİFEN' İN VE
AROMATAZ İNHİBİTÖRÜ OLAN
LETROZOL'ÜN ENDOMETRİUM ÜZERİNE
OLAN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI VE
NONSELEKTİF COX İNHİBİTÖRÜ OLAN
ASETİLSALİSİLİK ASİT (ASİRİN) İLE
KOMBİNASYONU HALİNDEKİ ETKİLERİNİN
BELİRLENMESİ**

Dr. Hande TÖRE

**Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŐMANI
Prof. Dr. S. Sinan ÖZALP**

**ESKİŞEHİR
2010**

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

Dr. Hande TÖRE'ye ait 'Ratlarda parsiyel östrojen antagonisti olan tamoksifenin ve aromataz İnhibitörü olan letrozolün endometrium üzerine olan etkilerinin araştırılması ve non-selektif cox inhibitörü olan asetilsalisilik asit (aspirin) ile kombinasyonu halindeki etkilerinin belirlenmesi' adlı çalışma jürimiz tarafından Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih: 06/01/2010

| | | |
|--------------|-----------------------------------------------------------------------|------|
| Jüri Başkanı | Prof. Dr. S. Sinan ÖZALP Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı | İmza |
| Üye | Prof. Dr. Ömer T. YALÇIN Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı | İmza |
| Üye | Doç. Dr. Mustafa Fuat AÇIKALIN Patoloji Anabilim Dalı | İmza |

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu'nun
...../...../.....Tarih ve/..... Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Zübeyir KILIÇ
Dekan

TEŞEKKÜR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda yapmış olduğum uzmanlık eğitimim süresince bana bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren her zaman minnet ve saygıyla anacağım kıymetli hocalarım Prof. Dr. Hikmet HASSA' ya, Prof. Dr. Sinan ÖZALP' e, merhum Prof. Dr. Atilla YILDIRIM' a, Prof. Dr. Turgay ŞENER' e, Prof. Dr. Başar TEKİN' e, Prof. Dr. Ömer YALÇIN' a ve Doç. Dr. Mete TANIR' a, Öğr. Gör. Dr. Ahmet TURP' a, tezimin her aşamasında desteklerini gördüğüm Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Mustafa AÇIKALIN' a ve Öğr. Gör. Dr. Evrim ÇİFTÇİ' ye, Farmakoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Engin YILDIRIM' a, teorik ve pratik tecrübelerini benimle paylaşan Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Kubilay UZUNER ve Prof. Dr. Yasemin AYDIN' a, tez istatistiklerinin hazırlanmasında bana yardımcı olan Biyoistatistik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Canan BAYDEMİR' e, projenin tamamlanıp tez haline dönüştürülmesinde verdikleri maddi destekten dolayı Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı' na sonsuz sevgi ve şükranlarımı sunarım.

ÖZET

Töre, H. Ratlarda parsiyel östrojen antagonisti olan tamoksifenin ve aromataz inhibitörü olan letrozolün endometrium üzerine olan etkilerinin araştırılması ve nonselektif COX inhibitörü olan asetilsalisilik asit (aspirin) ile kombinasyonu halindeki etkilerinin belirlenmesi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2010. Östrojene uzun süre ve yüksek dozda maruziyet meme kanseri gelişiminde en önemli risk faktörlerinden biri olarak kabul edilmektedir. Tamoksifen meme kanserinin hormonal tedavisinde önemli bir yere sahiptir, ancak uzun süreli kullanımlarda endometriumda ciddi yan etkiler gösterebilmektedir. Tamoksifene alternatif olarak kullanılan aromataz inhibitörlerinden letrozol ise endometriumda düşük yan etki potansiyeline sahip olup son dönemlerde tercih edilen bir ilaçtır. Çalışmamızda ratlarda tamoksifen ve letrozole bağlı endometrial değişikliklerin karşılaştırılması, ayrıca nonselektif COX inhibitörü olan aspirinin bu ilaçlarla kombinasyonu halinde oluşan değişikliklerin immunohistokimyasal yöntemlerle ve serum VEGF-C ölçümü ile ortaya konması amaçlanmıştır. Çalışmaya 7 ayrı grup halinde toplam 70 rat dahil edilmiştir. Tamoksifenin tek başına uygulanması ile uterusu VEGF ve COX-2 ekspresyonu kontrol grubuna göre artarken aspirin ile kombine edildiğinde VEGF ve COX-2 ekspresyonu azalmaktadır. Çalışmamızda tamoksifen uygulanan grupta glandüler epitel ve stromada kontrol grubuna göre Ki-67 ekspresyonunda artış saptanmamıştır. Tamoksifen BCL-2 ekspresyonunu lüminal ve glandüler epitelde etkilemezken stromal hücrelerde azaltmaktadır. Gruplar arasında PECAM-1 ekspresyonu açısından anlamlı fark saptanmamıştır. Tamoksifenin serum VEGF-C düzeylerinde meydana getirdiği artış anlamlılığa ulaşmamıştır. Tamoksifenin COX-2 ve VEGF ekspresyonunu arttırması, bununla birlikte aspirinle kombine edildiğinde COX-2 ve VEGF ekspresyonunu azaltıcı etkinin gözlenmesi tamoksifen-aspirin kombinasyonunun tamoksifene bağlı gelişebilecek uterin patolojileri önlemede etkili olabileceğini düşündürmüştür.

Anahtar kelimeler: uterus, rat, tamoksifen, letrozol, aspirin

Destekleyen Kurumlar: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma ve Proje Kurulu, Proje no: 200911007

ABSTRACT

Töre, H. Researching the effects of tamoxifen which is a partial estrogen antagonist and letrozole which is an aromatase inhibitor on endometrium, and determining the effects when these drugs are combined with a non-selective COX inhibitor acetylsalicylic acid (aspirin) in rats. Eskisehir Osmangazi University Faculty of Medicine, Medical Speciality Thesis in Department of Gynecology and Obstetrics, Eskisehir, 2010. Exposing to estrogen for a long time and in a high dosage is accepted as one of the most important risk factors in breast cancer development. Tamoxifen has an important role in hormonal treatment of breast cancer, but when used for a long time it can cause serious side effects on endometrium. Aromatase inhibitor letrozole, which is used as an alternative to tamoxifen has lower side effect potential on endometrium and it is the preferred drug recently. In our study we aimed to compare the changes of endometrium caused by tamoxifen and letrozole in rats and also to determine the changes when these drugs are combined with aspirin which is a nonselective COX inhibitor by immunohistochemical methods and serum VEGF-C measurement. Seventy rats which are divided in to 7 groups are included in the study. When only tamoxifen is used, VEGF and COX-2 expression are found to be increased in uterus when compared with the controls. But when combined with aspirin, VEGF and COX-2 expressions are found to be decreased. In our study, in tamoxifen group no increase in Ki-67 expression in glandular epithelium and stroma is found. While tamoxifen does not effect BCL-2 expression in luminal and glandular epithelium, it causes a decrease in that of stromal cells. No significant difference in the PECAM-1 expression is found between the groups. The increase in the serum VEGF-C level caused by the tamoxifen is not found to be significant. COX-2 and VEGF expression is increased by only tamoxifen while combined with aspirin, COX-2 and VEGF expression is decreased. This idea gives us that the combination of tamoxifen and aspirin can be effective in preventing the uterine pathologies caused by the tamoxifen.

Key words: uterus, rat, tamoxifen, letrozole, aspirin

Eskisehir Osmangazi University Scientific Research Commision, P.N. 200911007.

İÇİNDEKİLER

| | Sayfa |
|-----------------------------------------------------------|-------|
| TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI | iii |
| TEŞEKKÜR | iv |
| ÖZET | v |
| ABSTRACT | vi |
| İÇİNDEKİLER | vii |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ | ix |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | xi |
| TABLOLAR DİZİNİ | xiii |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 4 |
| 2.1. Meme Kanseri | 4 |
| 2.2.Meme Kanserinde Tamoksifen | 5 |
| 2.1.1.Tamoksifenin Tarihçesi | 5 |
| 2.2.2.Tamoksifenin Farmakolojisi | 6 |
| 2.2.3.Tamoksifenin Etki Mekanizması | 7 |
| 2.2.4.Tamoksifenin Doz ve Uygulaması | 8 |
| 2.2.5.Tamoksifenin Etkileri | 8 |
| 2.2.6.Profilaktik Tamoksifen Kullanımı | 9 |
| 2.2.7.Tamoksifenin Yan Etkileri | 10 |
| 2.2.8.Tamoksifenin Endometrium Üzerine Etkisi | 11 |
| 2.3. Meme Kanserinde Aromataz İnhibitörleri | 12 |
| 2.3.1.Nonsteroidal Aromataz İnhibitörleri | 15 |
| 2.3.2.Steroidal Aromataz İnhibitörleri | 19 |
| 2.4. Non-steroidal Antiinflamatuvar İlaçlar | 19 |
| 2.4.1. Aspirin | 20 |
| 2.5. İmmünohistokimyasal Belirteçler ve Genel Özellikleri | 25 |
| 2.5.1.Siklooksijenaz Enzim Sistemi | 25 |
| 2.5.2.Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü | 29 |
| 2.5.3.Kİ-67 | 31 |
| 2.5.4.BCL-2 Ve Apoptozis | 31 |

| | |
|-----------------------|----|
| 2.5.5.PECAM-1 (CD-31) | 33 |
| 3.GEREÇ VE YÖNTEM | 35 |
| 4. BULGULAR | 42 |
| 5. TARTIŞMA | 68 |
| 6. SONUÇ VE ÖNERİLER | 83 |
| KAYNAKLAR | 85 |

SİMGELER VE KISALTMALAR

| | |
|----------|------------------------------------------------|
| ABD | Amerika Birleşik Devletleri |
| AEC | Aminoethylcarbazole |
| ASP | Aspirin |
| APC geni | Adenomatöz Polipozis Coli geni |
| BFGF | Basic fibroblast growth factor |
| BCL-2 | B- Cell Lymphoma/leukemia |
| Bax | BCL-2 associated X protein |
| COX | Siklooksijenaz |
| CO | Karbonmonoksit |
| DSÖ | Dünya Sağlık Örgütü |
| DMSO | Dimetil sülfoksit |
| DNA | Deoksiribonukleik asit |
| EGF | Epidermal büyüme faktörü |
| EH | Endotel hücresi |
| ER | Estrojen reseptörü |
| Erb | Erythroblastic leukemia viral oncogene homolog |
| Fas | CD95 / APO 1 |
| FDA | Food and Drug Administration |
| HETE | Hidroksieikosotetraenoik asit |
| HDL | High Density Lipoprotein |
| HRP | Horse radish peroksidaz |
| HRT | Hormon Replasman Tedavisi |
| IARC | International Agency for Research on Cancer |
| IL | İnterlökin |
| IFN | İnterferon |
| Kaspas | Cysteine-Aspartic Proteases |
| KGf | Keratinosit büyüme faktörü |
| LDL | Low Density Lipoprotein |
| LET | Letrozol |
| µl | Mikrolitre |

| | |
|--------------|-----------------------------------------------------|
| MORE | Multiple Outcomes of Raloksifen Evaluation |
| Mcl-1 | Myeloid cell leukemia |
| mRNA | Messenger ribonükleik asit |
| MVD | Mikrodamar yoğunluğu |
| NCI | National Cancer İnstitue |
| NSAİİ | Non-steroidal antiinflamatuvar ilaç |
| NSABP | National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project |
| NO | Nitrik oksit |
| PECAM-1 | Platelet/endothelial cell adhesion molecule |
| PCNA | Proliferating cell nuclear antigen |
| PDGF | Trombosit kaynaklı büyüme faktörü |
| PIGF | Plasental büyüme faktörü |
| PG | Prostaglandin |
| PG | Progesteron reseptörü |
| Pmol/L | Pikomol/litre |
| POX | Peroxidase |
| RPM | Rapid Per Minute |
| RR | Relative Risk |
| SEER | Surveillance, Epidemiology and End Results |
| SF | Serum fizyolojik |
| TAM | Tamoksifen |
| TMB | Tetra metil blue |
| TNSA | Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırması |
| TNF | Tümör nekroz faktör |
| TxA2 | Tromboksan A2 |
| TGF- β | Transforming büyüme faktörü- beta |
| UV | Ultraviole |
| VEGF | Vasküler endotelyal büyüme faktörü |

ŞEKİLLER

| | Sayfa |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| 2.1. Fosfolipidlerden prostaglandin ve lökotrien sentezi ile antiinflamatuvarların etki yerleri | 20 |
| 2.2. Siklooksijenaz sistemi (COX-1 ve COX-2) ve Karsinogenez | 26 |
| 4.1. Deneklerin 0. ve 2.ay vücut ağırlıklarının karşılaştırılması | 44 |
| 4.2. SF grubunda Hematoksilen-Eozin boyama ile lüminal ve glandüler epitelde gözlenen histopatolojik değişiklikler | 45 |
| 4.3.SF grubunda Hematoksilen-Eozin boyama ile glandüler lümenlerde gözlenen nötrofil kümeleri | 46 |
| 4.4. DMSO grubunda Hematoksilen-Eozin boyama ile gözlenen histopatolojik değişiklikler | 47 |
| 4.5. Tamoksifen grubunda Hematoksilen-Eozin boyama ile gözlenen histopatolojik değişiklikler | 48 |
| 4.6. Letrozol grubunda Hematoksilen-Eozin boyama ile gözlenen histopatolojik değişiklikler | 49 |
| 4.7. Aspirin grubunda Hematoksilen-Eozin boyama ile gözlenen histopatolojik değişiklikler | 50 |
| 4.8. Tamoksifen-aspirin grubunda Hematoksilen-Eozin boyama ile gözlenen histopatolojik değişiklikler | 51 |
| 4.9. Tamoksifen-aspirin grubunda Hematoksilen-Eozin boyama ile endometrial polip gözlenmesi | 51 |
| 4.10.Letrozol-aspirin grubunda Hematoksilen-Eozin boyama ile gözlenen histopatolojik değişiklikler | 52 |
| 4.11.Tamoksifen grubunda BCL-2 immünohistokimyasal belirleyicisinin etkileri | 54 |
| 4.12. Tamoksifen-aspirin grubunda BCL-2 immünohistokimyasal belirleyicisinin etkileri | 54 |
| 4.13. Letrozol grubunda VEGF immünohistokimyasal belirleyicisinin etkileri | 56 |
| 4.14. Tamoksifen-aspirin grubunda VEGF immünohistokimyasal belirleyicisinin etkileri | 56 |

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.15. Tamoksifen grubunda VEGF immünohistokimyasal belirleyicisinin etkileri | 57 |
| 4.16. Letrozol grubunda COX-2 immünohistokimyasal belirleyicisinin etkileri | 60 |
| 4.17. Tamoksifen-aspirin grubunda COX-2 immünohistokimyasal belirleyicisinin etkileri | 60 |
| 4.18. Tamoksifen grubunda COX-2 immünohistokimyasal belirleyicisinin etkileri | 61 |
| 4.19. Letrozol grubunda KI-67 immünohistokimyasal belirleyicisinin etkileri | 63 |
| 4.20. Tamoksifen grubunda KI-67 immünohistokimyasal belirleyicisinin etkileri | 63 |
| 4.21. PECAM-1 immünohistokimyasal belirleyicisi ile gruplar arasında mikrodamar yoğunluk oranları | 65 |
| 4.22. Tamoksifen grubunda PECAM-1 immünohistokimyasal belirleyicisinin etkileri | 65 |
| 4.23. Tamoksifen-aspirin grubunda PECAM-1 immünohistokimyasal belirleyicisinin etkileri | 66 |
| 4.24. Serum VEGF-C düzeylerinin gruplar arasında karşılaştırılması belirleyicisinin etkileri | 67 |

TABLULAR

| | Sayfa |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| 2.1. Aromataz İnhibitörlerinin Sınıflaması | 13 |
| 2.2. Postmenopozal kadınlarda aromataz inhibitörlerinin etkinlikleri | 14 |
| 4.1. Deneklerin ooforektomi öncesi (0.ay) ve enjeksiyon sonrası (2.ay) vücut ağırlıklarının gruplara göre karşılaştırılmaları | 43 |
| 4.2. Deneklerin ooforektomi uterus kuru ağırlıklarının gruplara göre karşılaştırılması | 44 |
| 4.3. BCL-2 İmmünohistokimyasal belirleyici ile çeşitli gruplardaki immünoreaktivite Şiddeti | 53 |
| 4.4. VEGF İmmünohistokimyasal belirleyici ile çeşitli gruplardaki immünoreaktivite Şiddeti | 55 |
| 4.5. COX-2 İmmünohistokimyasal belirleyici ile çeşitli gruplardaki immünoreaktivite Şiddeti | 58 |
| 4.6. KI-67 İmmünohistokimyasal belirleyici ile çeşitli gruplardaki immünoreaktivite şiddeti | 62 |
| 4.7. PECAM-1 (CD-31) İmmünohistokimyasal belirleyicisi ile çeşitli gruplarda mikrodamar yoğunluğu | 64 |
| 4.8. Serum VEGF Rat-C düzeylerinin gruplara göre karşılaştırılmaları | 66 |

1. GİRİŞ

Meme kanseri tüm kadın kanserlerinin dörtte birinden sorumludur. Kadınlarda kansere bağlı ölümlerde akciğer kanseri ve kolorektal kanserden sonra üçüncü sırayı alır (1). Dünyada her yıl yaklaşık 1.000.000 'dan fazla kadın meme kanseri tanısı almakta ve 410.000 kadın meme kanserinden ölmektedir (2). 1985 yılına kadar kansere bağlı ölümlerde ilk sırayı alan meme kanserinin bugün üçüncü sıraya düşmesinin temel nedeni erken evre olguların artması ve cerrahi sonrası uygulanan adjuvan tedavi protokollerindeki gelişmelerdir. Bu gelişmelerden en ilgi çekici olanı 1973 yılında klinik kullanıma sunulan tamoksifendir (3).

Tamoksifen meme kanserinde kullanılan sentetik, nonsteroid yapıda bir antiöstrojen ajandır (3). Selektif östrojen reseptör modülatörlerinin atası sayılır. Meme dokusu üzerine antiöstrojenik etki gösterirken (4), serum lipitleri (5), kemik (6) ve endometrium (7) üzerine belirgin östrojenik etki göstermekte ve buna bağlı olarak tamoksifen kullanan hastalarda endometrial patoloji gelişme riski artmaktadır (8). Pek çok çalışmada endometriumda tamoksifene bağlı farklı patolojilerin geliştiği bildirilmiştir. İlginç olarak endometrial kavitenin farklı bölümleri tamoksifene farklı yanıt verebilir. Örneğin bir çalışmada endometrial atrofi ile birlikte olguların %23'ünde endometrial polip saptandığı bildirilmiştir (9). Ancak en önemli nokta tamoksifen kullanan kadınlarda endometrium kanseri gelişme riskinin artmasıdır (10). Yapılan bir çalışmada 2 yıldan uzun süre tamoksifen kullanan olgularda endometrium kanseri riskinin kullanmayan olgulara göre 2-3 kat, 5 yıldan daha uzun süre tamoksifen kullanan olgularda ise bu riskin 5 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir (11). Bu risk temelde ilacın endometriuma olan östrojenik, dolayısıyla proliferatif etkisine bağlıdır. Bu riski düşünecek olursak tamoksifene alternatif, etkili ve iyi tolere edilen tedavilere gereksinim duyulmaktadır. (12).

Günümüzde selektif aromataz inhibitörleri, ilerlemiş meme kanserinin endokrin tedavisinde yeni bir yaklaşımı temsil etmektedir. Letrozol, sentetik bir akiral benzidriltriazol türevidir. Oral yoldan kullanılan, hem periferik hem de intratümöral olarak aromataz enzim sisteminin çok selektif, non-steroid yarışmalı inhibitörüdür (12). İleri evre meme kanserinde tamoksifene alternatif olarak birinci seçim tedavide kullanılır. Klinik çalışmalarda elde edilen cevap oranları %9 ile %13 arasında değişmektedir. Letrozol klinik fayda, objektif cevap oranı ve progresyona

kadar geçen süre yönünden tamoksifenden daha üstün bulunmuştur. Bu sonuçlara dayanılarak metastatik meme kanserinin birinci basamak tedavisinde tercih edilebileceği belirtilmiştir (13).

Yapılan epidemiyolojik çalışmalar sonucunda non-steroidal anti-inflamatuvar ilaç (NSAİİ) kullanan kadınlarda meme kanseri insidansında azalma olduğu gözlenmiş ve bunun potansiyel olarak kullanılan NSAİİ'lara bağlı olabileceği düşünülmüştür. NSAİİ'lerin kanserin gelişmesini ve ilerlemesini azalttığı ilk olarak kolorektal kanserlerde kanıtlanmakla birlikte birçok kanser türünde, özellikle solid tümörlerde bu etkisi (meme, cilt, böbrek, prostat, akciğer) araştırılmaktadır (14). NSAİİ'lar hedef dokuda siklooksijenaz enzimini inhibe ederek etkili olurlar. Siklooksijenaz arasıdonik asitten çeşitli prostoglandinlerin sentezinde kilit rol oynayan önemli bir enzim sistemidir (15). Bu enzimin bilinen iki izo-formu vardır. COX-1 normal fizyolojik etkiden sorumlu olup neredeyse tüm dokularda bulunurken COX-2 indüklenebilir formda bir enzim olup her dokuda bulunmaz. Sitokinler, büyüme faktörleri ve onkogenler tarafından indüklenebildiğinden bu enzimin son dönemlerde kanser araştırmalarında çok fazla adı geçmektedir. COX-2 enzimi birçok kanserde gösterilmiştir. COX-2 artışı kanserli dokularda defektif apoptozdan, immünosüpresyondan, tümör hücre proliferasyonu, anjiyogenez, aromataz indüksiyonu ve metastaz potansiyeli artışından sorumludur (14-16). Tümör dokusunda artmış COX-2 düzeyi kötü prognostik özellik taşır. Meme kanserinde yapılan çalışmalarda da, COX-2 enzim artışı artmış lenf nodu metastazı, C-erbB-2 onkogen artışı ve agresif klinik davranıştan sorumludur (16). Bu yüzden meme kanserinde hem tedavi (kemoterapi, radyoterapi, anti-hormonal tedavi) amaçlı hem de meme kanseri oluşumunu engellemek amacıyla spesifik ya da non-spesifik COX-2 enzim inhibitörleri kullanımı ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır (16,17).

Uzun süre östrojene maruz kalma, özellikle postmenopozal kadınlarda meme kanseri oluşumu için önemli bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir. Son çalışmalarda meme kanserinde COX-2 enziminin doku aromataz enzim aktivitesini prostaglandinler yoluyla arttırdığı ve bunun sonucunda östrojen sentezinin arttığı gösterilmiştir (18-20).

Tamoksifenin bahsedildiği üzere ciddi yan etkilerinin olması nedeniyle araştırmalar meme kanseri tedavisinde bu yan etkileri önleyecek yeni tedavi

modelleri bulunması üzerine yoğunlaşmıştır. Meme kanserinde iyi bir alternatif tedavi olduğu düşünölen ve endometrial yan etkilerin gözlenmediği aromataz inhibitörleri son zamanlarda büyük ilgi görmektedir. Biz de bu amaçla tamoksifen ve letrozölün rat uterusunda meydana getirdiği histopatolojik değişiklikleri; anjiogenez, apoptoz, hücre proliferasyonu, COX-2 ve VEGF ekspresyonu ile serum VEGF-C düzeyinde meydana getirdikleri değişiklikleri karşılaştırmayı ve aspirinin bu ilaçlarla kombinasyonunun ne gibi değişikliklere sebep olabileceğini araştırmayı hedefledik.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Meme Kanseri

Kadında görülen kanserler arasında prevalansı en yüksek (%32) tümör olup bronş kanserlerinden sonra en fazla ölüm sebebidir (1). Dünyada her yıl yaklaşık 1.000.000 'dan fazla kadın meme kanseri tanısı almakta ve 410.000 kadın meme kanserinden ölmektedir (2).

Amerika Birleşik Devletleri'nde 2004 yılında 215.990 yeni kadın, 1.500 yeni erkek olgu meme kanserine yakalanırken, 40.100 kadın ve 470 erkek olgunun bu sebeple öldüğü bildirilmiştir (21). Amerikan Ulusal Kanser Enstitüsü'nün (NCI) Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER) programının son verilerine göre her dokuz kadından biri yaşam boyu invaziv meme kanseri gelişme riskine sahiptir (21).

T.C. Sağlık Bakanlığı'nın verilerine göre ülkemizde de % 24.1 oranı ile kadınlarda görülen kanserler arasında ilk sırada yer almaktadır (22). Tahmin edilen meme kanseri insidansı yaklaşık 10-15/100 000'dir. En yüksek risk taşıyan Kuzey Amerika, Avrupa ve Avustralya gibi zengin ülkelerdeki tüm kadınların %6'sı 75 yaşından önce meme kanserine yakalanmaktadır (23). Ancak Afrika ile Güney ve Doğu Asya' da (Japonya dahil) bu oran diğer ülkelerin üçte biri kadardır. Meme kanseri insidansı 1980'lerden itibaren hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde artmaktadır (23).

Meme kanserinden ölümler 1990 yılından itibaren %21 oranında azalma göstermiştir (21). Ayrıca Östrojen reseptörü (ER)-Progesteron Reseptör (PR) pozitif meme kanseri sıklığı, erken evre meme kanseri, invaziv lobüler meme kanseri ve intraduktal karsinom görülme sıklığı da artmıştır. Bunun en önemli sebebi erken tanı yöntemlerinin gelişmesi olarak gösterilmektedir.

Hemen tüm bilinen risk faktörleri kadının reproduktif yaşamı ile ilişkili olup, uterin yaşamdan postmenopozal döneme kadar östrojene endojen ve eksojen maruziyet bilinen en önemli risk faktörüdür (24). Uzun süre ve yüksek konsantrasyonda östrojene maruziyet meme kanserine yol açmaktadır. Premenopozal dönemde ovaryan kaynaklı olan östrojen, postmenopozal dönemde periferik yağ dokuda androjenlerden aromataz enzimi aracılığı ile oluşturulmaktadır. Eksojen

östrojenler yaşamın her döneminde, özellikle postmenopozal dönemde riski artırmaktadır. Erken menarş artmış risk ile birlikte. Menarşta her 2 yıllık gecikme meme kanseri gelişme riskinde %10 oranında azalmaya yol açmaktadır (25). Gebelik, özellikle erken yaşta ve çok sayıda olduğunda riski azaltmaktadır. Doğumunu 30 yaşından sonra yapanlarda hiç doğurmayanlara göre risk artmıştır. Emzirmenin de meme kanseri riskini azalttığı gösterilmiştir. Erken menopoz geç olana göre riski azaltır. Menopoza 45 yaşından önce girenlerin meme kanseri riski 55 yaşından sonra menopoza girenlerden % 50 oranında azdır (25). İnsanlarda ve hayvanlarda endojen ve eksojen östrojen kullanımının meme kanserine yol açtığı gösterilmiştir. Anti östrojenik tedaviler (tamoksifen, kastrasyon) meme kanseri gelişimini azaltırlar.

Yapılan 8 prospektif çalışmada, östrojen düzeyleri ile meme kanseri riskinde artış belirgin olarak gösterilmiştir. MORE (Multiple Outcomes of Raloksifen Evaluation) çalışmasında serum östrojen düzeyi yüksek olanlarda (>12 pmol/L) düşük olanlara göre meme kanseri riskinde 2 kat artış olduğu tespit edilmiştir (26).

2.2.Meme Kanserinde Tamoksifen

2.2.1.Tamoksifenin Tarihçesi

Bundan 100 yıl önce Doktor George Beatson (27), premenopozal meme kanserli kadınlarda overlerin çıkarılması fikrini ortaya attığında henüz overlerin endokrin fonksiyonları hakkında hiçbir fikre sahip değildi. Overlerin endokrin fonksiyonu ilk kez 1923 yılında St. Louis'de Dr. Ailen ve Dr.Daisy (28) tarafından ortaya kondu ve over kaynaklı bu kimyasal maddelere östrojen (Lat. Estrus = çılgınlık) adı verildi. Böylece bir organın kendinden uzak bir organ tarafından endokrin kontrolü gerçeği ilk kez ortaya atılmış oldu. Ancak östrojen reseptörlerinin bulunması için bir 40 yıl daha geçmesi gerekecekti. 1966 yılında Chicago Üniversitesi'nde östrojen reseptör proteini ilk kez bir sıçan uterusundan izole edildi. 1971 yılında meme kanseri hücrelerinin bir kısmında östrojen reseptörü bulunduğu ve östrojen reseptörü bulunan tümörlerin endokrin tedaviye daha iyi yanıt vereceği fikri ortaya atıldı (29). Östrojen reseptörü taşıyan tümörlerin endokrin ablasyona %60 oranında yanıt verdiği gösterilmesi ile umutlar iyice artmış ve çalışmalar östrojenin meme dokusundaki etkilerini bloke edecek yeni bir antiöstrojen ajanının

araştırılmasına yönelmiştir. İlk antiöstrojen bileşik olan Etamoksitrifetol 1958 yılında sentez edilmesine karşın (30) şiddetli yan etkileri nedeniyle kullanımı kısıtlı olmuştur. İlerleyen çalışmalarla birlikte 1960'lı yıllarda ICI ilaç firması laboratuvarlarında (şimdiki adı Zeneca) Dr. Dora Richardson tarafından yeni ve daha az yan etkiye sahip bir antiöstrojen olan tamoksifen geliştirilmiştir. Yapılan ilk çalışmada postmenopozal ileri evre meme kanserli 46 hastada denenen ilaç, 10 hastanın olumlu yanıt vermesi ile popülerite kazanmıştır (31). Bir nonsteroid antiöstrojen olan tamoksifenin diğer antiöstrojenlere oranla daha güçlü bir antitümör etkisi ve daha az sistemik etkilerinin olması bu andan itibaren tamoksifenin yola tek başına devam etmesine neden olmuştur.

Tamoksifen 1973 yılında Nolvadex müstahzar adıyla, ilerlemiş meme kanserinin tedavisi amacıyla İngiltere'de piyasaya çıkmıştır. İlaç 1977'de ABD'de FDA onayı almıştır ve bugün 110'dan fazla ülkede milyonlarca kadın tarafından meme kanseri tedavisi amacı ile kullanılmaktadır.

2.2.2.Tamoksifenin Farmakolojisi

Tamoksifen, oral alındıktan sonra kolayca emilir. En üst plazma düzeylerine 3-7 saat sonra erişir. Dört haftada, günlük 20 mg tedavi sonrasında sürekli plazma konsantrasyonu olan 300 mg/ml düzeyine yükselir. Büyük oranda karaciğerde metabolize olarak birçok metabolitlere ayrışır. En önemli metabolitleri, 4-OH tamoxifen ve "N-desmetiltamoksifen"dir. Vücuttan atılım yarı ömrü 4-11 gün arasında değişir (32). Tekrarlayan dozlarda atılım yarı ömrü uzar. Tamoksifen ve metabolitlerinin vücutta dağılımı homojen değildir. Daha çok safra kesesi ve endometrial dokularda birikir. İlacın büyük bir kısmı kan-beyin bariyerini geçemez ancak yine de nörotoksisiteye sebep olabilir. Tamoksifen %98 oranında plazma albuminine bağlanır. İlacın büyük bir kısmı feçes yoluyla, geri kalan kısmı da idrarla atılır (32,33).

2.2.3. Tamoksifenin Etki Mekanizması

İlk kez 1975 yılında tamoksifenin kültür ortamında östrojen reseptörü taşıyan meme kanseri hücrelerini inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu etkinin ortama östrojen eklendiğinde geri döndürülebildiği gözlemlendi. (34). Bundan yaklaşık 10 yıl sonra iki araştırmacı birbirinden bağımsız olarak tamoksifenin meme kanseri hücrelerini siklusun G1 fazında bloke ettiğini gösterdiler (35,36). Tamoksifen daha çok tümör istatik bir ilaç olduğundan ve kısa süreli tedavi sonrası tamoksifen kesildiğinde rekürrens ihtimali olduğundan tedavinin uzun süreli olması gerekmektedir (37, 38). Tedavi süresi 5-10 yılı aştığında tamoksifene karşı herhangi bir tolerans gelişmezken, daha kısa süreli kullanımlardan sonra rekürrenslerin görülme sıklığı artar (39). Bugüne kadar yapılan çalışmalar tamoksifenin meme kanserli olgularda sürveyi %10 oranında artırdığını desteklemektedir (40). Bu çalışmalar, uzun süreli tedavilerin kısa süreli olanlardan daha etkili olduğunu, tüm nodal tutulum durumlarında tamoksifenin etkinliğinin aynı olduğunu ve ER-pozitif hastaların, ER-negatif hastalara göre tamoksifenden daha fazla yarar gördüğünü ortaya koymuştur (40-42). Ayrıca tamoksifenin postmenopozal kadınlarda premenopozal kadınlara oranla daha etkili olduğunu gösteren kanıtlar vardır.

Tamoksifenin Etki Mekanizmaları Şöyle Özetlenebilir:

- 1- Meme kanseri hücrelerine lokal antitümör etkisi : Meme kanseri hücrelerinin östrojen reseptörüne bağlanan tamoksifen, östrojen tarafından uyarılan replikasyonu engeller ve reseptöre bağlı kaldığı sürece bu hücrelerde DNA replikasyonu olmaz. Sonuç olarak kanser hücreleri ölmeye başlar ve tümör küçülür.
- 2- Periferik antitümör etkisi : Tamoksifen östrojen tarafından regüle edilen proteazların yapımını azaltarak invazyonu önler, lokal stimulan büyüme faktörlerinin yapımını engelleyerek mikrometastazları azaltır ve mikrometastazların damarlanma potansiyelini düşürür.
- 3- Fizyolojik etkileri : Meme dokusuna antiöstrojenik etkisi olan tamoksifenin postmenopozal kadınlarda kemik ve kan lipid düzeylerine östrojenik etkisi vardır. En sıradışı etki postmenopozal uterusu görülür. Bazı kadınlarda östrojenik etki oluşurken bazılarında tamamen antiöstrojenik etki görülür ve endometrial atrofi gelişir. Tamoksifenin premenopozal uterusu pek etkisi yoktur (43).

2.2.4. Tamoksifenin Doz ve Uygulaması

Tamoksifenin 10mg ve 20mg tabletleri çeşitli ticari isimlerle mevcuttur. Günlük standart kullanım dozu 20 mg'dır. Tamoksifenin günde bir veya iki kez kullanımının biyoyararlanımı eşittir. Bu nedenle günde tek doz kullanılabilir. İlacın kesilmesinden sonra tamoksifen ve metabolitlerinin kandan temizlenmesi 4 haftada mümkün olur (33).

2.2.5. Tamoksifenin Etkileri

Bugünkü tamoksifen tedavi protokolleri ile erken evre meme kanserli hastaların çoğunda kür beklenmektedir. Önceleri tamoksifenin koroner arterler ve kemik üzerine gösterebileceği antiöstrojenik etkilerden korkulduysa da yapılan in vivo ve in vitro çalışmalar bunun tam tersini göstermiştir. Rosen ve ark. (44) yaptıkları çalışmada nod-negatif ve 1 cm'den küçük tümörü olan hastaların tanı sonrası 10-20 yıl içinde kalp hastalığından ölme riskinin meme kanserinden ölme riskinden daha fazla olduğunu göstermişlerdir (44). Elli yaşındaki bir kadının hayatı boyunca koroner kalp hastalığına yakalanma riskinin %46, bu hastalık nedeni ile ölme riskinin ise %31 olduğu hesaplanmıştır (45). Östrojen kullanımıyla hem koroner kalp hastalığına yakalanma hem de ölüm riski neredeyse yarıyarıya azalır (46, 47). Oysa tamoksifenin plazma lipidleri üzerine östrojenik etkisi vardır ve tamoksifenin 5 yıl süreyle kullanımı sonucu plazma trigliseridlerinde artış olurken, total kolesterolde ortalama %13, low density lipoprotein (LDL) kolesterolde ise ortalama %19'luk bir düşüş görülür (5). İlginç olarak östrojen tedavisi ile yükselme gösteren high density lipoprotein (HDL) kolesterol düzeyleri tamoksifen tedavisinden pek etkilenmez. Tamoksifenin bu etkileri kliniğe koroner kalp hastalığı riskinde belirgin azalma olarak yansır.

Tamoksifenin kemik üzerine etkileri de ilgi çekicidir. Yapılan çalışmalar tamoksifenin kemik üzerine östrojenik etkilerinin olduğunu ve özellikle 5 yıllık kullanım sonucunda kemik mineral dansitesinde anlamlı artışlara neden olduğunu göstermiştir (6).

Tamoksifen şu anda en çok reçete edilen kanser ilacıdır. 1985'de nod-pozitif postmenopozal hastalarda kemoterapiye ek olarak, 1986'da ise aynı grup hastalarda tek başına kullanımı onaylanmış, 1989 yılında ER pozitif olan premenopozal hastalarda faydalı olacağı kabul edilmiştir. 1990 yılında ise premenopozal ve

postmenopozal nod-negatif, ER pozitif hastalarda kullanımı onaylanmıştır. Son olarak 1998 yılında FDA tarafından tamoksifenin premenopozal veya postmenopozal yüksek riskli kadınlarda meme kanseri riskini azalttığı kabul edilmiştir. Yine yapılan randomize çalışmalarda tamoksifenin meme kanserli hastalarda kontrateral memede kanser gelişme riskini üçte bir oranında azalttığı tespit edilmiştir (48).

Sonuç olarak milyonlarca kadın bugüne kadar tamoksifen kullanmış ve kullanmaktadır. Tamoksifenin bulunuşu meme kanseri tedavisinde nadir dönüm noktalarından biridir ve şu anda hormona duyarlı meme kanserinin her evresinde ve her yaşta adjuvan tedavi olarak tamoksifen kullanılmaktadır. Tamoksifen meme kanserli hastaların hem hastalısız dönemlerini hem de genel sürvilerini uzatırken, aynı zamanda diğer memede kanser gelişme riskini de azaltmaktadır (42).

2.2.6.Profilaktik Tamoksifen Kullanımı

Bu konu ile ilgili çalışmalar 70'li yıllarda fare deneyleri ile başlamış ve ilk sonuçlar profilaktik tamoksifenin ooforektomiyle aynı düzeyde koruma sağladığını göstermiştir (49). Bu konuda yapılan en geniş kapsamlı çalışma 1992 - 1997 yılları arasında Kanada ve ABD'de yürütülen NSABP / NCI çalışmasıdır (50). Bu çalışmada, 5 yıl tamoksifen kullanımının meme kanseri gelişme riskini yarıyarıya azalttığı gösterilmiştir. Söz konusu azalma sadece ER (+) kanserlerde olmuş, ER (-) kanserlerde plasebo grubuyla anlamlı fark saptanmamıştır.

İtalya'da 1992 - 1998 yılları arasında yürütülen bir çalışmada ise (51) plasebo ve tamoksifen kullanılan iki grup arasında meme kanseri gelişme riski açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır. Sonuç olarak meme kanserinde tamoksifenin profilaktik kullanımı tartışmalıdır. Ancak NSABP çalışması ile birlikte, tamoksifenin diğer memede kanser gelişme riskini üçte bir oranında azalttığı düşünülürse, profilaktik tamoksifen kullanımı, yüksek risk taşıyan kadınlarda profilaktik mastektomi veya yakın takibe alternatif olarak sunulabilir.

Tamoksifenin profilaktik kullanımında da doz, tedavi amaçlı kullanımda olduğu gibi günde 20 mg (2 x 10 mg) ve kullanım süresi en az 5 yıl olarak tespit edilmiştir.

2.2.7. Tamoksifenin Yan Etkileri

Hastaların çoğunda tamoksifen ile ilişkili yan etki görülmez. Başlıca yan etkisi sıcak basmasıdır (%50). Bu durum plasebo alan kadınlarda %18-40 oranında bildirilmektedir (52). Tamoksifene bağlı ateş basması tedavinin ilk 3 ayında artar daha sonra aynı kalır. Daha önce sıcak basması olanlarda ve östrojen replasman tedavisi kullananlarda daha fazla görülür. Nadiren tedaviye ara vermeyi gerektirecek kadar şiddetli olabilir (53,54).

Nadiren geçici trombositopeni ve lökopeni yapabilir fakat ağır sitopeniye neden olmaz. Anemi oldukça nadir bir problemdir. Venöz tromboza yol açabilir. İki yılın üstünde tamoksifen kullanımı antitrombin III ve protein C düzeylerinde artışa sebep olmaktadır. Bazı çalışmalarda tamoksifen kullanan kadınlarda normal kadınlara göre tromboembolik olaylarda artış bildirilmiştir, relatif risk 1.6-3 arasında değişmektedir. Tromboembolik olaylarda artışa özellikle kemoterapiyle birlikte kullanıldığında neden olmaktadır (52).

Hastaların %10'unda bulantı olabilir. Tedavinin kesilmesine neden olacak kadar şiddetli bulantı ve kusma nadiren görülür. Anoreksi, ishal, konstipasyon, abdominal kramp tarzı ağrı ve besinlere karşı tikslenme hissi nadir yan etkileridir. Karaciğer enzim değişiklikleri görülebilir. Çok nadir olarak karaciğer kistlerine, karaciğer yağlanması, kolestazise, hepatite, hepatik nekroza ve ölüme sebep olabilir. Hayvan çalışmalarında karaciğer kanseri gözlenmesine rağmen insanlarda böyle bir ilişki bulunmamıştır (54).

Uzun süreli veya yüksek doz kullanımı geri dönüşümlü retinal yan etkiye nadiren neden olabilir (55). Prospektif bir çalışmada standart dozlarda retinopati ve keratopati görülme sıklığı %6.3 olarak bildirilmiştir(55). Ayrıca bazı hastalarda görme netliğinde azalma, bilateral maküler ödem, paramaküler ve "fovea" bölgesinde sarı beyaz lekeler olduğu bildirilmiştir (54,55).

Hipersensivite reaksiyonları oldukça nadirdir. Deri döküntüsü, eritem, hafif saç kaybı meydana gelebilir. Periferik ödem, çok nadir olarak purpurik vaskülit ve tromboflebit görülebilir. Akciğer embolisine nadiren sebep olabilir.

Nadiren depresyon, baş dönmesi, baş ağrısı, konfüzyon ve yorgunluk gibi geri dönüşümlü santral sinir sistemi bozukluklarına neden olabilir. Nadiren bacaklarda

kramplara neden olabilir, kemik ağrıları meydana gelebilir. Hayvanlarda teratojenik etkiye sahiptir. Gebelikte kullanımı önerilmemektedir (54).

2.2.8. Tamoksifenin Endometrium Üzerine Etkisi

Tamoksifen endometrium üzerinde proliferatif etki göstermektedir ve tamoksifen tedavisi alan meme kanserli hastalarda tamoksifen tedavisi almayan hastalarla kıyaslandığında endometrial hiperplazi, endometrial polip, endometrial kanser, malign mikst mezodermal tümör ve sarkom sıklığı artmıştır (56). Endometrial polip tamoksifen kullanımı ile ilişkili endometrial patolojiler arasında en sık izlenendir ve yüksek malign potansiyel taşımaktadır (56).

Killackey ve ark. (57) 'larının yaptığı ve tamoksifen kullanımı ile endometrium kanseri arasında ilişki olduğunun ilk kez iddia edildiği yayını takip eden 15 yıl içinde bu iddiayı destekleyen yaklaşık 250 çalışma yayınlanmıştır (58). NSABP-1 çalışmasında tamoksifen 20 mg/gün 5 yıl kullanımı ile endometrium kanseri riskinin tamoksifen kolunda plasebo koluna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda arttığı saptanmıştır (59). Son olarak yayınlanan NSABP B-14 çalışmasında tamoksifen kullanan postmenopozal kadınlarda 8 yıllık takip sonrasında endometrium kanseri gelişme riskinin kontrol grubuna göre 7.5 kat daha fazla olduğu anlaşılmıştır (60). Bu çalışmada plasebo grubunda endometrium kanseri riski 0,6/1000 iken, ortalama 35 ay tamoksifen alan grupta bu oran 2/1000 olarak bulunmuştur (10). Bir çalışmada 2-5 yıl günde 40 mg tamoksifen alan hastalarda almayanlara nazaran endometrium kanseri gelişimi relatif riskinde 5.6 oranında artış görülmüştür (61). Östrojen ile endometrium kanseri ilişkilidir. Burada tamoksifenin kısmi östrojenik etkisinden şüphelenilmektedir. Tamoksifenin endometrium kanseri riskini 2-3 kat artırdığı bilinmekle birlikte varolan literatür bilgileri ve yapılan DNA çalışmaları, tamoksifenin endometrial dokuda direkt bir karsinojenik etkisi olduğunu desteklememektedir (62). Tamoksifen kullanırken endometrium kanseri tanısı alan hastaların önemli bir kısmında henüz tamoksifene başlamadan önce endometriumda premalign veya malign bir patoloji olup olmadığı da tartışma konusudur. Ancak tamoksifenin endometrium dokusunda en azından varolan bir patolojiyi hızlandırıcı etkisi olduğu düşünülmektedir.

Literatür gözden geçirildiğinde (48,58) tamoksifen ile ilişkili endometrium kanseri olgu sayısı 349'dur. Hem kısa (2 yıl) hem de uzun dönem (2 yıldan fazla)

kullanımlarda endometrium kanseri riski artmıştır (63). Genellikle kullanılan doz günlük 20 mg olmakla birlikte, daha yüksek dozların kanser riskinde daha fazla bir artışa neden olup olmayacağı gösterilmemiştir. Tamoksifen kullanımı sırasında gelişen endometrium kanserleri evre, grade, histoloji ve prognoz bakımından genel popülasyonda görülen endometrium kanserleri ile benzerlik gösterir (48). Bunun dışında, tamoksifen kullanan kadınlardan 9'unda uterus sarkomu, 18'inde mixed müllerian tümör bildirilmiştir. Olguların büyük çoğunluğunun postmenopozal olması ilgi çekicidir (64). Aslında premenopozal kadınlarda tamoksifen kullanımı ile endometrium kanseri arasında ilişki olduğu gösterilmemiştir. Bugüne kadar bunun aksini iddia eden sadece bir tane çalışma yayınlanmıştır (65). Tamoksifen kullanan hastalarda görülen endometrial kanserlerin belki de tek farkı, bu hastalarda ilk semptomun %100 oranında vajinal kanama olmasıdır. Endometrial etkilerinin dışında tamoksifenin bir takım başka jinekolojik etkileri de vardır. Özellikle premenopozal hastalarda gonadotropin seviyelerinde değişim, oligomenore, amenore, over hiperstimülasyonuna bağlı kist oluşumu, varolan endometriozis odaklarında alevlenme ya da gerileme, vajinal akıntı, uterus myomlarında ve endometrial poliplerde büyüme bu etkiler arasında sayılabilir. Vajina epitelinde tamoksifenin östrojenik etkisi gösterilmiştir. Ayrıca tamoksifen alan postmenopozal kadınların ortalama üçte birinde endometrial proliferasyon olduğu ispatlanmıştır. Yine de bugünkü en önemli klinik sorun, hangi kadının tamoksifene östrojenik madde gibi yanıt verip hangi kadının vermeyeceğinin bilinmemesidir (58). Tamoksifene bağlı gelişen endometrium kanserleri genellikle daha erken evrede teşhis edilmiştir. Tamoksifen alan tüm hastalar her altı ayda bir jinekolojik yönden kontrol edilmelidir. Endometrium kanseri etiolojisinde tamoksifenin rolü hala tam olarak bilinmemektedir (8).

2.3.Meme Kanserinde Aromataz İnhibitörleri

Aromataz östrojen biyosentezi için gerekli bir enzimdir. Premenopozal kadınlarda başlıca östrojen kaynağı overlerdir. Postmenopozal kadında over fonksiyonel değildir ve dolaşımdaki östrojen düzeyi çok düşüktür. Buna rağmen hormon duyarlı meme kanseri postmenopozal kadınlarda hormon duyarsızlara göre daha sıktır. Postmenopozal kadınlarda östrojenler adrenal bezden salınan androjenlerden kas, yağ dokusu ve meme tümörünün kendisi gibi periferik dokularda

üretir. Yağ dokusu ekstraponadal östrojen sentezinin ana kaynağıdır. Burada androjenlerin östrojenlere dönüşümünden sorumlu enzim aromataz enzimidir (66) . Aromataz enzimi sitokrom p-450 enzim sistemine dahil olan androjenler, androstenedion ve testosteronu östron ve östradiole çeviren bir enzimdir. Kadın memesi aromataz ekspresyonu için önemli bir bölgedir. Sağlıklı postmenopozal bir kadın memesindeki östrojen konsantrasyonu serumdakinin 4-6 katıdır. Aromataz ekspresyonu memede tümör olan kadranlarda tümör olmayan kadranlara nazaran daha yüksek saptanır. Bu nedenle aromataz inhibisyonu meme kanseri tedavisinde mantıklı bir yaklaşımdır (62, 67, 68).

Aromataz inhibitörleri (Aİ) etki mekanizmalarına göre iki gruba ayrılır (Tablo 2.1.). Her iki tip de androjen prekürsörleri ile aromataz enzimini inhibe etmek için yarışır. Klinik gelişim sıralarına göre 1. , 2. , 3. Jenerasyon olarak isimlendirilirler.

Tablo 2.1. Aromataz İnhibitörlerinin Sınıflaması.

| Steroid aromataz inhibitörleri | |
|------------------------------------------|--------------------------------------|
| 1.Jenerasyon | Formestan |
| 2.Jenerasyon | Eksemestan |
| Nonsteroid aromataz inhibitörleri | |
| 1.jenerasyon | Aminoglutetimid |
| 2.Jenerasyon | Rogletimid, Fadrozol |
| 3.Jenerasyon | Vorozol, Letrozol, Anastrozol |

3. Jenerasyon Aİ'lerinin avantajları şunlardır :

- Aromataz enzimini güçlü bir şekilde inhibe ederler.
- Diğer steroidogenez enzimlerinde belirgin inhibisyon yapmadan aromataz enzimi üzerinde spesifik inhibitör etkileri vardır.
- Oral kullanılırlar. Oral kullanım sonrası biyoyararlanımları %100'dür.
- Vücuttan hızlı bir şekilde atılırlar (yarı ömürleri yaklaşık 45 saat), ilaç ve metabolitleri vücutta birikmez. Belirgin aktif bir metabolitleri yoktur.
- Günlük kullanımı yıllarca tolere edilebilir, az sayıda orta dereceli yan etkilere ilaveten yüksek toleransı vardır.
- Aİ kullanımına bağlı önemli bir kontrendikasyon yoktur, güvenlidir, diğerlerine oranla ucuzdur (69).

Çeşitli aromataz inhibitörlerinin aromataz baskılanma yüzdeleri Tablo 2.2'de verilmiştir (68)

Tablo 2. 2. Postmenopozal kadınlarda aromataz inhibitörlerinin etkinlikleri.

| Aromataz baskılama oranları | |
|------------------------------------|--------------|
| Ekzemestan | %97,9 |
| Formestan | %91,9 |
| Aminoglutetimid | %90,6 |
| Anostrozol | %96,7 |
| Letrozol | %98,9 |

2.3.1.Nonsteroidal Aromataz İnhibitörleri

Aromataz, sitokrom P-450 flavoproteiniyle etkileşerek kortizol ve aldosteron sentezini az veya çok oranda engeller. Nonsteroid aromataz inhibitörleri ise bu enzimi iyonik bağlarla geçici bağlayarak inaktive eder. Bu grupta aminoglutetimid ve analogları, çeşitli imidazol ve triazol yer alır (68,70).

Aminoglutetimid

İleri evre meme kanserinde yaygın olarak kullanılmış ilk aromataz inhibitörüdür (71). Aminoglutetimid non-selektif aromataz inhibitörüdür ve sitokrom P-450 aracılığı ile 20,22 desmolaz enzimini inhibe eder, kolesterolden pregnenolana dönüşümü önleyerek adrenal steroid sentezini bloke eder (70). Bu nedenle diğer steroid hormon (östrojen, kortikosteroid ve mineralokortikoid) sentezleri de inhibe olur. Yan etkilerinin fazla olması nedeniyle ve daha az toksik aromataz inhibitörlerinin klinik kullanıma girmesi nedeniyle günümüzde kullanımı çok azalmıştır. İlaç, metastatik meme kanserli 1500'den fazla hastada kullanılmıştır. Cevap oranı %25 ile %50 (ortalama %32) arasında değişmektedir (72). Tamoksifen tedavisine cevap vermeyen hastaların %15-20'sinde aminoglutetimide yanıt alınmaktadır.

Rogletimid

Rogletimid, invitro çalışmalarda aminoglutetimide eşdeğer oranda aromataz inhibisyonu sağlar (73). Desmolaz, 11-beta hidroksilaz, 18-beta hidroksilaz ve 21-beta hidroksilaz enzimleri ile etkileşmeyen, spesifik etkili, ikinci jenerasyon bir ajan olduğu için tedavi sırasında kortizon replasmanına gerek yoktur (74). Hastaların %50'sinde görülebilen hafif derecede gribal semptomlar ve letarji dışında önemli bir yan etkisi yoktur. Tolere edilebilen en yüksek doz günde iki seferde verilen 1600 mg'dır. Aminoglutetimid ve rogletimidin karşılaştırıldığı bir çalışmada, rogletimidin 400 ve 1600 mg'lık dozları arasında doza bağımlı olarak artan östradiol supresyonu gerçekleştiği gösterilmiş; bunun yanısıra, 1600 mg'lık dozlarda bile aminoglutetimide oranla daha az oranda aromataz inhibisyonu ve östradiol inhibisyonu sağlayabildiği saptanmıştır (75).

Fadrozol

Nonsteroidal imidazol türevi bir ikinci jenerasyon aromataz inhibitörüdür. Aminoglutetimidden 1000-3000 kat daha potenttir (76). Faz II çalışmalarda elde edilen yanıt oranı %20-30'dur (77,78). Metastatik meme kanserinin birinci basamak tedavisinde tamoksifenle karşılaştırıldığı randomize çalışmalardan birinde yan etkiler açısından tamoksifenden daha avantajlı bulunurken (79), diğer bir çalışmada ise tamoksifen grubunda tam cevap ve medyan cevap süresi fadrozolden daha uzun bulunmuştur (80).

Vorozol

Selektif nonsteroidal bir üçüncü jenerasyon triazol derivesi aromataz inhibitörüdür. Faz II çalışmalarda ikinci basamak tedavide elde edilen yanıt oranları %10 ile %30 arasında değişmektedir (81,82). Hafif gastrointestinal semptomlar, deri döküntüleri ve sıcak basması başlıca yan etkileridir (81). Kimyasal olarak meme kanseri geliştirilmiş dişi sıçanlarda kısa süreli veya aralıklı vorozol uygulamasının meme kanserini inhibe ettiği gösterilmiştir (83,84). Sürekli tedavide kemopreventif aktivite artmaktadır. Bu verilere dayanılarak, postmenopozal kadınlarda meme kanseri önleme çalışmalarında kullanılabilecek bir ajan olabilir

Anastrozol

Postmenopozal ileri evre meme kanserli hastaların tedavisinde İkinci seçim hormonal tedavi için ABD'de 1996 yılında FDA onayı almıştır. Günümüzde ileri evre postmenopozal meme kanserinin birinci seçenek tedavisinde tamoksifene alternatif olarak kullanılmaktadır. Adjuvan tedavide kullanımı ile ilgili çalışmalar devam etmektedir.

Postmenopozal ileri evre meme kanserli kadınlarda birinci basamak hormonal tedavi olarak günde bir kez 1 mg anastrozol ile günde 20 mg tamoksifenin karşılaştırıldığı iki çalışmada anastrozolün tamoksifene eşdeğer etkinlikte olması ve tolerans profilinin daha iyi olması nedeniyle metastatik hastalıkta alternatif bir tedavi seçeneği olabileceği bildirilmiştir (85,86). Her iki çalışmada da anastrozol grubunda progresyona kadar geçen süre daha uzun bulunmuştur (87). Tromboembolik olaylar ve vajinal kanama tamoksifen kolunda daha fazla görülmüştür. Vasomotor ve gastrointestinal yan etkiler ise her iki ilaçta aynıdır (88).

Postmenopozal, hormon reseptörü pozitif hastalarda kemoterapiden hemen sonra ilk seçenek adjuvan hormonal tedavide anastrozol, tamoksifenden ve anastrozol-tamoksifen kombinasyonundan üstün bulunmuştur. Anastrozol grubunda karşı taraf meme kanseri insidansı anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur. Endometrium kanseri, vajinal kanama, serebrovasküler olaylar, tromboembolik komplikasyonlar ve sıcak basması da anastrozol grubunda anlamlı derecede daha az görülürken, kemik komplikasyonları tamoksifen grubunda anlamlı derecede daha az görülmüştür. Anastrozolün postmenopozal kadınların adjuvan tedavisinde yerini alabilmesi için bu çalışmanın uzun süreli sonuçlarının beklenmesi gerekir (89).

Postmenopozal kadınlarda %80'in üstünde östradiol baskılanmasına neden olur. Premenopozal kadınlarda, ciddi böbrek yetersizliği olanlarda (klirens <20 ml/dk), orta veya şiddetli karaciğer yetersizliği olanlarda kontrendikedir. Östrojen içeren tedavilerle birlikte uygulanmamalıdır (90, 91).

Genellikle iyi tolere edilir. Hafif, orta derecede anoreksi, bulantı, kusma, diyare gibi gastrointestinal rahatsızlıklar en sık görülen yan etkiler olarak bildirilmiştir (69, 85, 92, 93).

Letrozol

İleri evre meme kanserinde tamoksifene alternatif olarak birinci seçim tedavide kullanılır. Klinik çalışmalarda elde edilen cevap oranları %9 ile %13 arasında değişmektedir (94, 95). Letrozolün 0.5 mg ve 2.5 mg/gün dozuyla aminoglutetimidin 500 mg/gün dozunun karşılaştırıldığı randomize çalışma sonucunda letrozolün 2.5 mg/gün dozu klinik etkinlik açısından en üstün bulunmuştur (96). Ciddi yan etkiler aminoglutetimid grubunda daha fazladır. Yaşam süresi letrozol grubunda aminoglutemid grubundan yaklaşık bir yıl daha uzundur. Letrozolün iki farklı dozuyla (0.5 mg ve 2.5 gün /gün) megestrol asetat 160 mg /gün dozunun karşılaştırıldığı çift-kör randomize çalışma sonucunda da en iyi sonuçlar letrozol 2.5 mg/gün grubunda elde edilmiştir (97). Ciddi yan etkiler megestrol asetat grubunda daha fazla görülmüştür. Postmenopozal ileri evre meme kanserli hastalarda birinci basamak tedavi olarak letrozol ve tamoksifenin karşılaştırıldığı bir çalışmada letrozol klinik fayda, objektif cevap oranı ve progresyona kadar geçen süre yönünden tamoksifenden daha üstün bulunmuştur (98). Bu sonuçlara dayanılarak metastatik meme kanserinin birinci basamak tedavisinde tercih edilebileceği belirtilmiştir.

Lokal ileri evre meme kanserli, reseptör pozitif, operasyonu mümkün olmayan veya meme koruyucu cerrahi için uygun olmayan hastalarda letrozol ile tamoksifenin kıyaslandığı bir çalışmada dört aylık tedavi sonrasında klinik cevap oranı letrozol grubunda %55, tamoksifen grubunda % 36 bulunmuştur ($p < 0,001$) (6). Erb-1 ve Erb-2 pozitif olan tümörler letrozolden (%88), tamoksifene (%21) kıyasla daha fazla yarar sağlamışlardır (99). Letrozol ve tamoksifeni postmenopozal meme kanserli hastaların adjuvan tedavisinde karşılaştıran çalışmalar devam etmektedir.

Letrozolün Etki Mekanizması

Nonsteroidal 3. jenerasyon bir aromataz inhibitörüdür. Aminoglutemidden 200 kat daha aktiftir ve oral kullanıma uygundur (70, 76). Plazma ve idrar östron ve östradiol seviyelerini düşürücü etkisi, tedavinin ilk 24 saati içinde başlar (94). Serum östradiol seviyesini düşürücü etki yönünden fadrozolden 100 kat daha potenttir (95). Progesteron ve kortikosteron düzeylerine etki etmez. Aldosteron sentezini östrojen sentezini inhibe ettiği konsantrasyonların 10 bin katından fazlasında inhibe eder.

Letrozolün Farmakolojisi

Oral kullanım sonrası gastrointestinal kanaldan hızlı ve tam olarak emilir. Biyolojik yararlanımı %99.9'dur. Plazma proteinlerine bağlanma oranı %60'dır. Sitokrom P450 enzimi ile metabolize edilir. Terminal eliminasyon yarı ömrü yaklaşık 2 gündür. Her gün 2.5 mg letrozol ile kararlı plazma düzeyine 2-6 hafta içerisinde ulaşılır. Uzun süreli tedavide letrozol birikimi olmaz. Hastanın yaşı, böbrek fonksiyon bozukluğu ve orta derecede karaciğer yetersizliği farmakokinetiğini etkilemez. (100,101). Tamoksifenle birlikte verildiğinde, tamoksifen, letrozolün plazma düzeyini %37.6 oranında düşürür (102). Letrozolün tamoksifen düzeyine etkisi yoktur.

Letrozolün Yan Etkileri

Hayvan ve insan çalışmalarında hiçbir sistemik ve hedef organ toksisitesi görülmemiştir. Baş ağrısı ve gastrointestinal semptomlar başlıca yan etkileridir. Hafif ve orta derecede bulantı, baş ağrısı, sıcak basması, yorgunluk, kilo artışı ve periferik ödem yapabilir (102).

2.3.2. Steroidal Aromataz İnhibitörleri

Aromataz sitokrom P-450 enziminin katalitik bölgesine kovalent bağlarla kalıcı olarak bağlanarak aromataz aktivitesinin kaybına neden olur. Bu nedenle inhibisyonun devamı için sürekli ilacın bulunması gerekmez ve yan etkileri azdır. Formestan ve ekzemestan bu grupta yer alır (68,70).

Formestan

Tamoksifene dirençli ileri evre meme kanserinde kullanılır. Metastatik meme kanserli hastalarda elde edilen cevap oranları %23-37 arasında değişmektedir (103). Cevap süresi 8-14 aydır. Metastatik hastalık nedeniyle daha önce hiç kemoterapi verilmemiş, hormon duyarlı postmenopozal hastalarda formestanın 2 haftada bir kez uygulanan 250 mg'lık dozu tamoksifenin 30 mg/gün'lük dozu ile karşılaştırıldığında yan etkilerin aynı sıklıkla görüldüğü ve her iki tedavi seçeneğinin de iyi tolere edildiği gözlenmiştir. Bu çalışmanın sonucunda kullanım rahatlığı nedeniyle birinci seçenek tedavide tamoksifen önerilmiştir (104).

Ekzemestan

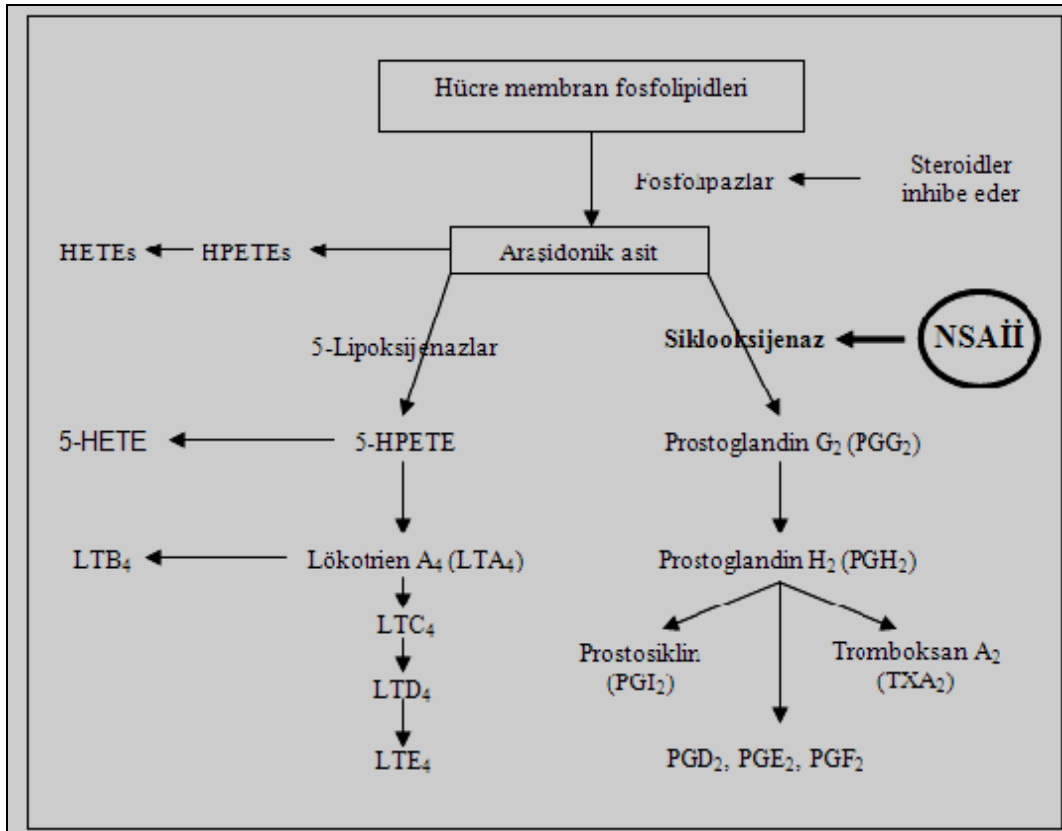
İleri meme kanserinin ikinci seçim tedavisinde kullanılır. Faz II çalışmalarda elde edilen cevap oranı %18'dir (105). İkinci jenerasyon bir aromataz inhibitörü olan ekzemestanın 25mg/gün'lük dozu ile megestrol asetatın 160 mg'lık dozunun karşılaştırıldığı araştırmada ekzemestanın anlamlı sağkalım yanısıra düşük oranda görülen yan etkileri nedeniyle ileri evre meme kanserinin ikinci basamak tedavisinde iyi bir alternatif olduğu sonucuna varılmıştır (106).

Günlük 25mg ekzemestan vücut aromatzasyonunu %98 oranında azaltır. Oral biyoyararlanımı iyidir, hızla emilir. Genellikle kilo alımına neden olmaz (72,68).

2.4. Non-steroidal Antiinflatuar İlaçlar (NSAİİ)

Aspirin, diğer salisilatlar ve farklı yapısı olan yeni ilaçlar antiinflatuar glukokortikoidlerden ayırt edilmek amacıyla NSAİİ olarak adlandırılırlar. Bu ilaçlar romatizmal hastalıkla ilişkili inflamasyon semptomlarını baskılamak için kullanılırlar. Bazıları ağrı (analjezik) ve ateş (antipiretik) tedavisinde de yararlıdır (107). NSAİİ'lar siklooksijenazı bloke ettiğinden prostoglandinlerin rol oynadığı inflamatuvar reaksiyonları kontrol altına alırlar (108). Fosfolipaz A₂ hücre membranındaki fosfolipidlere etki ederek araşidonik asitin ortaya çıkışına neden

olur. Antiinflamatuvar analjezikler siklooksijenaz enzimlerini inhibe ederler, fosfolipaz A₂'ye etki etmezler. Daha güçlü antiinflamatuvar etki yapan glukokortikoid ilaçlar ise daha çok fosfolipaz A₂ enzimini inhibe ederek sadece siklooksijenaz ürünlerinin değil, aynı zamanda lipooksijenaz ürünlerinin sentezini de azaltırlar (109). Şekil 2.1'de hücre membran fosfolipidlerinden araşidonik asit, prostoglandin ve lökotrien sentezi ile bu yolakta antiinflamatuvarların etki yerleri görülmektedir(110).



Şekil 2.1. Fosfolipidlerden prostoglandin ve lökotrien sentezi ile antiinflamatuvarların etki yerleri-Özen ve ark.(125)'den alınmıştır.

2.4.1. Aspirin

Aspirin, NSAİİ'lar içinde en fazla kullanılanı ve en ucuz olanıdır. Genellikle ağız yolundan alınır, parenteral preparatları seyrek kullanılır. İlk tedaviye giren NSAİİ'dır ve analjezik antiinflamatuvar ilaç olarak değerini korumaktadır. Toksikitesi görece düşük bir ilaçtır. Antipiretik etkisi de vardır. Aspirin COX-1 ve COX-2 molekülünde, substrat araşidonik asidin içine girer, bağlandığı kanal

çeperindeki bir amino asid rezidüsünü asetiller ve bu enzimleri geri-dönüşsüz (irreversibl) inhibe eder; diğer NSAİİ'lar ise geri-dönüşlü inhibisyon yapar.

Deneysel iltihap modellerinde aspirinin prostaglandin, prostasiklin ve tromboksan sentezini inhibe ettiği kanıtlanmıştır. Aspirin Trombositlerin siklooksijenaz sistemini geri dönüşsüz, selektif ve güçlü bir şekilde bloke eder. Antiagregan etkisi düşük dozlarda oluşur (111).

Aspirinin Farmakokinetiği

İlaç alındıktan 20 dakika gibi kısa bir süre sonra kandaki düzeyi, minimum etkin düzeyin üstüne çıkar ve analjezik etki başlar. Absorpsiyon ince barsakta devam eder. Aspirin karaciğer ve kanda salisilata hidrolize edilir.

Aspirinden salisilatın eliminasyonu doza bağımlı kinetik gösterir. Düşük dozlarda verildiğinde karaciğerde %80 oranında glisin ile birleşmek suretiyle salisilürik aside dönüşür ve böbreklerden bu şekilde itrah edilir. Yüksek dozda aspirin verildiğinde enzimatik mekanizmalar doyurulmuş olduğu için salisilat sıfır derece kinetiğine göre sabit hızda metabolize edilir. Ağızdan 300 mg dozunda verildiğinde eliminasyon yarılanma ömrü 3 saat kadar olduğu halde 10 g dozunda alındığında bu süre 19 saate çıkar (111).

Aspirinin Kullanılışı

Aspirin ağız yolundan genellikle tablet şeklinde verilir, belirtilen dozlar, gerektiğinde 4-6 saatte bir tekrarlanır. Analjezik olarak kullanılıştta günlük maksimal dozu 4 g sınırını geçmemelidir. Antitrombotik etkisi nedeniyle çeşitli kardiyovasküler hastalıkların tedavi ve profilaksisinde günde veya gün aşırı genellikle 80-325 mg gibi küçük dozda kullanılır. Retrospektif bir çalışmada düşük dozda uzun süre aspirin kullananlarda kolonda polipozis ve kolorektal kanser meydana gelmesi riskinin önemli ölçüde azaldığı ve bu bakımdan maksimum etkinin haftada toplam 4-6 tablet alanlarda görüldüğü saptanmıştır. Bu etkinin nedeni tam olarak bilinmemektedir. Ancak, insanda adenokarsinom dokusunda COX-2 ekspresyonunun belirgin derecede arttığı görülmüştür. NSAİİ'ların antianjiyogenik etkisinin de sözkonusu etkiye katkısı olabilir (111).

Aspirinin Yan Etkileri

1. Gastrointestinal Kanal İrritasyonu, Kanaması ve Ülserojenik Etki:

Aspirin ve sodyum salisilat yaptıkları tahriş nedeniyle, bulantı, kusma, epigastriumda şişkinlik hissi ve dispepsiye neden olurlar.

2. Kanama ve Hemostaz: Aspirin düşük dozda alındığında trombositlerin agregasyonunu inhibe eder ve kanama zamanını (süresini) uzatır. Heparin'in ve oral antikoagülanların antikoagülan etkisini potansiyalize eder. Yüksek dozda verildiğinde karaciğerde protrombin ve diğer pıhtılaşma faktörlerinin (faktör VII, IX ve X ve fibrinojenin) sentezini doza bağımlı bir şekilde azaltır ve bu azalma K vitamini ile tersine çevrilebilir. Protrombin zamanını ve koagülasyon zamanını uzatır.

3. Allerjik Reaksiyonlar: Aspirin alanlarda seyrek olarak allerjik reaksiyon gelişir.

4. Solunum Sistemi Üzerine Etkileri: Terapotik dozlarda alındıklarında solunum merkezini hafif stimule ederler.

5. Kardiovasküler Sistem Üzerine Etkileri: Dolaşan kan hacmini ve kalbin atış hacmi ile birlikte kalbin iş yükünü artırır.

Aspirin ve diğer NSAİİ'lar (COX-2 inhibitörleri dahil), prostaglandin sentezini inhibe etmelerine bağlı olarak antinatriüretik etkileri, su ve tuz retansiyonu yapmaları ve vazokonstriksiyona eğilim yaratmaları nedeniyle hipertansiyonlu hastalarda kan basıncı yükselmesi olasılığını artırır (111). Gastrointestinal yan etki olasılığı daha düşük olduğu için tedaviye giren COX-2 inhibitörlerinin, klasik NSAİİ'lardan farklı olarak ölümcül olabilen ciddi kardiyovasküler yan etkiler oluşturduğu bildirilmiştir. Söz konusu etkinin "grup" etkisi olabileceği konusunda ipuçları bulunmaktadır ve belirtilen ciddi yan etkileri nedeniyle farklı kimyasal yapıda olan çeşitli COX-2 inhibitörleri tedaviden çekilmiştir (111).

6. Salisilizm: Baş ağrısı, baş dönmesi, uyuşukluk, görme bulanıklığı, işitme kaybı ve kulak çınlaması, hiperventilasyon, bulantı, kusma ve bazen diyare ile kendini gösterir. Aspirine bağlı işitme kaybı, ilaç kesildikten sonra geçer, işitme kaybı ve kulak çınlaması aspirin intoksikasyonunun erken işaretleri olarak kabul edilir. Doz daha da artırılırsa dispne, abuk sabuk konuşma, eksitasyon, mani, halüsinasyon ve deliryum ile karakterize ağır zehirlenme tablosu belirir. Hipoalbuminemi hastalarda salisilizm belirtileri daha düşük dozlarda ortaya çıkar.

7. Hepatotoksik Etki: Aspirin'in ve diğer NSAİİ'ların (özellikle nimesulid, parasetamol ve sulindak) hepatotoksik etki potansiyeli vardır. Bu etkisi çocuklarda erişkinlerdekinden daha belirgindir. Yüksek dozda salisilat tedavisi sonucunda plazmada oluşan 25-30 mg/dl konsantrasyonlarında karaciğer fonksiyon testlerinin bozulması sık görülen bir bulgudur. Nadir görülen bir hepatoensefalopati türü olan Reye sendromu gelişebilir.

8. Antinatriüretik Etki ve Böbrek Zedelenmesi: Aspirin ve diğer NSAİİ'lar (COX-2 inhibitörleri dahil), böbrekte PGE₂ ve PGI₂ sentezini inhibe ederek glomerüler filtrasyon hızını ve böbrek kan akımını azaltabilirler. Böbrek tubuluslarında Na⁺ ve su reabsorpsiyonunu artırabilirler ve itrahını azaltabilirler (antinatriüretik etki). Bu etkilere bağlı olarak vücutta tuz ve su retansiyonu yapabilirler. Yüksek dozda ve özellikle predispozisyon yapan bir durum varsa (yaşlılık gibi), akut böbrek yetmezliğine neden olabilirler.

9. Yara Nedbeleşmesi: Antiinflamatuvar analjezik ilaçların yara nedbeleşmesi üzerindeki etkileri deney hayvanlarında ve genellikle aspirin dışındaki ilaçlar kullanılarak incelenmiştir. Nedbeleşmenin sürdürülmesinde nedbe dokusundaki hücrelerde COX-2 enziminin indüklenmesi rol oynar. NSAİİ'ların yukarıda sayılan olumsuz etkilerinin bu enzimi inhibe etmelerine bağlı olduğu sanılmaktadır (111).

Aspirin ve Karsinogenez

Aspirin, çok eskiden beri bilinen ve iyi tanımlanmış bir ilaç olmasına karşın prostoglandin sentezini inhibe ederek meydana getirdiği analjezik, antiinflamatuvar, antiagregan ve antipiretik etkilerine ilaveten anti-neoplastik etkisi de son zamanlarda ortaya çıkmıştır (112). İnsanlarda aspirinin antikarsinojenik etkileri kolon üzerinde yoğunlaşmıştır. Yayınların büyük bir çoğunluğunda kolorektal kanser riskinde aspirine bağlı olarak %40-60 arasında bir azalma olduğu belirtilmektedir (113). Kolorektal kanser riski ile aspirin kullanımı arasında ilişki sadece ilacın devamlı kullanıldığı durumlarda ortaya çıkmaktadır ve aspirinin kullanım süresi ile ilgili çalışmalarda bir kaç yıllık bir kullanımın önemli bir koruma sağlamadığı görülmüştür. Düzenli bir şekilde 10 yıl süreyle aspirin kullanımı risk faktörünü azaltmada başarılı olmaktadır. Bazı çalışmalarda uzun süreli ve düzenli aspirin kullanımı ile kanser riskinde büyük bir azalma meydana geldiği belirtilmektedir (114,115).

Kullanılacak aspirin dozu hakkında çok az bilgi mevcuttur. Aspirinin düşük doz (325 mg ve/veya daha düşük değerler) kullanımında kolorektal kanserde etkinliği olmadığını gösteren çalışmalar yanında düşük dozlarda aspirinin etkinliğini gösteren çalışmalar da vardır (115-119).

Son zamanlarda tanımlanan bir enzim olan *inducible* siklooksijenaz 2'nin (iCOX-2) kolon tümörlerinde ekspresyonunun arttığı tesbit edilirken COX-1' de böyle bir ekspresyon görülmemiştir. Bu bulguya dayanarak COX-2'nin tümörün gelişmesinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir(120,121).

Kolon kanserleri üzerine, aspirinin kemopreventif etkisinin nasıl olduğu bilinmemesine karşın, neoplastik hücrelerdeki değişiklikleri araşidonik asit metabolizmasını ve platelet fonksiyonlarını etkileyerek yaptığı düşünülmektedir (122,123).

Biyokimyasal olarak aspirin asetilleyici bir ajan olarak etki ederken, farmakolojik olarak ise araşidonik asitten PG endoperoksitlerinin sentezini katalize eden enzimlerin asetilasyonu üzerine önemli etki gösterir (124). Aspirinin bu özelliği hücre büyümesinin regülasyonunda etkili olabilir. İnflamasyon sırasında hücrelerin aktivasyonu, COX-1 ve COX-2 'nin katalitik bölgesine serbest araşidonatların bağlanmasına neden olur. COX-1 çeşitli dokuların hücrelerinde devamlı olarak mevcut iken, COX-2 büyüme faktörleri, sitokinler, tümör promoterleri ve mitojenle uyarılabilir. Aspirin aktif bölgedeki serin'i asetilleyerek COX-1'i irreversibl olarak inhibe eder. Asetilize olmuş COX-2, PGH2 oluşumunu katalize edemez fakat araşidonik asidin 15. karbon atomuna oksijen bağlanmasını önler (125). Aspirin lipoksijenaz yolunu etkilemediği için tedavi sonucunda lipoksijenazlar birikir. Lipoksijenaz yolu metabolitlerinden olan 15 HETE' nin ürünleri olan lipoksinler inflamatuvar cevapta önemli rol oynar fakat bunların mitogenezisteki rolü henüz incelenmemiştir (116). Aspirin COX-1 ve COX-2' nin inhibisyonu yolu ile hidroksi asitlerin antiproliferatif etkisini artırarak kolorektal kanserlere karşı koruyucu etki gösterebilir. NSAİİ kullanımının benign ve malign kolon tümörü gelişimini azalttığı gösterilmiştir (115-117). Aspirin ve diğer NSAİİ'lerin kullanımı meme kanseri gelişimini azaltmakla birlikte, COX-2 enzim inhibitörleri ile yapılan birincil önleme çalışmaları devam etmekte olup sonuçları beklenmektedir.

2.5.İmmünohistokimyasal Belirleyiciler ve Genel Özellikleri

2.5.1.Siklooksijenaz Enzim Sistemi

Siklooksijenaz enzim sistemi COX-1 ve COX-2 enzimleri aracılığı ile araşidonik asitten prostaglandinler ve tromboksan sentezini sağlar (15). Her iki enzim de siklooksijenaz ve peroksidaz aktivitesine sahiptirler. Bu enzimler sırasıyla aktive olur ve önce araşidonik asitten prostaglandin G₂ (PGG₂) ve PGH₂ sentezlenir, ardından birçok prostaglandinler (PGD₂, PGE₂, PGI₂) ve tromboksan A₂ (TxA₂) sentezlenir.

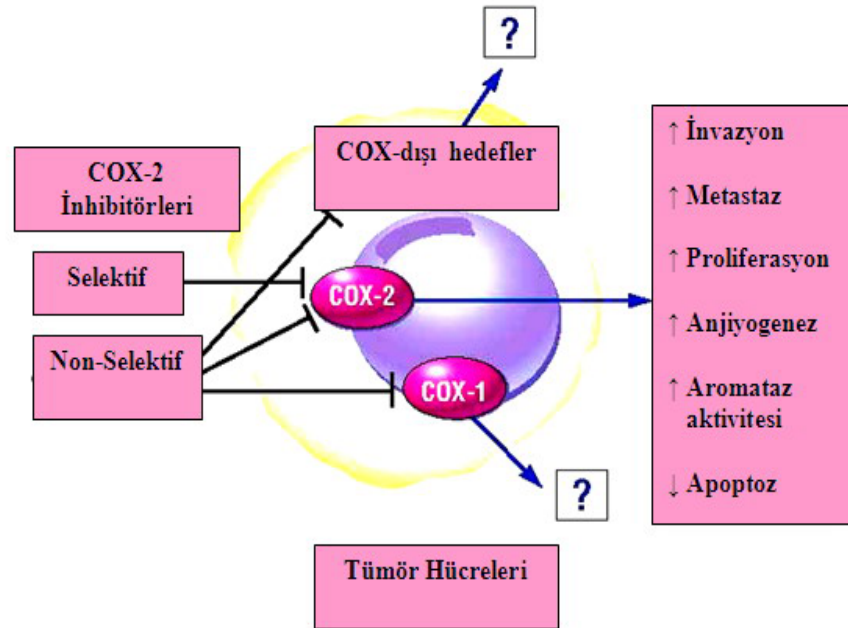
COX-1 tüm dokularda normal olarak bulunurken, COX-2 her dokuda bulunmaz ve ancak bazı uyaranlarla sentezi artar. COX-2 normal olarak, beyin, testis ve trakeada bulunur. Hücre dışı uyaranlar büyüme faktörleri, sitokinler, hormonlar, tümör promotörleri, peroksizomal proliferatörler, hipoksi, iyonize radyasyon ve bazı karsinojenler COX-2 sentezini artırır (15,16). COX-2 uyarımı, transkripsiyon artışı ve COX-2 mRNA'sının stabilizasyonuna yol açar. COX-1 ve COX-2 enzimlerinin her ikisi de endoplazmik retikulumda bulunur. Hücre içindeki birçok sinyal iletimi ve metabolik yollarda önemli yerleri olan COX sisteminin, birçok fizyolojik ve patolojik oluşumda yer almaları şaşırtıcı değildir (14-17). Özellikle hemostaz, trombosit agregasyonu, böbrek ve mide fonksiyonlarında, bağışıklık sisteminde, kemik metabolizmasında, üreme ve hormonal sistemde, inflamasyon ve kanserde aktif rol alırlar. Ayrıca COX enzim sistemi, hücre içinde enerji transfer sistemi oksidasyon reaksiyonlarını da aktive eder. Bazı karsinojenler hücre içindeki POX adında oldukça aktif peroksidaz adı verilen enzim sistemi aracılığı ile karsinogenezde rol alır. COX enzim sistemi POX aktivitesini artırarak karsinogenezde önemli rol oynar (17). NSAİİ'lerin yaygın kullanımından dolayı epidemiyolojik çalışmalar neticesinde birçok hastalık patogenezinde COX sisteminin rolünün olduğu gösterilmiştir.

COX-2 artışı kolorektal kanser, meme, prostat, mesane, mide, özefagus, cilt, karaciğer, pankreas, beyin ve akciğer gibi birçok kanser türünde gösterilmiştir. Birçok çalışmada NSAİİ kullanımının kolorektal kanser gelişimini engellediği gösterilmiştir (14,17). COX-2 ve kanser arasındaki ilişki ilk olarak APC geni taşıyan farelerde gösterilmiş, COX-2 geni defektli olan farelerde adenomatöz polip oluşumunun belirgin olarak azaldığı ortaya konmuştur (14). Bu sebeple klinik olarak

ailesel adenomatöz polipozis sendromu olan hastalarda NSAİİ kullanımı polip sayı ve boyutlarında belirgin azalma sağlamıştır. COX-2 aşırı artışı karsinogenezde önemli rol oynar ve COX-2 inhibitörlerinin kullanımı kanserin önlenmesinde ve tedavisinde fırsat yaratmıştır (14).

COX ve Karsinogenez

COX-2 ve karsinogenez ile ilgili birçok mekanizma öne sürülmüştür. Yapılan hayvan deneyleri ve insan çalışmalarında COX-2 enziminin, hücre proliferasyonu, artmış anjiyogenez, defektif apoptoz, metastaz artışı, immün supresyon, mutajenik etki, oksidatif ürünlerde artış ve aromataz enzim indüksiyonu yaptığı gösterilmiştir (14,126). Tüm bu sistemlerin bir yada birkaçının etkilenmesi karsinogenezde önemli rol oynar (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Siklooksijenaz sistemi (COX-1 ve COX-2) ve Karsinogenez mekanizmaları (126).

COX-2 ve Anjiyogenez

Anjiyogenez, yani yeni damar oluşumu, kanserin gelişiminde, yayılımında ve invazyonunda önemli ve hayati rol oynar. Anjiyogenez, tümör boyutu 2-3 mm iken başlar. Tümör anjiyogenezi, eski damarların destabilizasyonu, vasküler endotel hücrelerin proliferasyonu ve endotel hücrelerinin ekstrasellüler alana göçü ile başlar

(14-17,126,127). COX-2 ve anjiyogenez ilişkisi ilk olarak diklofenak kullanılan COX-2 pozitif kolon kanser dizilerinde anjiyogenez azalması ile gösterilmiştir. Ardından birçok kanser tipinde COX-2 ile anjiyogenez belirleyicileri (VEGF, B-FGF, TGF- β) aynı anda gösterilmiştir (128,129). Meme ve serviks kanserinde mikrodamar yoğunluğu (MVD) ile VEGF ve COX-2'nin birlikte artışı gösterilmiş ve kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir (128,129). Kronik inflamasyon, sitokinler vb. uyarılar COX-2 artışı yaparak prostaglandin artışına yol açar. TXA₂, PGE₂ ve PGI₂ endotelial hücre göçü ve yeni damar oluşumuna yol açarken, COX-2 direkt olarak anjiyogenik faktörleri uyarır ve vasküler geçirgenliği artırır. Tüm bunlar karsinogenez ve metastaz potansiyelini arttıran mekanizmalardır. Meme kanserinde VEGF artışı kötü prognostik parametre olarak bilinmektedir. COX-2 spesifik inhibitörlerinin tümör anjiyogenezini inhibe ederek tümörde gerilemeye yol açtığı gösterilmiştir (130-132).

COX-2 ve Hücre Proliferasyonu

Yüksek proliferatif tümörler hücre siklusunun S fazı ya da G1-2 arasında yüksek mitotik kapasiteli tümörlerdir. Bu tümörler oldukça agresiftir. Bir o kadar da tedaviye hassas tümörlerdir. Proliferasyon kapasitesi; Ki-67, S fazı analizi ve ploidi analizi ile ölçülür. COX-2 ile artmış PGE₂, hücre proliferasyonunda artışa yol açar. Meme epitel hücrelerinde prostaglandinler, proliferasyon artışı ve mitojenik etkiye sebep olur. Prostaglandinler ayrıca aromataz enzimi aktivitesini artırıp östrojen sentezine yol açarak meme epitel ve tümör hücrelerinde proliferasyonu artırır (126,130). Ristimaki ve ark.(132)'lerinin yaptığı çalışmada memede COX-2 ile Ki-67 ekspresyonu arasında anlamlı pozitif bir korelasyon saptanmıştır (132).

COX-2 ve Apoptoz

Apoptoz programlı hücre ölümüdür. Fizyolojik ve patolojik süreçler apoptotik hücre ölümünü etkiler. Tümör gelişiminde anti-apoptotik mekanizmalar, önemli bir yer tutar. Tümör gelişiminde proliferasyon artışı ve antiapoptotik mekanizmalar birlikte rol almaktadır. COX-2 ilişkili apoptoz inhibisyonu birçok tümör dokusunda gösterilmiştir (16). Meme dokusunda antiapoptotik mekanizmalar ve proapoptotik mekanizmalar COX-2 varlığından etkilenmektedir. Meme kanserinde PGE₂, BCL-2 ve Mcl-1 (myeloid cell leukemia) protein artışına yol açarak COX-2 ilişkili

apoptozis inhibisyonundan sorumludur (16). COX-2 hücre döngüsünde G1 fazında yavaşlamaya neden olarak apoptozda dirence sebep olur. NSAİİ tümör dokusunda apoptoz artışı ve tümör regresyonuna yol açar (16,133).

COX-2, Aromataz Enzimi ve Östrojen

Östrojenler kadın reproduktif hayatının başlangıcından itibaren önemlidirler. Östrojenler kadınlarda meme ve endometrium kanserinden sorumlu en önemli faktördür (126). Her dokuz kadından biri hayatı boyunca meme kanserine yakalanma riskine sahiptir. Tüm meme kanserlerinin 1/3'ü postmenopozal, meme kanserlerinin de 2/3'ü östrojen bağımlıdır ve hormon reseptörleri pozitifdir. Östrojen ve östrojen benzeri hormonların meme kanserine nasıl yol açtığı hala araştırılmaktadır. Östrojenler, hücre üzerindeki etkilerini nükleer steroid reseptörlerine bağlanarak yaparlar. Böylelikle, DNA transkripsiyonu, mRNA sentezi ve spesifik protein sentezi sonucu meme epitel hücreleri ve kanser hücrelerinde proliferasyona yol açarlar. Östradiol en potent östrojendir. Östradiol kadınlarda sitokrom P450 enzim kompleksi tarafından (aromataz enzimleri) androjenden sentezlenir. Bu aromataz enzimi premenopozal evrede en çok overlerde ve plasentada, postmenopozal dönemde periferik yağ dokusunda bulunur. Aromataz enzimi ayrıca meme dokusunda da bulunur. Lokal östrojen üretiminin önemi araştırılmaktadır. Siklooksijenaz sistemi aracılığı ile (COX-2) lokal olarak tümör dokusunda sentezlenen PGE₂ nin aromataz aktivitesini arttırarak östrojen sentezini arttırdığı gösterilmiştir (18-20). Premenopozal kadınlarda serum östrojen seviyeleri ve meme kanseri riski arasındaki ilişki ile ilgili bilgiler tutarlı değildir. Postmenopozal hastalarda yüksek serum östrojen seviyesi ve artmış meme kanseri riski ile ilgili çalışmalar daha çok ve tutarlıdır (134-136) Aromataz enzim aktivitesi tümör dokusunda daha yüksektir. NSAİİ'lerin meme kanserinin gelişimini azaltmaları da bu enzimler arasındaki ilişkiyi ve patogenezdaki yerini açıklayabilir (137,138). Yapılan bir çalışmada meme kanserli dokularda, COX-2 düzeyi ile aromataz enzimi arasında korelasyon saptanmıştır (139). Her iki enzimin artmış aktivitesi meme kanseri gelişiminde ve patogenezinde önemli rol oynamaktadır. Halen sürmekte olan klinik çalışmalarda aromataz enzim inhibitörleri ve COX-2 inhibitörlerinin meme kanserinde birlikte kullanımının sonuçları merakla beklenmektedir (140).

2.5.2. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF)

VEGF, özellikle endotel hücreleri için özgün etkilere sahip olan multifonksiyonel bir büyüme faktörü ailesidir. Endotel hücrelerinin proliferasyonuna, migrasyonuna ve differansiasyonuna neden olur (141). VEGF, hem gelişim sırasında, hem de yetişkinde vaskülogenez ve anjiogenez için önemli ve gereklidir. Bu büyüme faktörünün, özellikle damar oluşumunda kritik rol oynarken, endotel hücrelerinin yaptığı bir çok fonksiyonda da gerekli olduğu görülmüştür. Bunlar embriyogenez, yara iyileşmesi, tümör büyümesi, miyokardial iskemi, oküler neovasküler hastalıklar ve romatoid artrit gibi kronik inflamatuvar hastalıkları da kapsayan fizyolojik ve fizyopatolojik olaylardır.

VEGF Üyeleri ve Yapıları

VEGF, trombosit kaynaklı büyüme faktörleri süperailisinin önemli bir üyesidir. VEGF ailesi VEGF-A (Human-VEGF), VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E ve plasenta büyüme faktörü (PlGF) adı verilen altı üyeden meydana gelmektedir (142-144).

VEGF Sentez Yerleri

Endotel hücreleri için önemli bir mitojen olan ve migrasyon etkisine sahip bu faktör, fizyolojik olarak ovulasyondan hemen önce ovaryum folliküllerinden salgılanarak yeni damarların oluşumunu arttırmaktadır (143). Yine VEGF yetişkinde akciğer alveolar hücrelerde, böbrek glomerüllerinde, proksimal tübüllerde ve düşük seviyede de olsa karaciğer hepatositleri ve beyinde gösterilmiştir (144). Ayrıca, adrenal korteksin tüm hücrelerinde ve testiste testosteron üreten Leydig hücrelerinde VEGF yapımına ait mRNA'ların sentezlendiği gösterilmiştir. VEGF, makrofajlarda, arteriollerini çevreleyen fibroblastlarda, akciğer bronşiyol epitelinde, koroid pleksus epitelinde ve renal glomerül visseral epitelinde bulunmaktadır (145).

VEGF mRNA'sının transkripsiyonu, PDGF, KGF, EGF, TNF- α , TGF- β 1 ve IL- β 1 gibi çeşitli faktörler tarafından başlatılır. Bu maddeler mitojenik olmayıp VEGF salgılanmasını artırarak dolaylı olarak mitojenik aktiviteyi arttırmaktadır (146). Protein büyüme faktörlerinin haricinde, forbol esterleri ve prostaglandin E₂ (PGE₂) gibi bazı küçük mediatörlerin de VEGF ekspresyonunu düzenledikleri saptanmıştır (146).

Hipoksi, VEGF ve reseptörlerinin yapımını indükleyerek anjiogenezi başlatan en etkili stimullardan biridir. Buna örnek olarak büyüyen tümörlerin merkezlerinde hipoksi oluşması ve hipoksiyi engellemek için tümör hücrelerinden VEGF ekspresyonu ile yeni damar yapımı gösterilebilir. Yine tıkanmış kalp damarlarına bağlı gelişen hipoksi sonrasında da VEGF ekspresyonu artmaktadır. Hipoksinin VEGF'ü artırma mekanizmasının sadece bir kısmı çözülebilmektedir. VEGF yapımı hipoksi tarafından tetiklenirken, karbonmonoksit (CO) tarafından inhibe edilmektedir (13,141). Hipoksinin yanında düşük pH ve sitokinler ile de VEGF ekspresyonu artmaktadır (141).

Hipoksi; IL-1, endotelin-1, cAMP, Ca²⁺, forbol esterleri, sitokinler, steroid hormonlar, ağır metaller VEGF yapımını uyarırken aktinomin-D, Karbon monoksit (CO), nitrik oksit (NO) ve cGMP VEGF yapımını inhibe eder (147).

VEGF ve Endometrial Anjiogenez

Normal menstrüel siklusun olduğu bir reproduktif yaşamda, anjiogenez ve vasküler değişim ile endometriyumda yapım ve yıkım, birbirini izleyen olayları kapsamaktadır. Proliferatif dönemde endometriyum fonksiyonel tabakasında anjiogenez oluşmakta ve bu da endometrial kalınlığı artırmaktadır. Sekretuar fazda spiral arterioller uzamakta ve kıvrımları artmakta, aynı zamanda subepitelyal kapiller pleksuslar olgunlaşmaktadır. Postmenstrüel dönemde anjiogenez tamir için yeniden başlamaktadır. Normal olmayan endometrial anjiogenez, anormal damar yapılarına ve artmış damar geçirgenliğine yol açmakta ve bunun sonucunda anormal uterin kanama oluşmaktadır (147). Ovaryan steroidler (östrojen, progesteron) endometrial VEGF yapımında etkilidirler.

Menstrüel siklus boyunca endometrial VEGF seviyelerinin fazlar süresince değiştiği bilinmektedir (148). Stromal VEGF ekspresyonu proliferatif fazda sekretuar faza göre daha fazla olmaktadır (149). Stromal VEGF ekspresyonu proliferatif fazda maksimum iken glandüler VEGF ekspresyonu sekretuar dönemde pik yapmaktadır (150). Östrojen VEGF sekresyonunu ve VEGF içeren hücre sayısını artırmaktadır (151). Overleri alınmış farelere östrojen verilmesini takiben ilk 2 saatte VEGF mRNA'sı özellikle stromal hücrelerde artış göstermiştir (152). Bununla birlikte 24 saat sonra stromal hücrelerde VEGF saptanmazken lüminal epitelde VEGF mRNA seviyesi oldukça artmış olarak saptanmıştır. İnsan endometrial hücre kültürlerinde

östrojenin VEGF ekspresyonunu stimüle ettiği bilinmektedir (153,154). Östrojenin VEGF ve endotel hücre proliferasyonu üzerine hızlı etkisi olmasına karşın progesteron daha yavaş ve daha az etkili olmaktadır. Farelerde yalnız progesteron enjeksiyonu sonrası VEGF mRNA artışı 24 saat sonrasında ve başlıca stromal hücrelerde gelişmektedir (155,156). Menstrüel siklusun diğer fazları ile karşılaştırıldığında premenstrüel dönemden itibaren VEGF seviyelerinin belirgin bir şekilde artması menstrüasyondan sonra endometriumun onarımı için VEGF'nin gerekli bir büyüme faktörü olduğunu göstermektedir.

2.5.3. Ki-67

Ki-67 proteini ilk defa Gerdes ve ark. (159) tarafından kobayın Hodgkin lenfoma hücreleri ile immünize edilmesi sonucu 1983 yılında tarif edilmiş ve çoğalan bütün hücrelerde izlenmiştir. Ki-67'nin hücre proliferasyonunda önemli rol oynadığı saptanmıştır (158, 159).

Hücre Siklusu Sırasında Ki-67 Protein Ekspresyonu

Ki-67, çoğalan hücrelerde görülen bir çekirdek proteindir. Esas olarak G₁, S, M ve G₂ fazında görülür. G₀ fazında yoktur. Hücre proliferasyonunu doğru olarak yansıtan bir proteindir (160). Meme, prostat, kolon, akciğer, karaciğer ve gastrik karsinomlarda, bazı lenfoma ve sarkomalarda olduğu gibi artmış proliferasyonun olduğu ve bu vakalarda Ki-67 veya PCNA kullanılmak suretiyle yapılan immünohistokimyasal yöntemlerle proliferasyon hızı ve prognoz hakkında fikir sahibi olunabildiği bilinmektedir (161-163,164).

2.5.4. BCL-2 Ve Apoptozis

Apoptoz, antiapoptotik ve proapoptotik proteinler arasındaki denge tarafından düzenlenir. Bcl-2 gen ailesi proteinleri (bcl-2, bcl-xL, bax, bak, bad) apoptozun düzenlenmesinde belirleyici bir role sahiptir (165,166). Gelişim ve diferansiyasyon boyunca canlılığın düzenlenmesinde fonksiyon görürler. Normalde fetal ve erişkin dokuda eksprese edilen bcl-2, hücre proliferasyonuna neden olmadan hücrenin canlılığını sağlayan apoptoz inhibitörüdür (167). BCL-2'nin overekspresyonu; radyasyon, UV, p53, kemoterapötik ilaçlar gibi değişik stimuluslar tarafından başlatılan hücre ölümünü engeller ya da belirgin biçimde azaltır (167, 168). Bunu genel apoptoz yolunu kapatarak yapar (168).

Normal Endometriumda Bcl-2

Bcl-2 ailesi apoptotik prosesi hem arttırmak hem de engellemek açısından önemlidir. Kromozom 18 üzerinde lokalize bcl-2 (B cell lymphoma/leukemia-2) geni, bir hücrenin apoptozise irreversible olarak şartlanmış olup olmadığını düzenlemektedir (169). Bcl-2 proteini apoptozisle ilişkili moleküllerin belki de en iyi karakterize edilmiş olanıdır ve veriler bcl-2 proteininin kesin olarak hücre ölüm süpresörü olarak rol oynadığını desteklemektedir. Bugüne dek bcl-2'nin insan endometriumunda proliferatif faz sırasında apoptozisi inhibe ettiği düşünülüyse de, insan endometriumundaki apoptozisin kesin mekanizması halen tam olarak bilinmemektedir (170, 171). Endometrial bez ve stromal hücrelerde siklik olarak gözlenen bcl-2, geç proliferatif fazda doruğa çıkmakta ve geç sekretuar ve menstrüel fazda azalmaktadır. Myometrial kas hücreleri ise menstrüel siklus boyunca yeterli bir bcl-2 immunoreaktivitesi sergilemektedir. Bundan dolayı bcl-2 hem endometrial bez hücreleri hem de myometrial düz kas hücrelerinin yaşaması için esansiyel bir gen ürünü olabilir (172,173). Bir çalışmada, bcl-2'nin siklik şekilde ortaya çıkışının levonorgestrel kullanımından sonra gerçekleşmediği gösterilmiştir (174). Bu da steroid hormonların sabit şekilde uygulanmasının, bcl-2'nin eksprese edilmesini etkilediğini göstermektedir. İmmünohistokimyasal boyama yöntemi kullanılan normal endometriumun fonksiyonel tabakasında bazal tabakasına göre, bcl-2, Fas ve kaspas-3'ün farklı düzeylerde ekspresyonu gözlemlenmiştir (174). Antiapoptotik protein olan bcl-2'nin bazal tabakada daha fazla eksprese edildiği, buna karşın ölüm reseptörü olan Fas ve kaspas-3'ün endometriumun fonksiyonel tabakasında daha yüksek düzeyde bulunduğu aynı çalışmalarda görülmüştür. Bu sonuçlar endometriumun fonksiyonel biyolojisi ile çok iyi uyum sağlamaktadır. Menstrüel siklus boyunca, bazal tabaka daha sabit olduğu için apoptozis bu tabakada daha az olmakta, buna karşın siklik büyüme, diferansiasyon ve dökülme yaşayan fonksiyonel tabakada apoptozis daha yüksek oranda görülmektedir.

Bugüne kadar bcl-2 ailesinin 15 geni tarif edilmiştir. Bcl-2 gen ailesinin diğer üyeleri, bcl-2'den bağımsız olarak ya da bcl-2'nin görevlerinin tamamlayıcısı olarak, apoptozis mekanizmalarını kontrol etmede rol almaktadırlar. Bcl-2 ailesinin üyeleri, homodimerik ve heterodimerik bağlantılarla haberleşmektedirler. Böylece bir hücrenin potansiyel bir apoptotik stimulusa duyarlılığı, o hücrede o andaki

proapoptotik ve antiapoptotik bcl-2 aile üyeleri ile saptanabilir (173). Endometrial bez hücrelerindeki bcl-2'nin siklik bir şekilde aktive edilmesi, siklus sırasında östrojen ve progesteron reseptör paternindeki değişikliklerle ilişkilidir. Bu konuda yapılan çalışmalarda, antiprogestin ile tedavi edilmiş hastaların endometrial glandüler ve yüzey epitelinde, bcl-2 proteininde artış gözlenmiştir. Yine bu çalışmalar, bcl-2 protein aktivitesinin östrojen ile arttığı, progesteron ile baskılandığını göstermektedir (170, 175, 176).

2.5.5. PECAM (CD-31)

PECAM-1; dolaşımdaki platelet, monosit, nötrofil ve bazı T hücre alt tiplerinin yüzeyinde eksprese edilen Ig süperaillesinin 130 kD ağırlığındaki üyesidir. Ayrıca endotelial hücre intersellüler bileşkesinin ana bileşenlerindendir (177). PECAM-1; kromozom 17'nin uzun kolu ucunda bulunan bir gen tarafından kodlanır (178). Ana yapısı 1990'da belirlendikten sonra PECAM-1; Ig süperaillesinin üyesi olan tip I transmembran hücre adezyon molekülleri olarak sınıflandırılmıştır (179).

Endotelial Hücrelerde PECAM-1'in Fonksiyonu

PECAM-1 inflamatuvar olaylarda lökositlerin ekstrasvazyonuna yol açan adezyon kaskadına katılan ana moleküllerdendir. Muller ve ark. (180) PECAM-1'e spesifik antikorlarla ön işlem yapılmış monosit veya nötrofillerin kantitatif bir invitro transendotelial migrasyon testinde bir endotelial hücre tabakasından göçünün inhibe olduğunu gösteren ilk çalışmacılardır. PECAM-1'e karşı antikorların 3 farklı intakt sıçan inflamasyon modelinde insan deri greftlerinde, alveolar kompartmanda ve peritoneal boşlukta nötrofil birikimini önlediği gösterilmiştir (181). PECAM-1'e karşı antikorların sıçanda iskemi-reperfüzyon hasarı modelinde myokardiyal infarkt boyutunu azalttığı gösterilmiştir (182). Bu çalışma sonucunda akut ve kronik inflamatuvar durumların tedavisinde PECAM-1'in adheziv ve/veya sinyal özelliklerini aktive veya antagonize edecek ajanlar oluşturulması ilgi çekmeye başlamıştır (183). İsmi platelet endotelial hücre adezyon molekülü olsa da PECAM-1'in platelet fonksiyonunda rolüne dair aslında hiçbir şey bilinmemektedir, ancak son çalışmalarda β_3 integrin fonksiyonunu düzenleyen bir agonist reseptör görevine sahip olabileceği bildirilmiştir (183). PECAM-1'in adheziv ve sinyal özellikleri üzerine son çalışmalar vasküler hücre biyolojisindeki rolünü daha iyi anlayabilmemizi

sağlamıştır. Yine de PECAM-1 homofilik etkileşimlerine aracılık eden ekstrasellüler domenin spesifik bölgelerinin tanımlanması ve ayrıca PECAM-1'in rol aldığı sinyal transdüksiyonu sırasında meydana gelen spesifik moleküler olayların aydınlatılması için başka çalışmalar gerekmektedir. PECAM-1'in hangi mekanizma ile adeziv ve hücre modülasyonu etkilerinin gerçekleştiğine dair bilgilerimiz arttıkça bu hücre adezyon reseptörünün trombozis, homeostazis, immunité ve inflamatuvar cevaptaki rolüne dair bilgilerimiz de artacaktır (183).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deneklerin Hazırlığı

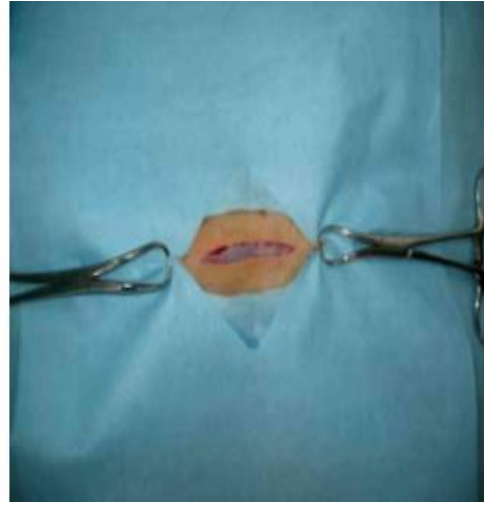
Bu çalışmada ağırlığı 200 – 250 gram arasında değişen yetişkin nullipar Sprague Dawley türü dişi ratlar kullanıldı. Ratlar Tıbbi ve Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezi (TİCAM)' nden sağlandı. Deney başlayıncaya kadar bakımları adı geçen merkezde yapıldı. Rat deneyi için yapılacak tüm işlemler, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu' ndan 17/12/2008 tarih ve 89 dosya kayıt ve karar numarası ile izin alındıktan sonra çalışmaya başlandı. Denekler 12 saat aydınlık/karanlık ışıklandırması olan, ısısı $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ ve nemi $\%55\pm 5$ olarak ayarlanmış ortamda yaşatıldı. Hayvanlar deneye başlamadan 1 hafta önce kafeslere konularak ortam koşullarına adaptasyonları sağlandı. Su ve besin ihtiyaçları günlük olarak sağlandı ve sağlık durumları kontrol edildi (Şekil 3.1). Deneyin başında ve sonunda vücut ağırlıkları tartıldı. Deney sonunda uterus ağırlıkları ölçüldü.



Şekil 3.1. Deneklerin Beslenme Ve Barınma Koşulları

Her grupta 10 denek olmak üzere ratlar 7 gruba ayrıldı. Gruplar, 7 ayrı kafeste muhafaza edildi. Deneye başlamadan önce ön deney yapıldı. Ön deney ile çalışmanın yapılabilir olduğu görüldükten sonra çalışma başlatıldı. Toplam 70 denek ile araştırmaya başlandı ve bir deneğin ölmesi nedeniyle 69 denek ile çalışma tamamlandı. Bilateral ooforektomi işlemine anestezi sağlandıktan sonra insizyon bölgesinin hazırlığı yapılarak başlandı (Şekil 3.2.). Ardından laparotomi ile overlere

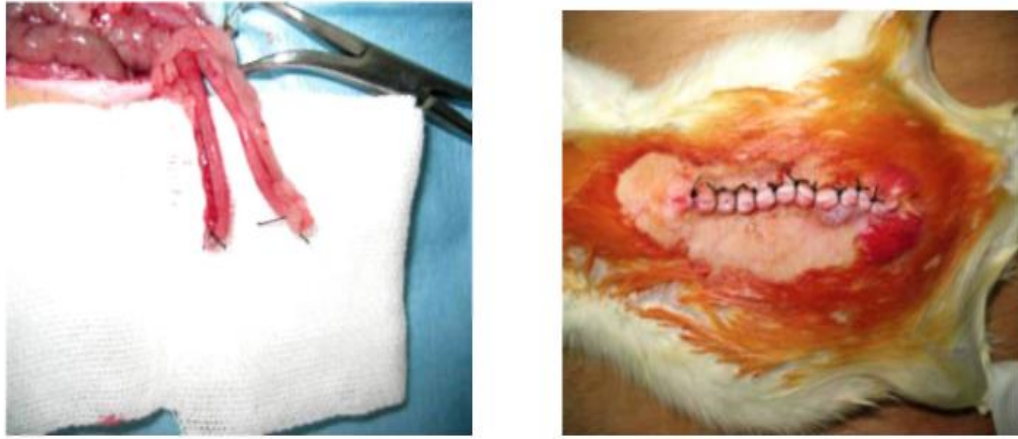
ulaşıldı, etraf yağ dokunun uzaklaştırılmasından sonra overler bilateral bağlandı (Şekil 3.3). Bilateral ooforektomi sonrası batın kapatıldı (Şekil 3.4). Otuz gün süreyle operasyon sonrası bakım ve beslenme sağlandı, günlük enjeksiyonlar 30 gün boyunca her gün aynı saatte olmak üzere Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi (ESOGÜTF) Farmakoloji bölümünden Yrd. Doç.Dr. Engin Yıldırım tarafınca yürütüldü. Deneklerin, son uygulamalar (intrakardiyak kan örneğinin alınması ve uterusun çıkarılması işlemi) başlamadan 18 saat önce katı besin, 2 saat önce de su alımları kesildi.



Şekil 3.2. Deneklerin Ooforektomi Amaçlı Operasyon Hazırlığı



Şekil 3.3. Etraf Yağ Dokunun Sıyırılması ve Over ligasyonu



Şekil 3.4. Bilateral Ooforektomi ve İnsizyonun Kapatılması

3.2. Kimyasal Madde ve Uygulanması

Deney gruplarında bütün ilaçların çözücü kimyasal maddesi olarak dimetilsülfoksit (DMSO) (Sigma Chemical Co. St. Louis, USA, 48H0074, 1l) kullanıldı ve DMSO'nun tek başına uygulandığı ikinci bir kontrol grubu düzenlendi. Otuz gün boyunca intraperitoneal (i.p.) olarak ve gruptaki her hayvana eşit miktarda (0,02ml) olacak şekilde DMSO verildi. DMSO grubunun oluşturulmasının asıl amacı ilaçların çözünmesinde kullanılan DMSO'ya bağlı olarak meydana gelebilecek histopatolojik değişikliklerin ilaçlara bağlı gelişen etkilerden ayırtilmesiydi. Dozların miktarları ön çalışma ile belirlendi. Enjeksiyonlar, her bir hayvan için ayrı enjektörler kullanılarak ve her gün aynı saatte yapıldı. Deneyde belirtilen süre sonunda sakrifikasyon işlemi öncesi anestezi için ketamin 90 mg/kg (Ketalar, 50 mg/ml, flakon, Pfizer) ve xylazine 10 mg/kg (Rompun, %2' lik injeksiyonluk solusyon, Bayer) kullanıldı.

3.3. Deney Grupları

1. Kontrol (Serum fizyolojik) grubu (n=10): On adet Sprague Dawley sıçana her gün saat 07.00-09.00 arasında 1ml/kg/gün serum fizyolojik intraperitoneal yolla 30 gün süreyle uygulandı.

2. Kontrol (Dimetil sülfoksit) grubu (n=10): On adet Sprague Dawley sıçana her gün saat 07.00-09.00 arasında 1mg/200 gr sıçan ağırlığı/gün dimetil sülfoksit (Sigma Chemical Co. St. Louis, USA, 48H0074) intraperitoneal yolla 30 gün uygulandı.

3. Tamoksifen grubu (n=10): On adet Sprague Dawley sıçana her gün saat 07.00-09.00 arasında 1mg/200 gr sıçan ağırlığı/gün Tamoksifen (Sigma, St. Louis, USA) intraperitoneal yolla 30 gün uygulandı.

4. Letrozole grubu (n=10): On adet Sprague Dawley sıçana her gün saat 07.00-09.00 arasında 0,1mg/200 gr sıçan ağırlığı/gün letrozol (Sigma, St. Louis, USA) intraperitoneal yolla 30 gün süreyle uygulandı.

5. Aspirin grubu (n=10): On adet Sprague Dawley sıçana her gün saat 07.00-09.00 arasında 2mg/200gr sıçan ağırlığı/gün aspirin (Sigma, St. Louis, USA) intraperitoneal yolla 30 gün süreyle uygulandı.

6. Tamoksifen+Aspirin grubu (n=10): On adet Sprague Dawley sıçana her gün saat 07.00-09.00 arasında 1mg/200gr Tamoksifen (Sigma, St. Louis, USA) sıçan ağırlığı/gün intraperitoneal yolla, 2mg/200gr Aspirin sıçan ağırlığı/gün intraperitoneal yolla 30 gün süreyle uygulandı.

7. Letrozole+Aspirin grubu (n=9): On adet Sprague Dawley sıçana her gün saat 07.00-09.00 arasında 0,1mg/200gr Letrozole (Sigma, St. Louis, USA) sıçan ağırlığı/gün intraperitoneal yolla, 2mg/200gr sıçan ağırlığı/gün Aspirin (Sigma, St. Louis, USA) intraperitoneal yolla 30 gün süreyle uygulandı. On hayvan ile başlanan grupta enjeksiyonun 21. gününde bir denek kaybedildi.

3.4.İntraoperatif Makroskopik Değerlendirme ve Uterusların Çıkarılması

Yüksek doz eter ile anestezi sağlandıktan ve intrakardiyak kan örnekleri alındıktan hemen sonra servikal dislokasyon uygulandı ve ardından laparotomiye geçildi. Farklı gruplarda elde edilen intraoperatif makroskopik bulgular kaydedildi. Daha sonra uterin dokular hızlı bir şekilde çıkarıldı. Materyaller yağ dokudan arındırıldıktan sonra dokular hassas terazi ile tartılarak ağırlıkları kaydedildi.

3.5. Dokuların Takibi ve İmmünohistokimyasal Boyama

Çıkarılan uterin dokular %10'luk formalinde fikse edildi. Ardından her bir uterin horndan patolojik değerlendirme için tüm katları (endometrium, myometrium, seroza) içeren multipl örnekler alındı. Bir gecelik doku takibi ardından bloklama yapıldı. Mikrotomda 4 mikron kalınlığında kesitler alındı. Hematoksilen-eosin ile boyama yapılarak kesitler ışık mikroskobunda değerlendirildi.

Daha sonra 3 mikron kalınlığında yeni kesitler alınarak COX-2 (klon: SP21, dilüsyon: 1/50, Neomarkers, USA), Ki-67 (klon: SP6, dilüsyon: 1/150, SpringBioscience, USA), Bcl-2 (klon: C21, dilüsyon: 1/50, SantaCruz, USA), PECAM-1 (klon: M-20, dilüsyon: 1/100, SantaCruz, USA) ve VEGF (poliklonal, dilüsyon: 1/150, Neomarkers, USA) belirleyicileri ile immünohistokimyasal boyama yapıldı. İmmünohistokimyasal çalışma için ABC (Avidin Biotin Complex) yöntemi kullanıldı.

Kesitlerin alınmasını takiben sırasıyla distile su ile 1 dakika, hidrojen peroksidad %3 ile 10 dakika, distile su ile 1 dakika, Phosphate buffer salin (pH:7.4) ile 2x3 dakika, blocking solüsyonu ile 5 dakika işlem yapıldı. Primer antikolar ile 60 dakika süreyle inkübasyon işlemi uygulandı. Ardından phosphate buffer salin ile 2x3 dakika, link solüsyonu ile 20 dakika, phosphate buffer salin ile 2x3 dakika, streptavidin ile 20 dakika, phosphate buffer salin ile 2x3 dakika, AEC chromogen ile 3 dakika, distile su ile 2x1 dakika, hematoksilin boyası ile 30 saniye, distile su ile 3x1 dakika işlem yapıldı. Havada kurutulup aqueous mounting medium 5 damla damlatılarak lamel ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar trinoküler araştırma mikroskobu ile incelendi, ardından dijital görüntüleme ve analiz sistemi ile bilgisayar ortamında arşivlendi.

3.6. İmmünoreaktivitenin Değerlendirilmesi

3.6.1. VEGF , COX-2 ve BCL-2

İmmünohistokimyasal değerlendirme lüminal ve glandüler epitelde, stromada, damar endotelinde ve myometriümda boyanma şiddetine göre yapıldı. Negatif boyanma 0, zayıf boyanma 1, orta şiddette boyanma 2, şiddetli boyanma 3 olarak skorlandı.

3.6.2. Ki-67

İmmünohistokimyasal boyamaya ait kesitler küçük büyütme ile taranarak lüminal ve glandüler epitelde, stromada ve myometriümda boyanmanın en yoğun olduğu alanlar belirlendi. Boyanmanın en yoğun olduğu 3 alanda nükleer boyanma gösteren hücre yüzdesi x200 büyütmede belirlenerek ortalaması alındı.

3.6.3. PECAM-1

İmmünohistokimyasal boyamaya ait kesitler küçük büyütme ile taranarak endometrial stromada damarlanmanın en yoğun olduğu alanlar belirlendi. Damarlanmanın en belirgin olduğu 3 alanda (*hot spot*) damar sayısı x400'lük büyütmede belirlenerek bunlar içinden en yüksek değer esas alındı.

Rutin patolojik inceleme ve immünreaktivite değerlendirmeleri Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi (ESOGÜTF) Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Mustafa Açıklın ve Öğretim Görevlisi Dr. Evrim Çiftçi tarafından yapıldı.

3.7. Biyokimyasal İnceleme

Biyokimyasal incelemeler, ESOGÜTF biokimya laboratuvarında düzenlendi. Alınan serum örneklerinden immünoassay yöntemi ile (İNVİTROGEN firmasına ait immünoassay kit Catalog KRG0111) RAT VEGF –C antikoru çalışıldı. Alınan kan örnekleri 3000 rpm'de santrifüj edildi. Serum örnekleri tüplere konularak -80 derecede çalışma süresine kadar saklandı. Numuneler çalışmadan önce bir gün oda sıcaklığında bekletilerek çalışmaya hazırlandı.

3.7.1. Reagent (Çalışma Reaktifi) Hazırlanması

- Wash buffer (yıkama solüsyonu) hazırlanması: 50 ml'lik wash buffer solüsyonu 950 ml distile su ile sulandırılıp hazır hale getirildi.
- VEGF-C standardı önerilen şekillerde distile su ile sulandırıldı.
- Biotin konjugatı: Temiz plastik tüplerde biotin konjugatı, assay buffer ile 1:100 dilüe edildi.
- Streptavidin-HRP : Streptavidin önerilen şekilde assay buffer ile 1:400 dilüe edildi.

3.7.2. Biokimyasal Çalışma Basamakları

- 1-Reagentlar kullanılmadan önce hazır hale getirildi.
- 2-Mikrovelleri 2 defa 300 µl wash buffer ile yıkandı ve kurutma kağıdıyla kurutularak hemen çalışmaya başlandı.
- 3- Standartların seri dilüsyonu yapıldı.
- 4-Wellere sample diluenti (50 µl) eklendi.
- 5-Örnekler pipetlendi(50 µl).

- 6-Hazırlanan biotin konjugatı bütün wellere pipetlendi.
- 7-Plate'nin üzeri kaplandı, oda sıcaklığında, mikroplate shaker 'da 2 saat inkübasyona bırakıldı.
- 8-İnkübasyondan sonra weller alınıp 3 defa yıkama işlemi yapıldı.
- 9-Hazırlanmış Streptavidin HRP (100 µl), bütün wellere eklendi.
- 10-Plate kapatılıp oda sıcaklığında, shakerde 1 saat inkübasyona bırakıldı.
- 11-İnkübasyondan sonra plate 3 defa yıkandı.
- 12-TMB substrat solusyonu (100 µl) bütün wellere pipetlendi.
- 13-10 dk oda sıcaklığında shaker'da ışıktan koruyarak inkübasyona bırakıldı.
- 14-Stop solusyonu (100µl) her wele pipetlendikten hemen sonra okundu.
- 15-450 nm'de plate okuyucuda okutuldu ve kalibrasyon grafiğinden sonuçlar değerlendirildi, sonuçlar pg/ml olarak verildi.

3.8. İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel analizler SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 13.0 paket programı ile yapıldı. Veriler median ve 25. persantil ve 75. persantil olarak ve ortalama \pm standart hata olarak sunuldu. Elde edilen verilerin önemliliğini belirlemede deneklerin 0., 2. aydaki vücut ağırlıkları ve 2. aydaki uterin ağırlıklarının karşılaştırılmasında eşleştirilmiş t testi, tek yönlü varyans analizi ve Tukey çoklu karşılaştırma testi, immunohistokimyasal bulguların analizinde Kruskal Wallis testi, biokimyasal analizin yapılmasında Mann Whitney U testi kullanıldı. $P < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

Deney başlangıcında gruplar oluşturulduktan sonra deneklerin ağırlıkları kaydedildi. Otuz günlük postoperatif bakım ve takip sonrası enjeksiyon dönemine geçildi. Otuz günlük enjeksiyon dönemi sonrası denekler tekrar tartıldı. Laparotomi ile uterin dokular çıkarıldı ve hassas terazi ile tartılarak ağırlıkları kaydedildi.

4.1. Grupların İntraoperatif Makroskopik Değerlendirme Bulguları

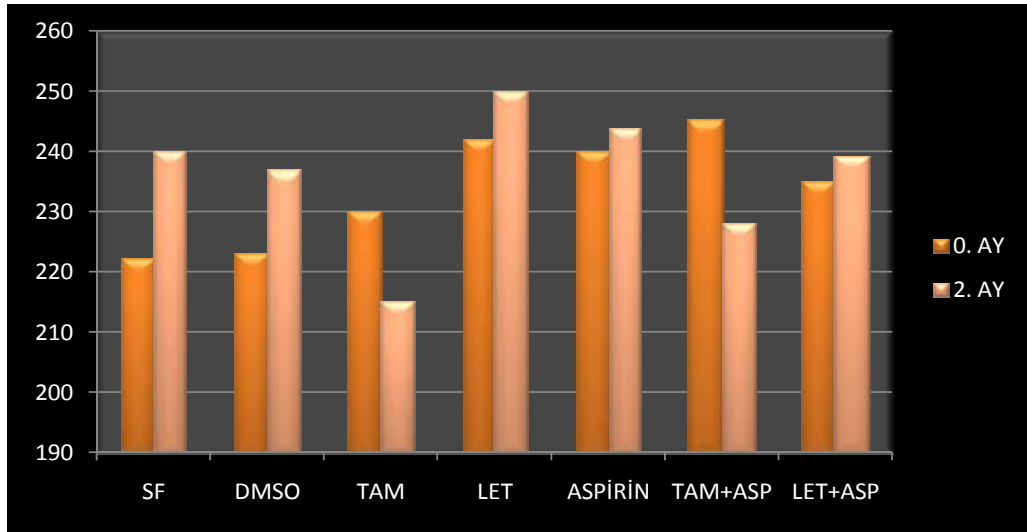
- **SF grubunda** uteruslar soluk, atrofik görünümde, bikornuları ince, uterus etrafı dokularda vaskülarizasyon normal idi. Batın içi yapışıklık minimal, uterus etrafında yaygın yağ planları mevcuttu.
- **DMSO grubunda** uteruslar doğal görünümde ve vaskülarizasyonu normal olup batın içi yapışıklık izlenmedi.
- **Tamoksifen grubunda** uteruslar hipertrofik görünümde, uterin kornular kısalmış, uterus etrafı dokularda vaskülarizasyon ve batın içi yapışıklık artmıştı.
- **Letrozole grubunda** uteruslar atrofik, uterin kornular incelmış ve uzamış görünümdeydi. İki denekte, diğer gruplarda olmayan, mesane içini tamamen dolduran taş izlendi. Batın içi yapışıklık minimal idi.
- **Aspirin grubunda** uteruslar hipertrofik görünümdeydi. Uterus etrafı yağ planlarında vaskülarizasyonda artış izlendi, batın içi yapışıklık yoktu ve batına girildiğinde pelvik organlara çok rahat ulaşıldı.
- **Tamoksifen+aspirin grubunda** batına girildiğinde frozen pelvis hali izlendi, yaygın adezyonlar vardı, uteruslar atrofik görünümde, uterin kornular uzamıştı.
- **Letrozole+aspirin grubunda** batın içi yapışıklık orta derecede izlendi. Uterus atrofik, uterin kornular incelmış görünümdeydi.

Tablo 4.1. Deneklerin Ooforektomi Öncesi (0.ay) ve Enjeksiyon Sonrası (2.ay) Ağırlıklarının Gruplara Göre Karşılaştırılmaları (Ortalama \pm Standart Hata)

| DENEY GRUPLARI | DENEKLERİN OOFOREKTOMİ ÖNCESİ AĞIRLIKLARI (GR) | DENEKLERİN ENJEKSİYON SONRASI AĞIRLIKLARI (GR) | İstatistik P |
|----------------|------------------------------------------------|------------------------------------------------|--------------------|
| 1-SF | 221,6 \pm 4,3 | 239,9 \pm 9,1 | T=-2,137 p>0,05 |
| 2-DMSO | 222,6 \pm 4,6 | 236,7 \pm 4,1 | T=-3,154 P<0,05 |
| 3-TAM | 230,0 \pm 4,2 | 215,3 \pm 6,6 | T=1,842 p>0,05 |
| 4-LET | 241,5 \pm 7,1 | 250,1 \pm 4,6 | T=-1,130 p>0,05 |
| 5-ASPIRİN | 240,2 \pm 7,3 | 244,3 \pm 6,6 | T=-0,485 p>0,05 |
| 6-TAM+ASP | 245,4 \pm 7,0 | 227,8 \pm 5,9 | T=2,342 P<0,05 |
| 7-LET+ASP | 235,0 \pm 6,9 | 238,6 \pm 9,3 | T=-0,318 p>0,05 |
| İSTATİSTİK P | F=2,39 P>0,05 | F= 2,89 P>0,05 | |

F=Tek yönlü varyans analizi istatistiği, T= Eşleştirilmiş t testi

Deneklerin ooforektomi öncesi (0.ay), enjeksiyon sonrası (2.ay) ağırlıkları Tablo 4.1.'de verilmiştir. Tablo 4.1.'de görüldüğü gibi 0. ve 2. aydaki ağırlıklar karşılaştırıldığında DMSO ve Tam+Aspirin gruplarında anlamlı fark gözlenmiştir ($p<0,05$). Gruplar arasında 0. ve 2. aydaki ağırlıkların karşılaştırılmasında grupların ağırlıkları arasında fark olmadığı görülmüştür ($P>0,05$). Enjeksiyon sonrası 2. ay ağırlıkları açısından değerlendirildiğinde tamoksifen grubunun hem letrozol hem de aspirin grubundan daha düşük ağırlıkta olduğu görülmekle birlikte sadece 2. ay sonunda ölçülen tamoksifen+aspirin grubunun kilo kaybı anlamlıdır ($P<0,05$). Şekil 4.1'de deneklerin vücut ağırlıklarının 0. ve 2. ay değerlerinin karşılaştırılması yapılmıştır.



Şekil 4.1. Deneklerin 0. ve 2. Ay Vücut Ağırlıklarının Karşılaştırılması ($p>0,05$).

Tablo 4.2. Deneklerin Uterus Kuru Ağırlıklarının Gruplara

Göre Karşılaştırmaları (Ortalama \pm Standart Hata)

| DENEY GRUPLARI | UTERUS KURU AĞIRLIĞI (GR) |
|----------------|---------------------------|
| 1-SF | 1,25 \pm 0,07 |
| 2-DMSO | 1,06 \pm 0,08 |
| 3-TAM | 1,25 \pm 0,03 |
| 4-LET | 1,13 \pm 0,09 |
| 5-ASPİRİN | 1,24 \pm 0,08 |
| 6-TAM+ASP | 1,24 \pm 0,05 |
| 7-LET+ASP | 1,08 \pm 0,07 |
| İSTATİSTİK P | F=1,58 P>0.05 |

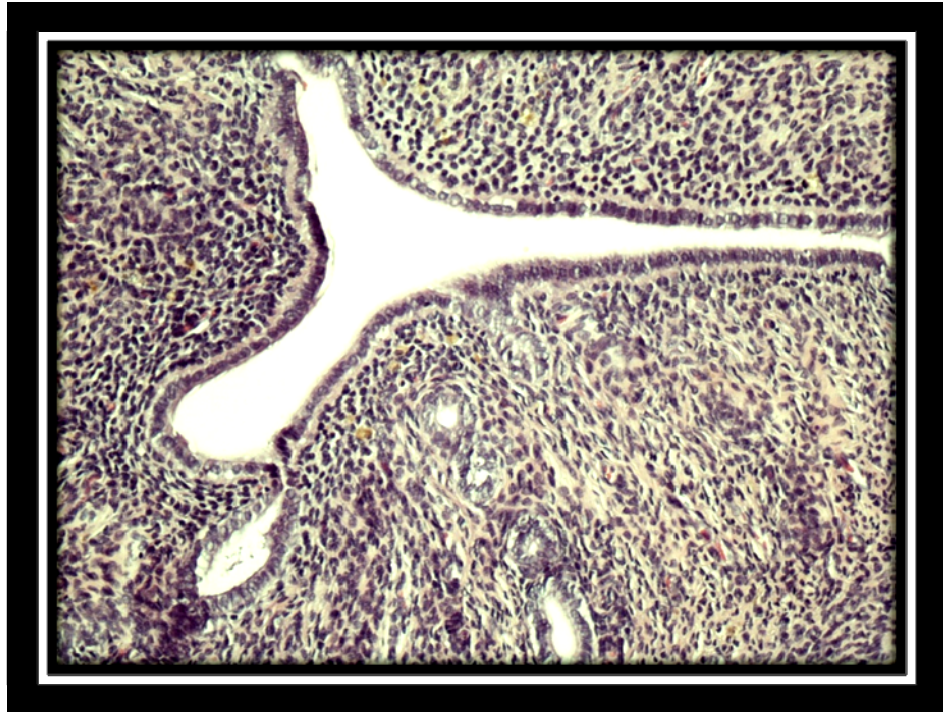
F=Tek yönlü varyans analizi istatistiği

Tablo 4.2.' de görüldüğü gibi letrozol ve letrozol+aspirin grubunda uterin ağırlıklar diğer gruplarla kıyaslandığında azalmıştır ancak gruplar arasında uterin ağırlıklar açısından anlamlı fark saptanmamıştır ($P>0.05$).

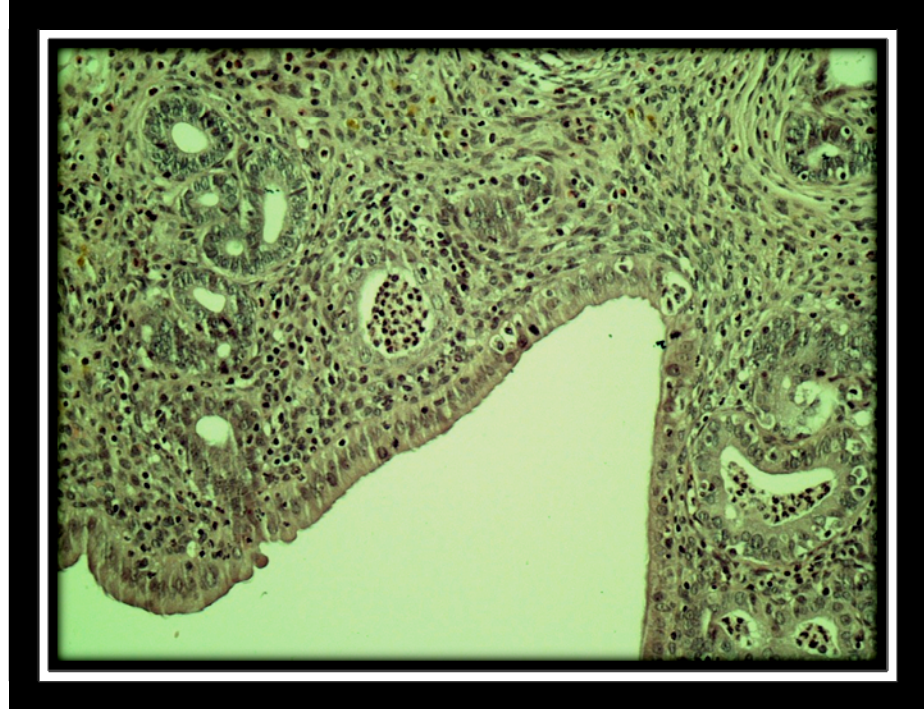
4.2. Gruplara Ait Mikroskopik Bulgular

4.2.1. SF Grubu

1. Endometrial lüminal epitel 5 olguda yüksek kolumnar, 5 olguda alçak kolumnar olarak bulundu (Şekil 4.2).
2. Endometrial glandlar küboidal epitel ile döşeli ve tubuler yapıda idi.
3. Stroma 6 olguda fibrotik, 4 olguda ise sellüler görünümdeydi.
4. Olguların 5'inde epitel içerisinde lökositik infiltrasyon ve hücre kırıntıları, eozinofiller ve 1 olguda ek olarak mikroabseler (akut endometrit) izlendi (Şekil 4.3).



Şekil 4.2. SF Grubu: Lüminal ve glandüler epitel alçak kolumnar özelliktedir. Stromada az sayıda pigment yüklü histiyosit mevcuttur (H&Ex200).



Şekil 4.3. SF Grubu: Glandüler lümenlerde nötrofil kümeleri izlenmektedir (H&Ex200).

4.2.2. DMSO Grubu

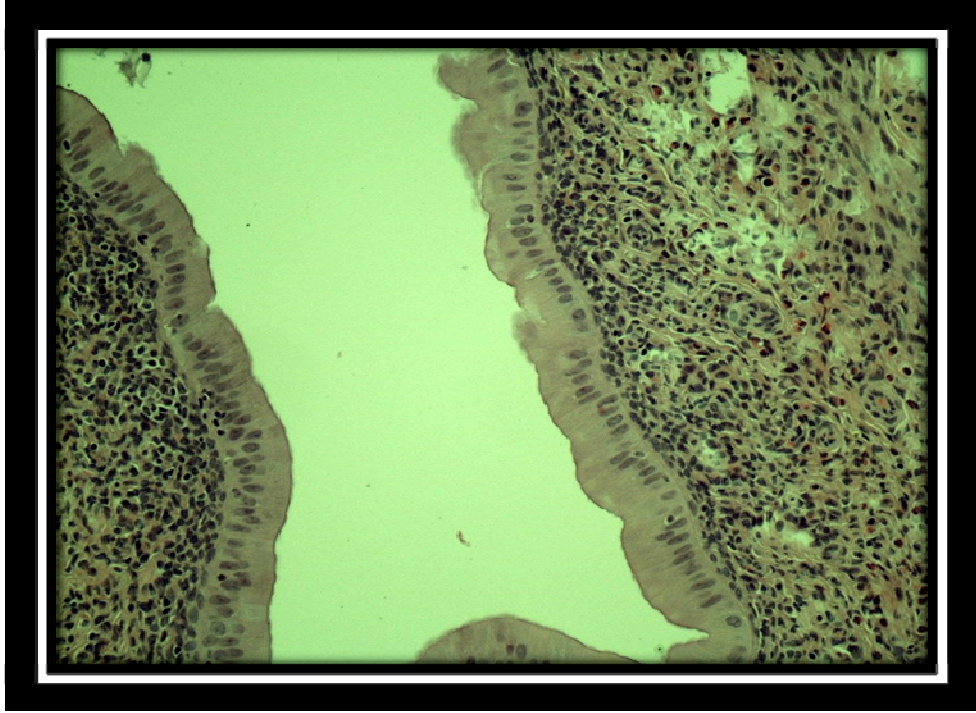
1. Endometrial lüminal epitel 2 olguda yüksek kolumnar, 8 olguda alçak kolumnar olarak bulundu (Şekil 4.4).
2. Glandlar küboidal epitel ile döşeli olup tubuler yapıda idi.
3. Olguların 5'inde stroma fibrotik görünümde, 5 olguda ise sellüler idi.
4. Olguların 2'sinde endometrial stromada eozinofiller bol olarak izlendi.
5. Olguların 2'sinde epitel içerisinde nötrofiller izlendi.



Şekil 4.4. DMSO Grubu: Lüminal epitel alçak kolumnar özelliktedir.
Stromada az sayıda pigment yüklü histiyosit mevcuttur
(H&E x200).

4.2.3. Tamoksifen Grubu

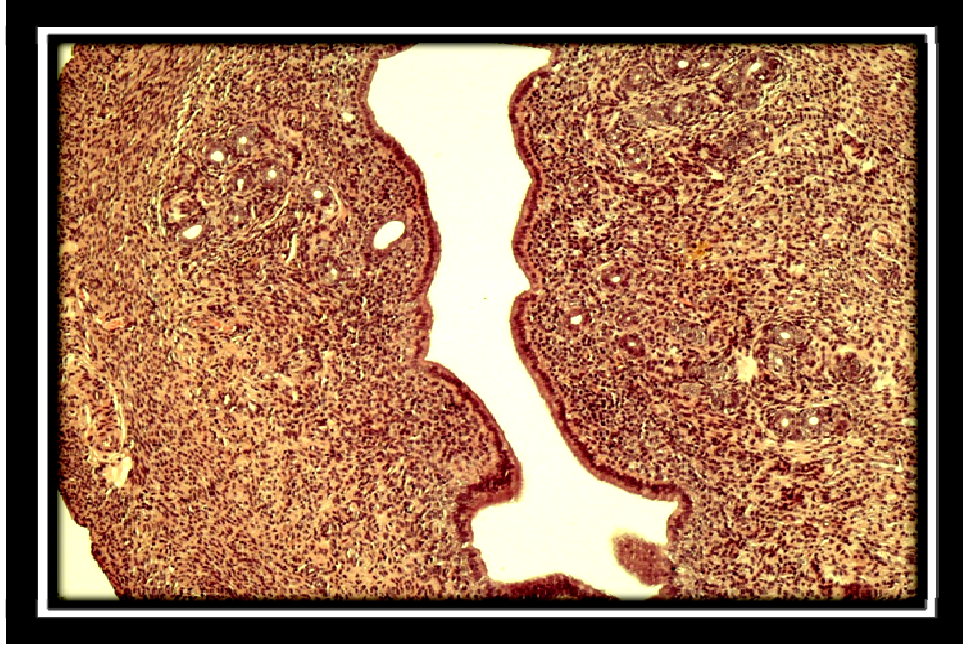
1. Endometrial lüminal epitel yüksek kolumnar, eozinofilik bol sitoplazmalı olarak saptandı (Şekil 4.5).
2. Glandüler epitel yüksek kolumnar olup tubuler yapıda idi.
3. Gland sayısında azalma ve hafif bağ dokusu artışı izlendi.
4. Olguların birinde stroma fibrotik, 9 olguda ise sellüler görünümde idi.
5. Olguların 3'ünde lüminal epitelde skuamöz metaplazi izlendi.
6. Olguların 1'inde endometrial stroma ve gland lümenlerinde bol nötrofil izlendi.



Şekil 4.5. Tamoksifen Grubu: Lüminal epitel yüksek kolumnar özelliktedir. Stromada eozinofiller mevcuttur (H&Ex200).

4.2.4. Letrozol Grubu

1. Endometrial lüminal epitel yüksek kolumnar olarak bulundu (Şekil 4.6).
2. Glandlar küboidal epitel ile döşeli ve tubuler yapıda idi.
3. Stroma genellikle fibrotik görünümde idi.
4. Olguların birinde glandlarda nötrofil kümeleri izlendi.



Şekil 4.6. Letrozol Grubu: Lüminal epitel yüksek kolumnar özelliktedir.

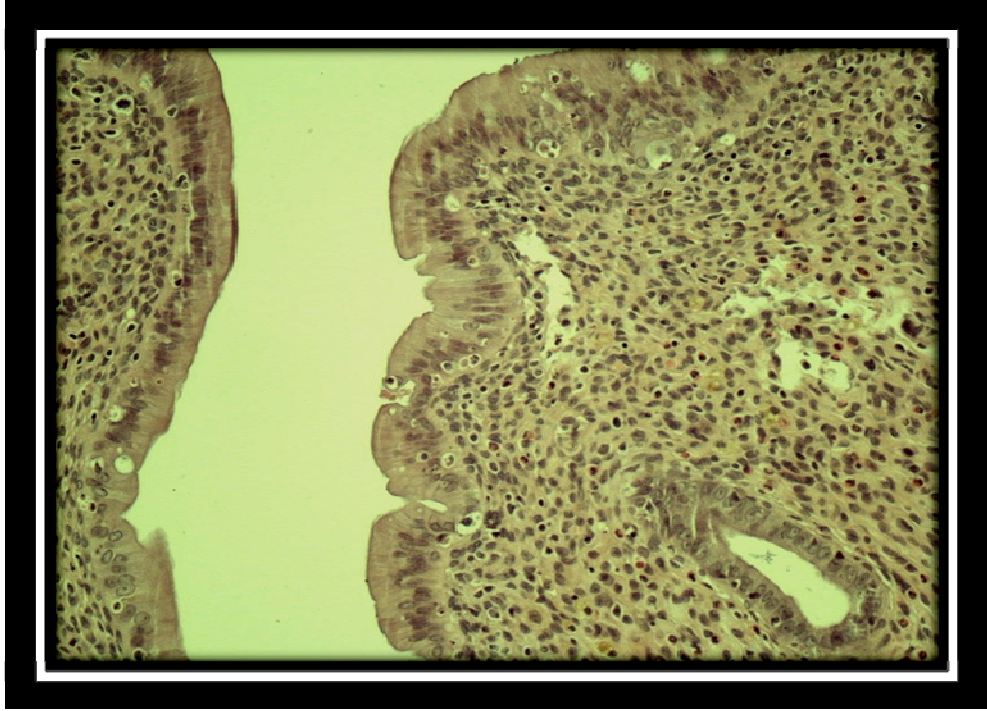
Glandlar tübuler yapıda olup kuboidal epitel ile döşelidir.

Stromada az sayıda pigment yüklü histiyosit mevcuttur

(H&E x100).

4.2.5. Aspirin Grubu

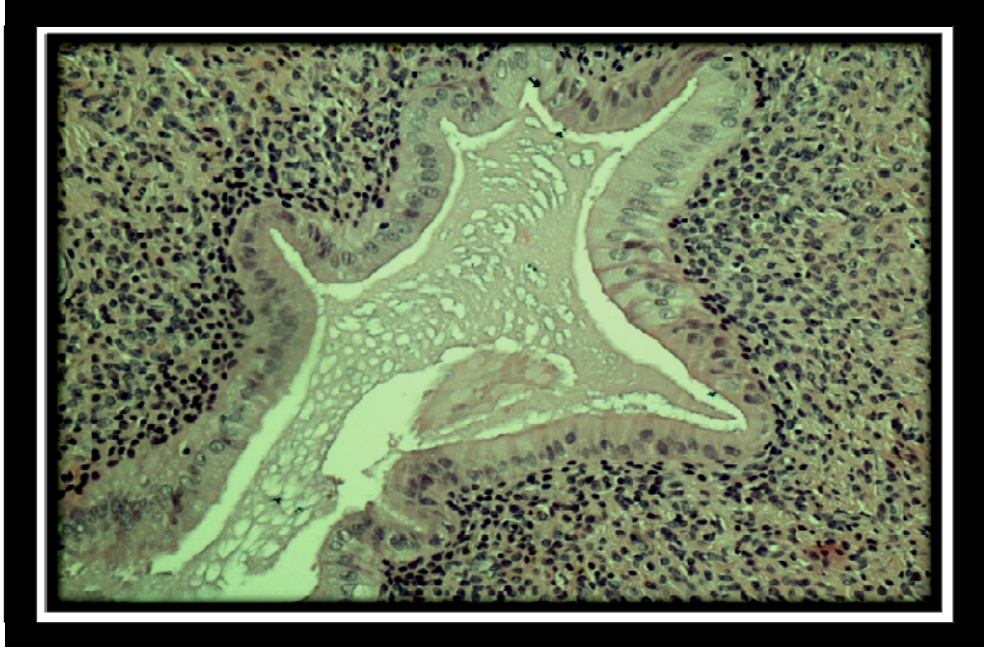
1. Endometrial lüminal epitel 6 olguda alçak kolumnar, 4 olguda yüksek kolumnar olarak bulundu.
2. Glandüler epitel küboidal veya alçak kolumnar olup tubuler yapıda idi.
3. Stroma fibrotik görünümde idi.
4. Olguların 3'ünde lümen ve glandlarda az sayıda nötrofil izlendi (Şekil 4.7.).



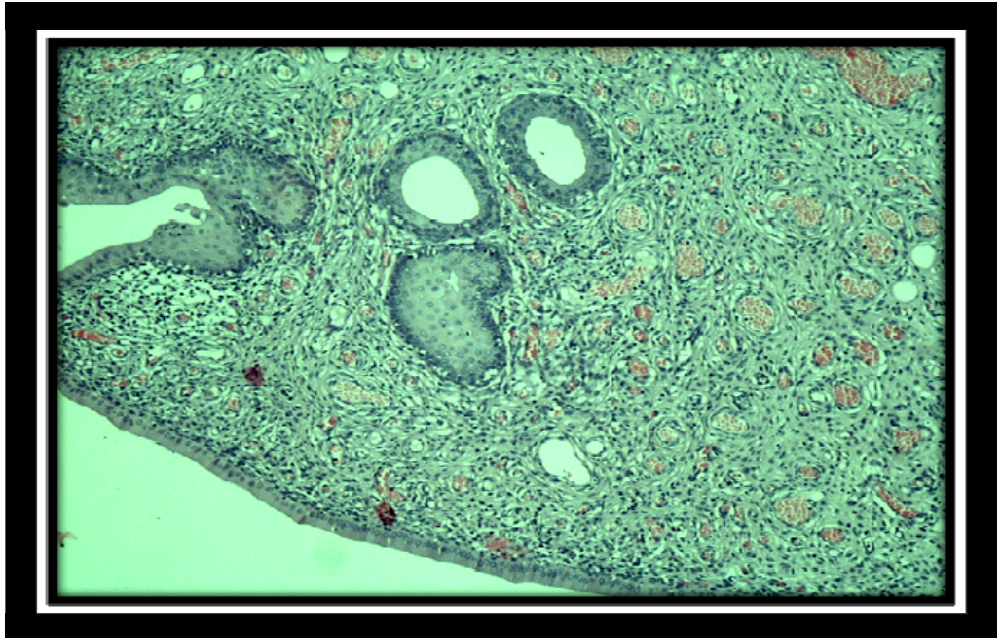
Şekil 4.7. Aspirin Grubu: Lüminal epitel yüksek kolumnar özellikte ve bol eosinofilik sitoplazmaya sahiptir. Glandüler epitel alçak kolumnardır. Stromada pigment yüklü histiyositler ve eozinofiller yer almaktadır (H&E x 200).

4.2.6. Tamoksifen+Aspirin Grubu

1. Endometrial lüminal epitel yüksek kolumnar olup eozinofilik ve bol sitoplazmalı idi (Şekil 4.8).
2. Glandüler epitel yüksek kolumnar idi.
3. Gland sayısı tamoksifene göre daha fazla olarak saptandı.
4. Endometrial stromada hafif bağ dokusu artışı, az sayıda eozinofil ve pigment var idi.
5. Olguların birinde tubal metaplazi ve 2 olguda skuamöz metaplazi saptandı.
6. Olguların 1'inde endometrial polip izlendi (Şekil 4.9).



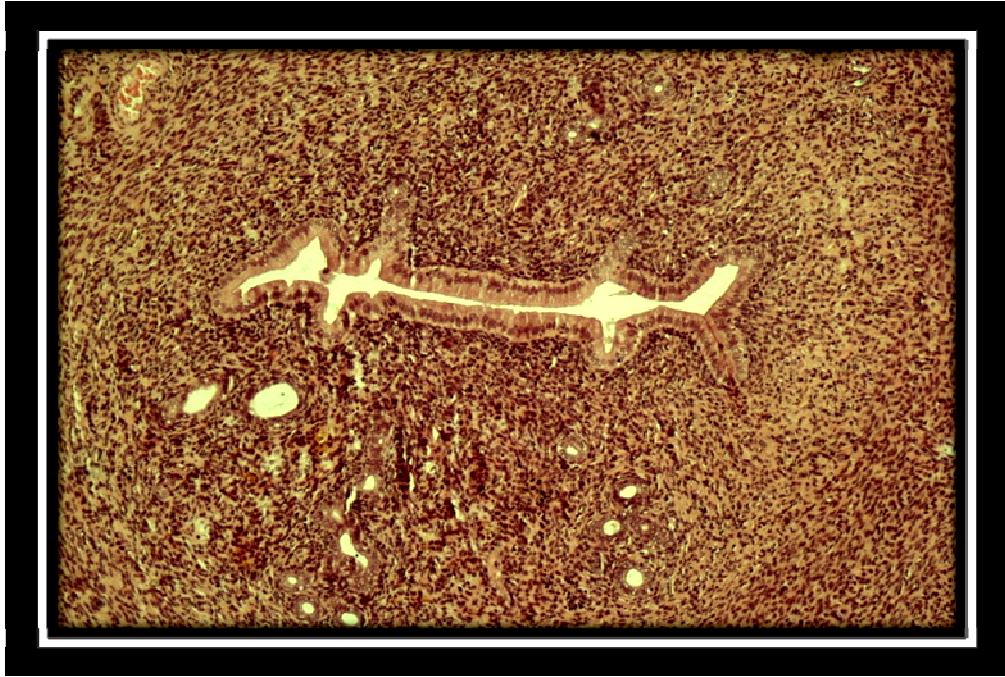
Şekil 4.8. Tamoksifen-Aspirin Grubu: Lüminal epitel yüksek kolumnar özellikte olup bol eozinofilik sitoplazmaya sahiptir (H&Ex200).



Şekil 4.9. Tamoksifen-Aspirin Grubu :Damardan zengin endometrial polipte glandüler epitelde skuamöz metaplazi izlenmektedir (H&Ex100).

4.2.6.Letrozol+Aspirin Grubu

1. Endometrial lüminal epitel yüksek kolumnar olarak bulundu.
2. Glandüler epitel küboidal olup tubuler yapıda idi.
3. Stroma 4 olguda hafif fibrotik, diğerlerinde sellüler görünümde idi.
4. Olguların 2'sinde çok az sayıda nötrofil izlendi.
5. Olguların 1'inde skuamöz metaplazi izlendi (Şekil 10).



Şekil 4.10. Letrozol -Aspirin Grubu: Lüminal epitel yüksek kolumnar glandüler epitel küboidal özelliktedir. Stroma sellüler olup az sayıda pigment yüklü histiyosit içermektedir (H&E x 100).

4.3. Gruplara Ait İmmünohistokimyasal Bulgular

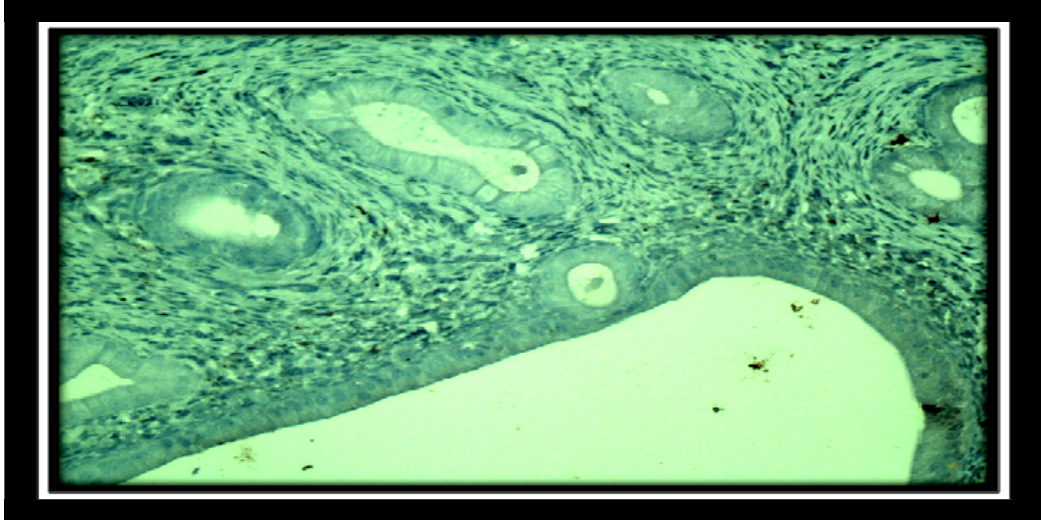
Tablo 4.3. BCL-2 İmmünohistokimyasal Belirleyicisi İle Çeşitli Gruplardaki İmmünoreaktivite Şiddeti (Medyan (25. Persantil – 75. Persantil))

| DENEY GRUPLARI | Bcl-2 ile İmmünreaktivite Şiddeti | | | | |
|----------------|-----------------------------------|------------------|----------------------------|----------------|------------|
| | Lüminal Epitel | Glandüler Epitel | Stromal Hücreler | Damar Endoteli | Myometrium |
| 1-SF | 0 (0 – 1) | 0 (0 – 1) | 2 (1 – 2) | 0 (0 – 0) | 0 (0 – 0) |
| 2-DMSO | 0 (0 – 1) | 0 (0 – 1) | 2,5 (1 – 3) ^{C,D} | 0 (0 – 0) | 0 (0 – 0) |
| 3-TAM | 0(0 – 0,25) | 0 (0 – 0,25) | 0 (0 – 0) ^{B,D} | 0 (0 – 0) | 0 (0 – 0) |
| 4-LET | 0 (0 – 0) | 0 (0 – 0) | 2 (0 – 2) | 0 (0 – 0) | 0 (0 – 0) |
| 5-ASPIRİN | 0 (0 – 1,25) | 0 (0 – 1,25) | 2,5 (2 – 3) ^{A,B} | 0 (0 – 0) | 0 (0 – 0) |
| 6-TAM+ASP | 1(0 –1,25) | 1(0 –1,25) | 0 (0 – 0) ^{A,C} | 0 (0 – 0) | 0 (0 – 0) |
| 7-LET+ASP | 0 (0 – 1) | 0(0 – 1) | 2 (0,75 – 2) | 0 (0 – 0) | 0 (0 – 0) |
| İSTATİSTİK | H= 7,52 | H= 7,52 | H= 38,56 | H= 0 | H= 0 |
| P | P>0,05 | P>0,05 | P<0,001 | P>0,05 | P>0,05 |

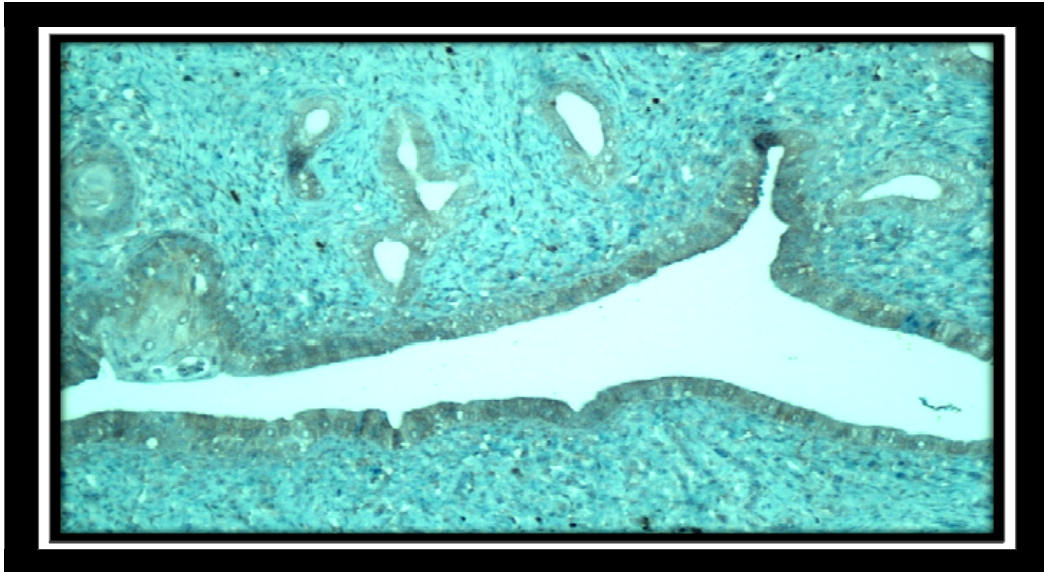
Stromal hücreler için A, B, C, D : (P<0,05), H = Kruskal wallis istatistiği

Tablo 4.3’de görüldüğü gibi tüm gruplar BCL-2 ile boyanma şiddeti açısından karşılaştırıldığında Aspirin ve Tamoksifen-Aspirin grubu arasında stromal hücre boyanması açısından anlamlı farklılık saptandı (A, (P<0,05)). Tamoksifen ve Aspirin grubu arasında da stromal hücre boyanması açısından anlamlı farklılık bulundu (B, (P<0,05)). Benzer şekilde, DMSO ve Tamoksifen-Aspirin grubu arasında da stromal hücre boyanması açısından anlamlı farklılık saptandı (C, (P<0,05)). DMSO ve Tamoksifen grubu arasında da stromal hücre boyanması açısından anlamlı farklılık tespit edildi (D, (P<0,05)). Lüminal epitel ve glandüler epitelde BCL-2 ile boyanma şiddeti açısından gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı (P>0,05). Gruplarda BCL-2 ile damar endoteli ve myometriumda hiç boyanma olmadı. Sonuç olarak tamoksifen stromal hücrelerde BCL-2 ekspresyonunu azaltmıştır. Letrozol ve aspirin

ise stromal hücrelerde kontrol grubu ile kıyaslandığında BCL-2 ekspresyonunu değiştirmemiştir. Aspirinin ne tamoksifenle ne de letrozol ile kombinasyonunun stromal hücrelerdeki BCL-2 ekspresyonuna bir etkisi olmamıştır. Dolayısıyla tamoksifenin ve letrozolün aspirinle ayrı ayrı kombinasyonu halindeki BCL-2 ekspresyonu tek başına kullanıldıklarındaki sonuçlardan farklı değildir ((Şekil 4.11.), (Şekil 4.12)).



Şekil 4.11. BCL-2, Tamoksifen Grubu: BCL-2 ile lüminal ve glandüler epitelde boyanma izlenmedi (x200).



Şekil 4.12. BCL-2, Tamoksifen-Aspirin Grubu: BCL-2 ile lüminal ve glandüler epitelde zayıf pozitiflik izlendi (x 200)

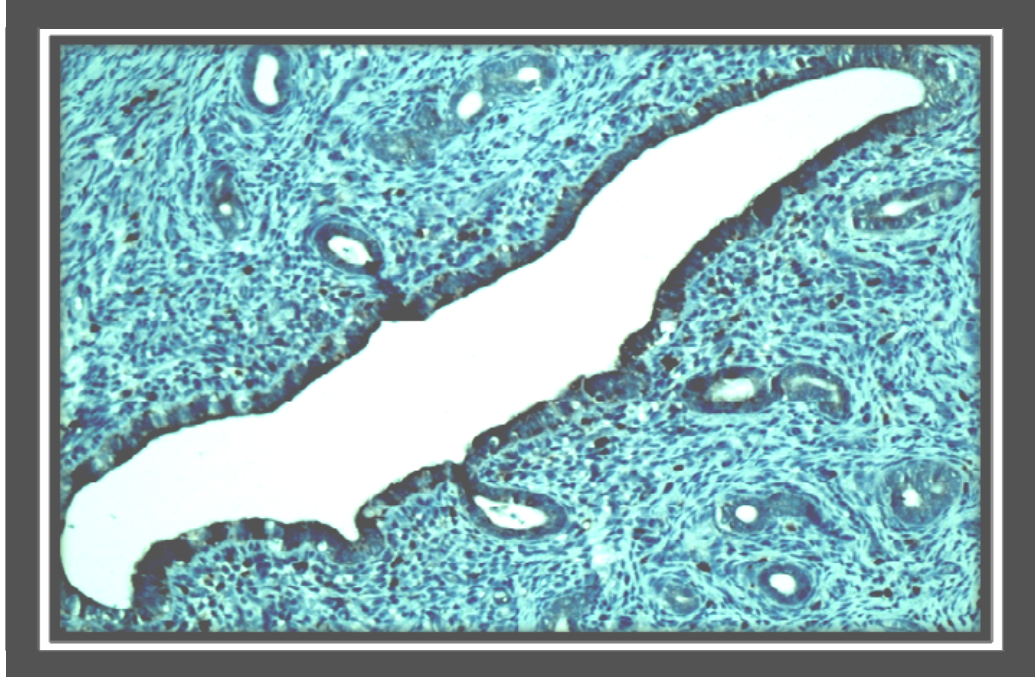
Tablo 4.4. VEGF İmmünohistokimyasal Belirleyicisi İle Çeşitli Gruplardaki İmmünoreaktivite Şiddeti (Medyan (25. Persantil – 75. Persantil))

| Deney Grupları | VEGF ile İmmünoreaktivite Şiddeti | | | | |
|----------------|-----------------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------|------------|
| | Lüminal Epitel | Glandüler Epitel | Stromal Hücreler | Damar Endoteli | Myometrium |
| 1-SF | 1 (1 – 2) | 1 (1 – 1,25) | 0 (0 – 1,25) ^C | 0 (0 – 0) | 0 (0 – 0) |
| 2-DMSO | 1,5 (1–2,25) | 1 (1 – 1,25) | 0 (0 – 1) ^B | 0 (0 – 0) | 0 (0 – 0) |
| 3-TAM | 3 (2 – 3) | 2 (1,75 – 3) ^A | 2 (1 – 2) ^{B,C,D} | 0 (0 – 0) | 0 (0 – 0) |
| 4-LET | 2 (1 – 2,25) | 1 (0,75 – 2) | 1 (0 – 1) | 0 (0 – 0) | 0 (0 – 0) |
| 5-ASPIRİN | 2 (1 – 2,25) | 1 (0,75 – 1) ^A | 1 (0,75 – 1) | 0 (0 – 0) | 0 (0 – 0) |
| 6-TAM+ASP | 2 (2 – 3) | 2 (1,75 – 2) | 1 (1 – 1,25) | 0 (0 – 0) | 0 (0 – 0) |
| 7-LET+ASP | 1 (1 – 2,5) | 1 (0 – 2,5) | 0 (0 – 1) ^D | 0 (0 – 0) | 0 (0 – 0) |
| İSTATİSTİK | H= 12,96 | H= 18,35 | H= 25,06 | H= 0 | H= 0 |
| P | P<0,05 | P<0,01 | P<0,001 | P>0,05 | P>0,05 |

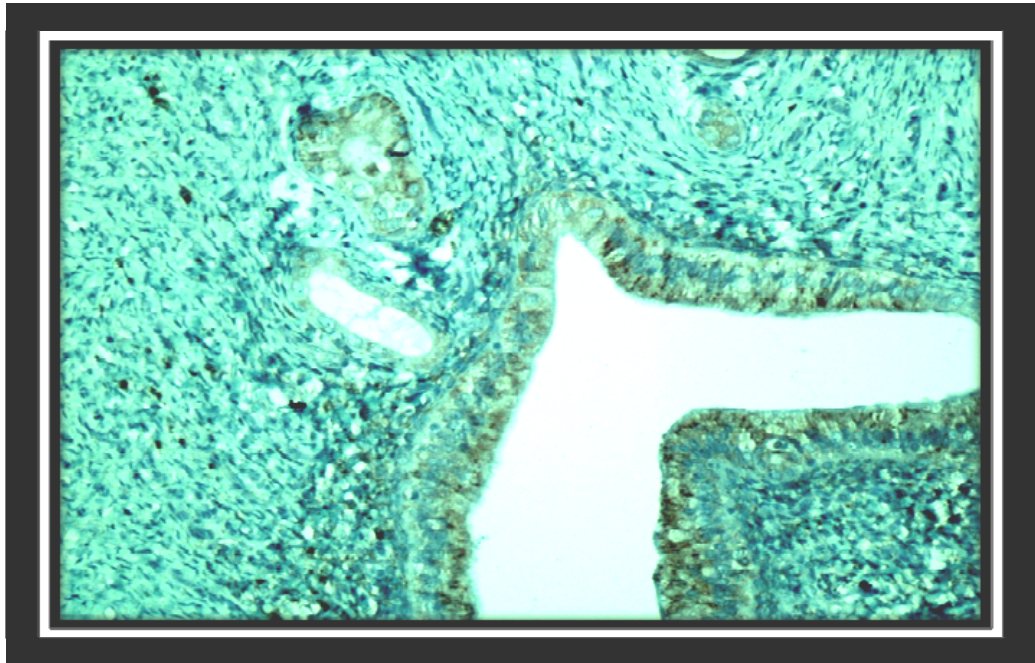
Glandüler epitel için A: (P<0,05), Stromal hücreler için B, C, D:(P<0,05),

H = Kruskal wallis istatistiği

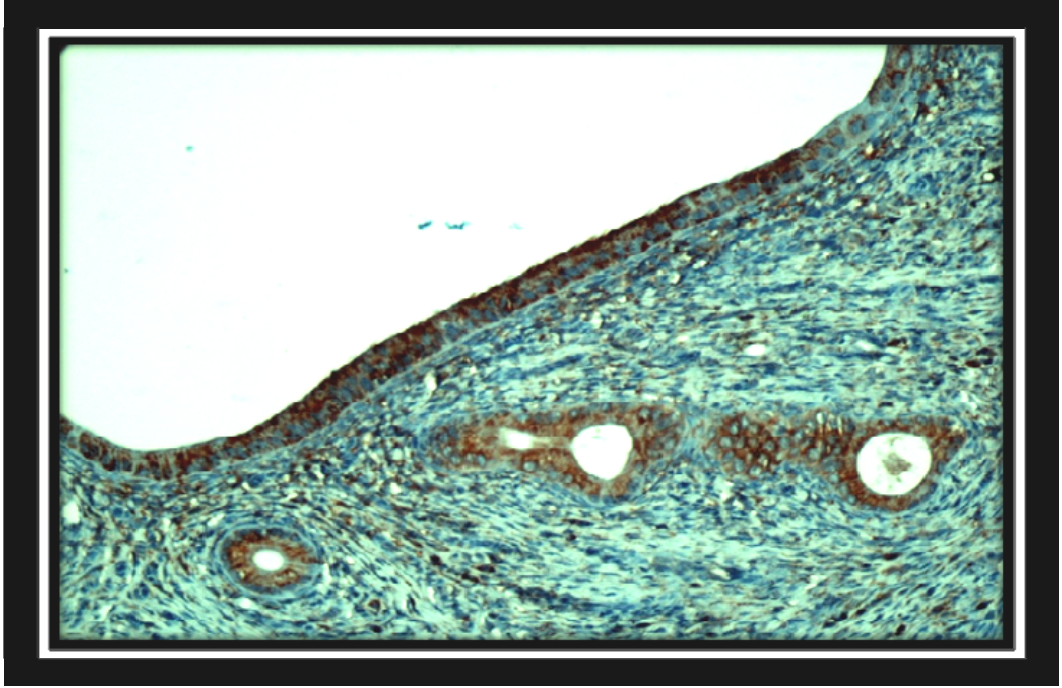
Tablo 4.4’de görüldüğü gibi tüm gruplar VEGF ile boyanma şiddeti açısından karşılaştırıldığında DMSO ve Tamoksifen grubu arasında glandüler epitel hücre boyanması açısından anlamlı farklılık saptandı (A, (P<0,05)). DMSO ve Tamoksifen grubu arasında stromal hücre boyanması açısından da anlamlı farklılık mevcuttu (B, (P<0,05)). SF ve Tamoksifen grubu arasında stromal hücre boyanması açısından anlamlı farklılık saptandı (C, (P<0,05)). Tamoksifen ve Letrozol-Aspirin grubu arasında stromal hücre boyanması açısından anlamlı farklılık saptandı (D, (P<0,05)). Lüminal epitelde VEGF ile boyanma şiddeti açısından anlamlı fark saptanmış olmakla birlikte (P<0,05) gruplar arasında çoklu karşılaştırma testleri yapıldığında anlamlı fark olmadığı görüldü (p>0,05). Gruplarda VEGF ile damar endoteli ve myometriumda boyanma olmadı ((Şekil 4.13.), (Şekil 4.14), (Şekil 4.15)).



Şekil 4.13. VEGF, Letrozol Grubu: VEGF ile lüminal epitelde orta şiddette, glandüler epitel ve stromal hücrelerde zayıf pozitiflik mevcuttur (x200).



Şekil 4.14. VEGF, Tamoksifen-Aspirin Grubu: VEGF ile lüminal ve glandüler epitel ile stromal hücrelerde zayıf pozitiflik mevcuttur (x200).



Şekil 4.15. VEGF, Tamoksifen Grubu: VEGF ile lüminal ve glandüler epitelde kuvvetli sitoplazmik boyanma mevcuttur (x200)

Tablo 4.5. COX-2 İmmünohistokimyasal Belirleyicisi İle Çeşitli Gruplardaki İmmünoreaktivite Şiddeti (Medyan (25. Persantil – 75. Persantil))

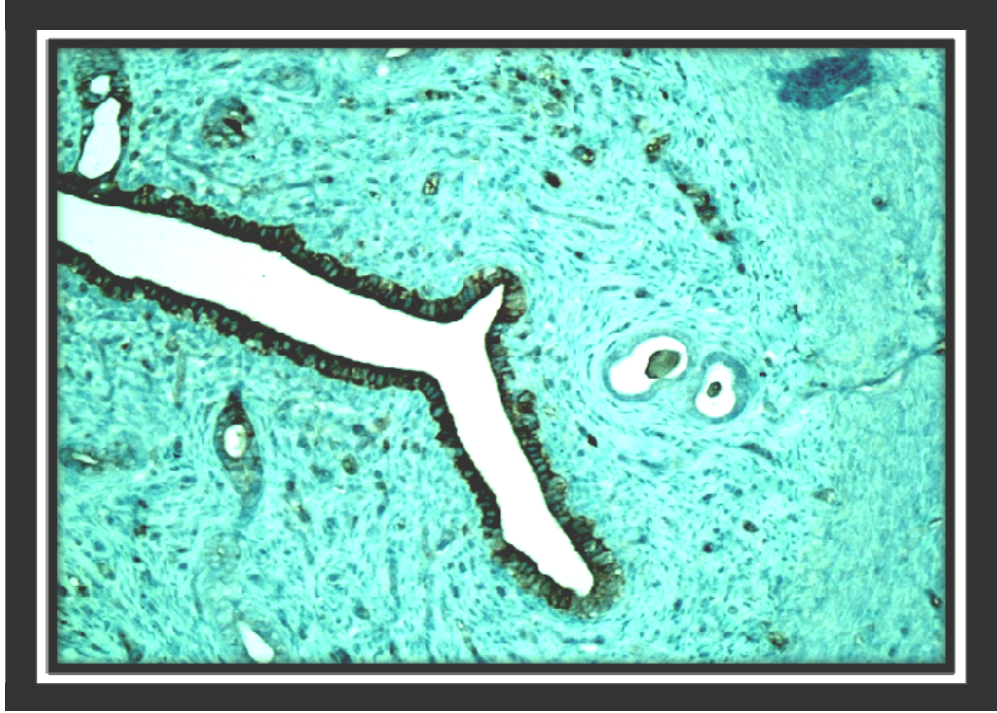
| Deney Grupları | COX-2 ile İmmünoreaktivite Şiddeti | | | | |
|----------------|------------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|-------------------------------|------------|
| | Lüminal Epitel | Glandüler Epitel | Stromal Hücreler | Damar Endoteli | Myometrium |
| 1-SF | 2 (1 – 3) | 1 (0 – 1,25) | 1 (1 – 2) | 3 (3 – 3) ^{U,I,K} | 0 (0 – 0) |
| 2-DMSO | 1 (0,75 – 2) | 0 (0 – 0) ^{A,C} | 0 (0 – 1) ^E | 2 (1,75 – 2) | 0 (0 – 0) |
| 3-TAM | 2 (2 – 3) | 2 (2 – 2,25) ^{A,B} | 2 (1,75 – 2) ^{E,F,G} | 3 (3 – 3) ^{L,M,N} | 0 (0 – 0) |
| 4-LET | 2 (1,75 – 3) | 1 (0,75 – 2) | 1 (1 – 1,25) | 1 (1 – 2) ^{U,L,O} | 0 (0 – 0) |
| 5-ASPIRİN | 1 (0,75 – 2,25) | 0 (0 – 0,25) ^{B,D} | 0 (0 – 1) ^F | 2 (0,75 – 2) ^{L,M,P} | 0 (0 – 0) |
| 6-TAM+ASP | 1 (1 – 2,25) | 1 (0,75 – 1) | 1 (1 – 1) | 3 (3 – 3) ^{O,P,R} | 0 (0 – 0) |
| 7-LET+ASP | 2 (1,5 – 3) | 1 (1 – 3) ^{C,D} | 0 (0 – 1) ^G | 1 (1 – 2) ^{K,N,R} | 0 (0 – 0) |
| İSTATİSTİK | H= 10,67 | H= 33,03 | H= 34,81 | H=48,62 | H= 0 |
| P | P>0,05 | P<0,001 | P<0,001 | P<0,001 | P>0,05 |

Glandüler epitel için: A, B, C, D : (P<0,05); Stromal hücreler için: E, F, G: (P<0,05)

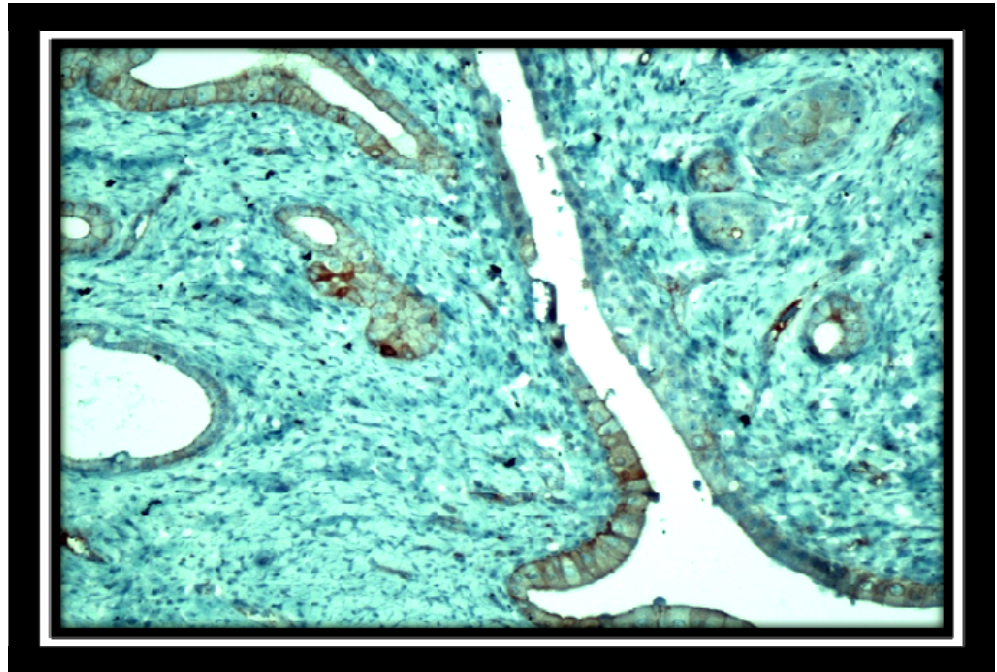
Damar endoteli için: U, I, K, L, M, N, O, P, R: (P<0,05), H = Kruskal wallis istatistiği

Tablo 4.5’de görüldüğü gibi tüm gruplar COX-2 ile boyanma şiddeti açısından karşılaştırıldığında DMSO ve Tamoksifen grubu arasında glandüler epitel hücre boyanması açısından anlamlı farklılık saptandı (A, (P<0,05)). Tamoksifen ve Aspirin grubu arasında da glandüler epitel hücre boyanması açısından anlamlı farklılık mevcuttu (B, (P<0,05)). Benzer şekilde DMSO ve Letrozol-Aspirin grubu arasında da glandüler epitel hücre boyanması açısından anlamlı farklılık saptandı (C, (P<0,05)). Aspirin ve Letrozol-Aspirin grubu arasında da glandüler epitel hücre boyanması açısından anlamlı farklılık mevcuttu (D, (P<0,05)). DMSO ve Tamoksifen grubu arasında stromal hücrelerde COX-2 ile boyanma şiddeti açısından anlamlı fark saptandı (E, (P<0,05)). Tamoksifen ve Aspirin grubu arasında da stromal hücrelerde COX-2 ile boyanma şiddeti açısından anlamlı farklılık görüldü (F, (P<0,05)). Tamoksifen ve Letrozol-Aspirin grubu arasında stromal hücrelerde COX-

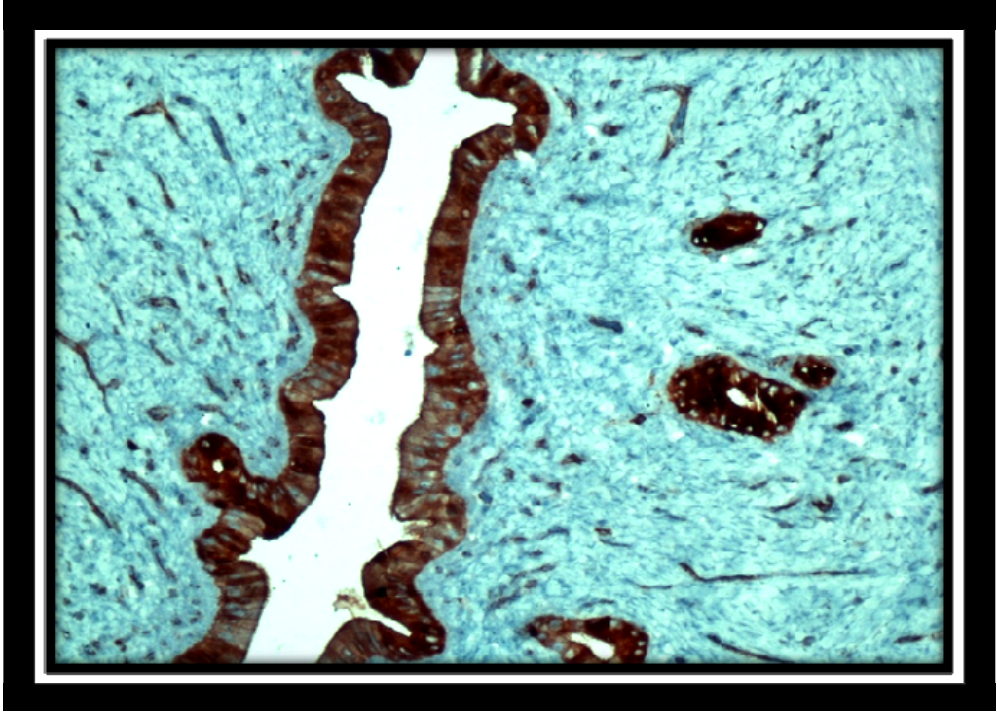
2 ile boyanma şiddeti açısından anlamlı farklılık bulundu (G, ($P<0,05$)). SF ve Letrozol grubu arasında damar endotelinde COX-2 ile boyanma şiddeti açısından anlamlı farklılık saptandı (U, ($P<0,05$)). SF ve Aspirin grubu arasında da damar endotelinde COX-2 ile boyanma şiddeti açısından anlamlı farklılık saptandı (I, ($P<0,05$)). Benzer şekilde SF ve Letrozol-Aspirin grubu arasında da damar endotelinde COX-2 ile boyanma şiddeti açısından anlamlı farklılık saptandı (K, ($P<0,05$)). Letrozol ve Tamoksifen-Aspirin grubu arasında damar endotelinde COX-2 ile boyanma şiddeti açısından anlamlı farklılık mevcuttu (L, ($P<0,05$)). Tamoksifen ve Aspirin grubu arasında damar endotelinde COX-2 ile boyanma şiddeti açısından anlamlı farklılık saptandı (M, ($P<0,05$)). Tamoksifen ve Letrozol-Aspirin grubu arasında damar endotelinde COX-2 ile boyanma şiddeti açısından anlamlı farklılık saptandı (N, ($P<0,05$)). Letrozol ve Tamoksifen-Aspirin grubu arasında damar endotelinde COX-2 ile boyanma şiddeti açısından anlamlı farklılık saptandı (O, ($P<0,05$)). Aspirin ve Tamoksifen-Aspirin grubu arasında damar endotelinde COX-2 ile boyanma şiddeti açısından anlamlı farklılık saptandı (P, ($P<0,05$)). Tamoksifen-Aspirin ve Letrozol-Aspirin grubu arasında damar endotelinde COX-2 ile boyanma şiddeti açısından anlamlı farklılık saptandı (R, ($P<0,05$)). Gruplarda lüminal epitelde COX-2 ile boyanma şiddeti açısından anlamlı fark saptanmadı ($P>0,05$). Gruplarda COX-2 ile myometriyumda hiç boyanma olmadı ((Şekil 4.16.), (Şekil 4.17), (Şekil 4.18)).



Şekil 4.16. COX-2, Letrozol Grubu: COX-2 ile lüminal epitelde kuvvetli, glandüler epitelde zayıf pozitiflik izlendi (x200).



Şekil 4.17. COX-2, Tamoksifen-Aspirin Grubu: COX-2 ile lüminal ve glandüler epitelde zayıf stoplazmik pozitiflik izlendi (x200) .



Şekil 4.18. COX-2, Tamoksifen Grubu: COX-2 ile lüminal ve glandüler epitelde kuvvetli stoplazmik pozitiflik izlendi (x200).

Tablo 4.6.Kİ-67 İmmünohistokimyasal Belirleyicisi İle Çeşitli Gruplardaki İmmünoreaktivite Şiddeti (Medyan (25. Persantil –75. Persantil))

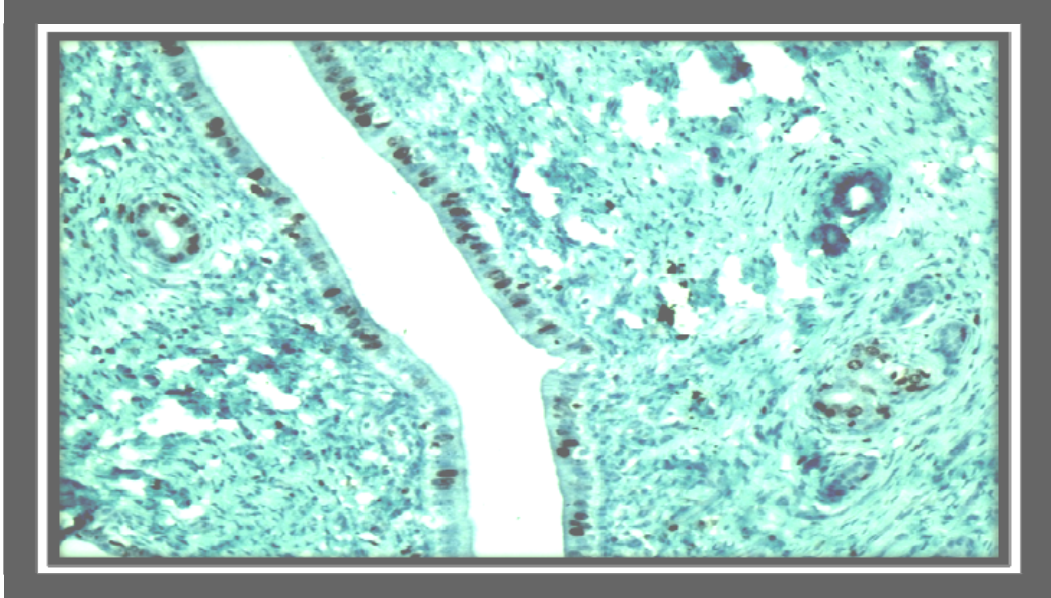
| Deneysel Grupları | Kİ-67 ile İmmünoreaktivite Yüzdesi (%) | | | |
|-------------------|----------------------------------------|---------------------|-----------------------|--------------|
| | Lüminal Epitel | Glandüler Epitel | Stromal Hücreler | Myometrium |
| 1-SF | 15 (7,75 –36,25)U | 48,5 (23 – 83,5) | 3 (1 – 9,25) V, Y | 1 (0 – 2,5) |
| 2-DMSO | 25 (15,5 –40,5)S | 19(10,75 –41,75) | 0 (0 – 1,25) | 0 (0 – 0) |
| 3-TAM | 4,5 (1 – 7,25)S,T,U | 18 (4,75 – 27) | 0,5(0 – 2,25) | 0 (0 – 0) |
| 4-LET | 13,5 (6,5–30,75) | 6,5 (2 – 48) | 0 (0 – 1) V, Z | 0 (0 – 0) |
| 5-ASPIRİN | 16,5 (11,5 –40,75)T | 33,5 (42,75 –59,4) | 2,5 (0 – 3,25) | 0 (0 – 0) |
| 6-TAM+ASP | 6,5 (4,5 – 12,7) | 21,5 (2,5 – 33,25) | 2 (1,75 – 3,25) Z, X | 0 (0 – 0) |
| 7-LET+ASP | 9 (1,5 –14) | 22 (7,5 – 32,5) | 0 (0 –0) Y, X | 0 (0 – 0) |
| İSTATİSTİK | H= 25,72 | H= 10,89 | H= 29,99 | H= 32,70 |
| P | P<0,001 | P>0,05 | P<0,001 | P<0,001 |

Lüminal epitel için : S, T, U (P<0,05), Stromal hücreler için: V, Y, Z, X (P<0,05)

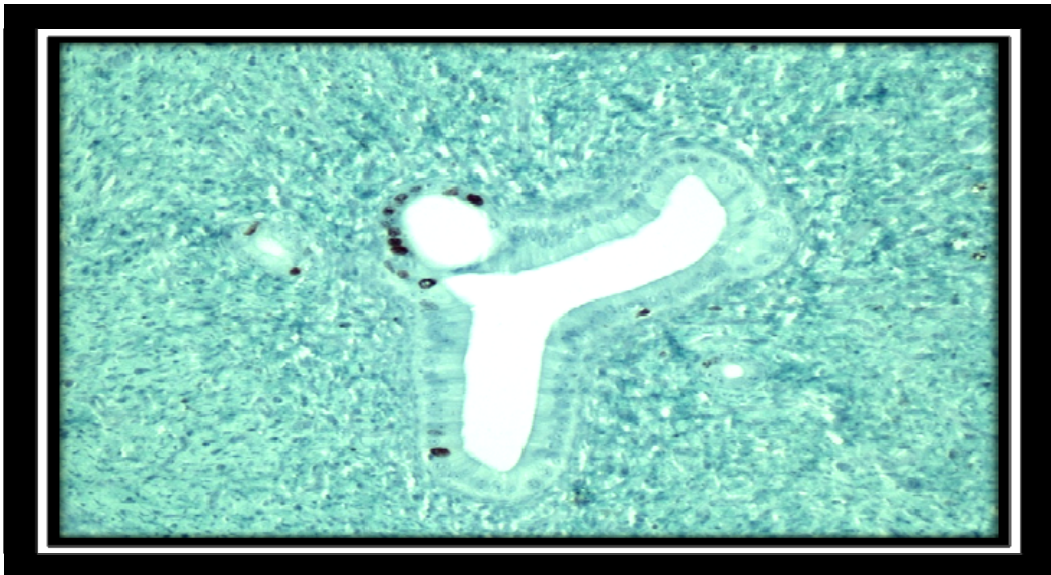
H = Kruskal wallis istatistiği

Tablo 4.6’de görüldüğü gibi tüm gruplar Kİ-67 ile boyanma yüzdesi açısından karşılaştırıldığında DMSO ve Tamoksifen grubu arasında lüminal epitel hücre boyanması açısından anlamlı farklılık saptandı (S, (P<0,05)). Tamoksifen ve Aspirin grubu arasında lüminal epitel hücre boyanması açısından anlamlı farklılık saptandı (T, (P<0,05)). SF ve Tamoksifen grubu arasında da lüminal epitel hücre boyanması açısından anlamlı farklılık mevcuttu (U, (P<0,05)). SF ve Letrozol-Aspirin grubu arasında stromal hücrelerin boyanması açısından anlamlı farklılık saptandı (Y, (P<0,05)). SF ve Letrozol grubu arasında da stromal hücrelerin boyanması açısından anlamlı farklılık görüldü (V, (P<0,05)). Benzer şekilde, Tamoksifen-Aspirin ve Letrozol grubu arasında da stromal hücrelerin boyanması açısından anlamlı farklılık saptandı (Z, (P<0,05)). Tamoksifen-Aspirin ve Letrozol-Aspirin grubu arasında da stromal hücrelerin boyanması açısından anlamlı farklılık gözlemlendi (X, (P<0,05)). Glandüler epitelde Kİ-67 ile boyanma yüzdesi açısından gruplar arasında anlamlı

fark saptanmadı ($P>0,05$). Myometriumda sadece SF grubunda deneklerin bir tanesinde boyanma olduğu dikkati çekti ((Şekil 4.19), (Şekil 4.20)).



Şekil 4.19. Kİ-67, Letrozol Grubu: Kİ-67 ile lüminal ve glandüler epitelde nükleer pozitiflik izlendi (x200).



Şekil 4.20. Kİ-67, Tamoksifen Grubu: Kİ-67 ile lüminal ve glandüler epitelde az sayıda hücrede nükleer pozitiflik izlendi (x200).

Tablo 4.7. PECAM-1 (CD-31) İmmünohistokimyasal Belirleyicisi ile Çeşitli Gruplarda Mikrodamar Yoğunluğu (Medyan (25.Persantil – 75. Persantil))

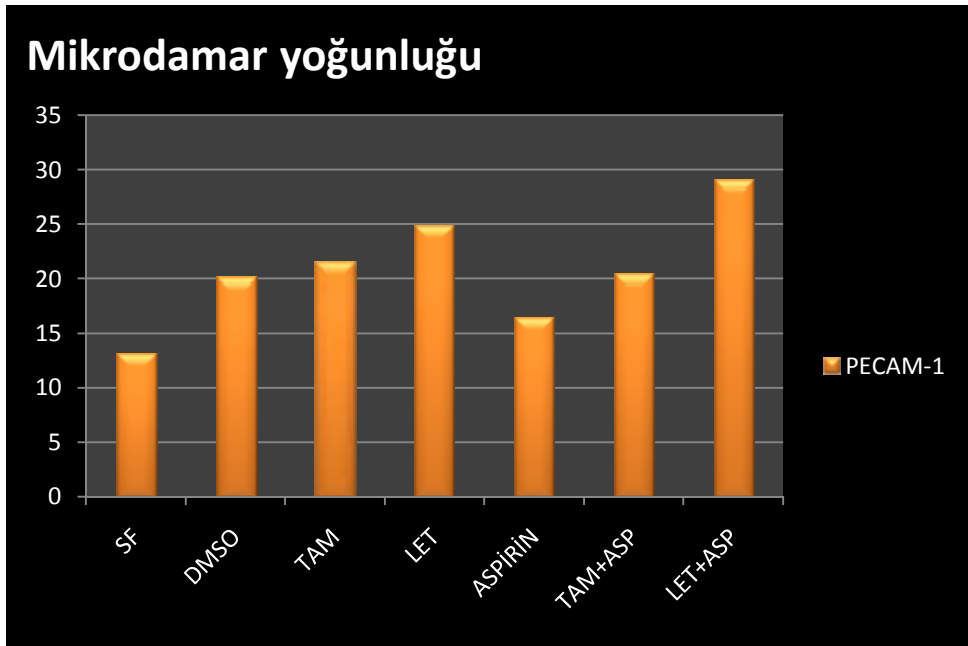
| DENEY GRUPLARI | PECAM-1 |
|----------------|-----------------|
| | DAMAR SAYISI |
| 1-SF | 13 (10 – 16) |
| 2-DMSO | 20 (16 –24) |
| 3-TAM | 21,5 (20 – 26) |
| 4-LET | 25 (16–35) |
| 5-ASPIRİN | 16,5 (14– 22) |
| 6-TAM+ASP | 20,5 (15 – 22) |
| 7-LET+ASP | 29 (19 –34,5) |
| İSTATİSTİK | H= 13,091 |
| P | P>0,05 |

H = Kruskal wallis istatistiği

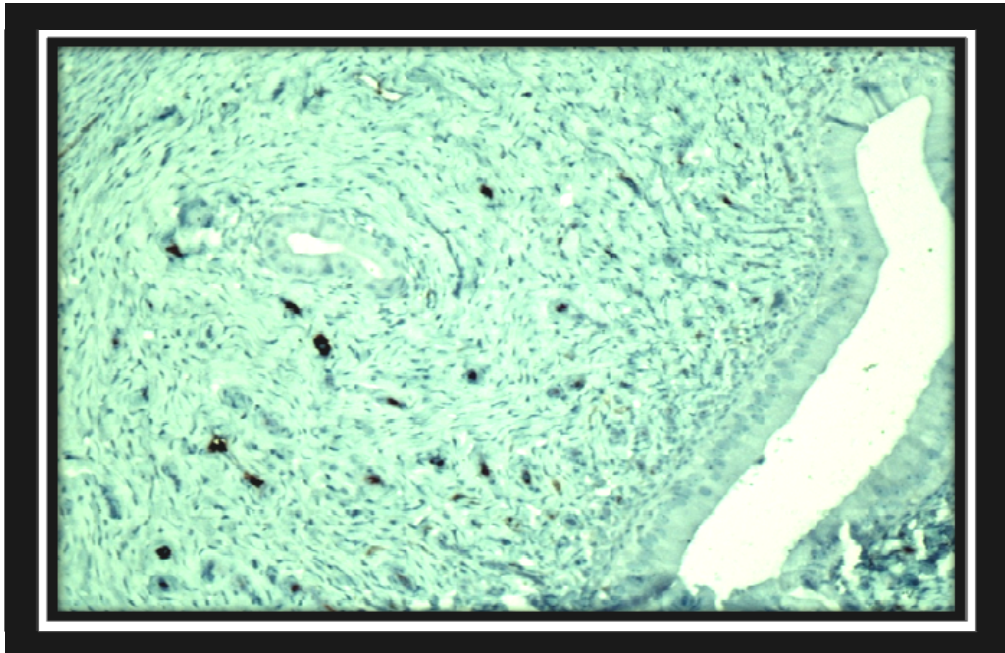
Tablo 4.7’de görüldüğü gibi PECAM-1 ile gruplar arasında mikrodamar yoğunluğu açısından anlamlı fark saptanmadı ($P>0,05$).

Şekil 4.21’de PECAM-1 immünohistokimyasal belirleyicisi ile gruplardaki mikrodamar yoğunlukları izlenmektedir.

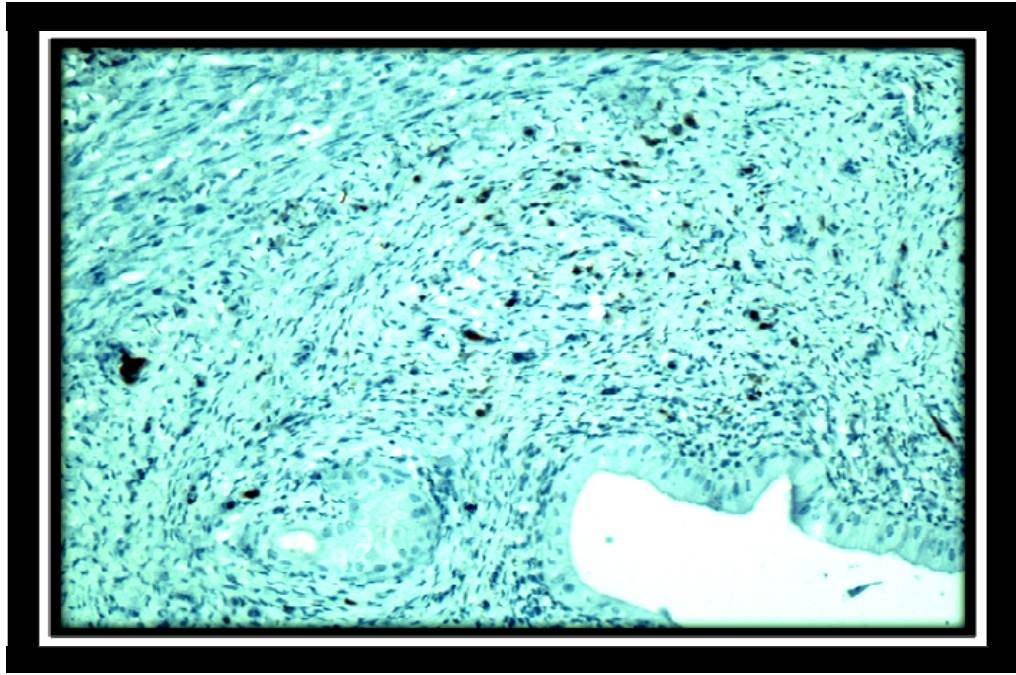
Şekil 4.22 ve Şekil 4.23 ‘de ise tamoksifen ve tamoksifen-aspirin grubunda endometrial stromada PECAM-1’ e bağlı damar yapısındaki pozitiflikler izlenmektedir.



Şekil 4.21. PECAM-1 immünohistokimyasal belirleyicisi ile gruptaki mikrodamar yoğunlukları.



Şekil 4.22. PECAM, Tamoksifen Grubu: PECAM-1 ile endometrial stromada çok sayıda damar yapısında pozitiflik mevcuttur (x200).



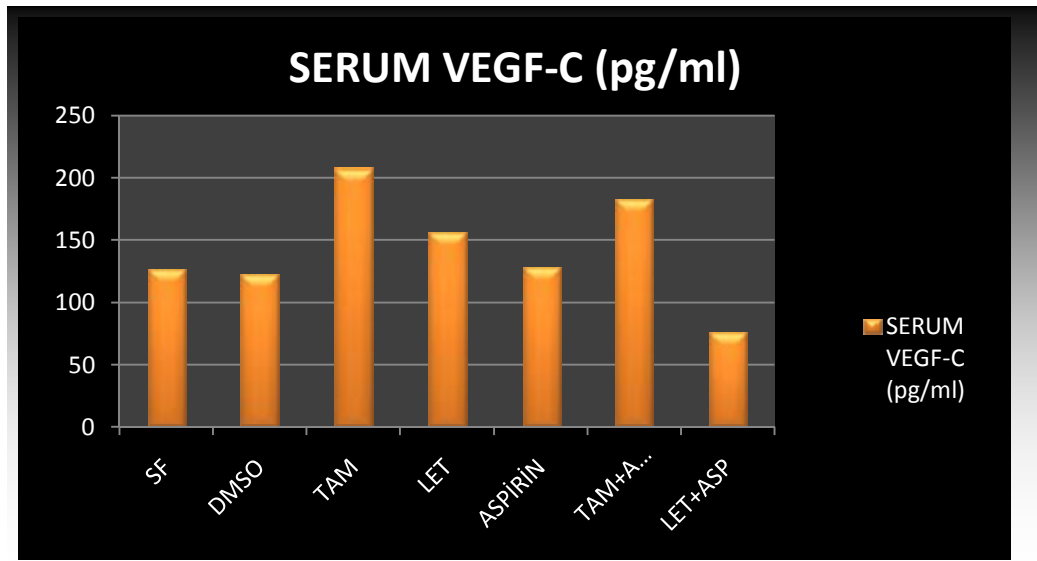
Şekil 4. 23. PECAM, Tamoksifen-Aspirin Grubu: PECAM-1 ile endometrial stromada damarlanma artışı dikkati çekmektedir (x200).

Tablo 4.8. Serum VEGF Rat-C Düzeylerinin Gruplara Göre Karşılaştırılmaları (Medyan (25. Persantil – 75. Persantil))

| DENEY GRUPLARI | SERUM VEGF –C DÜZEYİ (pg/ml) |
|----------------|------------------------------|
| 1-SF | 127 (81,02 – 161,09) |
| 2-DMSO | 121,47 (76,10 –184,62) |
| 3-TAM | 207,10 (38,39 – 232,38) |
| 4-LET | 154,91 (84,31–204,45) |
| 5-ASPİRİN | 128,78 (58,19– 198,30) |
| 6-TAM+ASP | 183,46 (151,69 –304,57) |
| 7-LET+ASP | 75,90 (31,98 –121,74) |

Tablo 4.8.'de gruplar arasında serum VEGF-C düzeyleri görülmektedir. İkili grup karşılaştırmaları yapıldığında SF ve Tamoksifen-Aspirin arasında anlamlı fark saptandı ($z=-2,12$; $p<0,05$). Letrozol ve Letrozol-Aspirin arasında anlamlı fark saptandı ($z=-2,221$; $p<0,05$). Aspirin ile Tamoksifen-Aspirin arasında anlamlı fark saptandı ($z=-1,97$; $p<0,05$). Tamoksifen-Aspirin ve Letrozol-Aspirin arasında anlamlı fark saptandı ($z=-2,86$; $p<0,01$). (z =Mann Whitney U Testi).

Şekil 4.24.'de serum VEGF-C düzeylerinin gruplar arasında dağılımı izlenmektedir.



Şekil 4.24. Serum VEGF-C düzeylerinin gruplar arasında karşılaştırılması.

5. TARTIŞMA

Östrojenin meme kanseri üzerindeki promoter etkisi uzun yıllar boyunca yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Endokrin tedaviler, hem terapötik hem de adjuvan tedavi amacıyla meme kanseri tedavisinde kullanılmaktadır. Tamoksifen, meme kanserinin endokrin tedavisinde 1971 yılından itibaren kullanılan ilk selektif östrojen reseptör modülatörüdür. Tamoksifen östrojen reseptörleri için östrojen ile yarışırken östrojenin olmadığı ortamda östrojen agonisti gibi davranır ve kullanımı esnasında hastayı istenmeyen östrojenik etkilere maruz bırakır (56).

IARC (International Agency for Research on Cancer) 1996 yılında yayınladığı bildiğe ile tamoksifeni karsinojenik olarak duyurmuştur (85). Bilinen kemoterapötikler içinde en az toksik etkili ajanlardan biri olmasına rağmen uzun süreli kullanımlarda bir takım yan etkiler gösterebilmektedir. Meme kanserinde tedavi amacıyla kullanılırken, endometriumda karsinojenik bir etkiye neden olabilmektedir (10). Ancak meme kanserli olgularda yaşam süresini ciddi biçimde uzatması onu hala kullanılır kılmaktadır.

Tamoksifen, östrojen reseptörüne karşı parsiyel agonist olarak davranır. Bu davranışı sayesinde kemik dansitesi ve lipid profili üzerine olumlu etki yaparken, genital organlar üzerinde bazı olumsuz etkilere sebep olur. Tamoksifen vagina epiteli, myometrium ve endometrium üzerinde zayıf östrojenik etki gösterir ve uterus ağırlığında artışa, ultrasonda endometrial çizginin kalınlaşmasına ve endometriumda intrakaviter sıvının artmasına sebep olur (5-7).

Son yıllarda östrojen ve antiöstrojenlerin, insan ve farklı hayvan türlerinin uterus dokusuna etkileri üzerine yoğun araştırmalar yapılmaktadır.

Araştırmalar meme kanseri tedavisinde önemli yeri olan tamoksifenin endometrial yan etkilerinin görülmediği ya da bu yan etkileri önleyecek yeni tedavi modelleri bulunması üzerine yoğunlaşmıştır. Meme kanserinde iyi bir alternatif tedavi olduğu düşünülen ve endometrial yan etkilerin gözlenmediği aromataz inhibitörleri son zamanlarda büyük ilgi görmektedir. Biz bu çalışmada ratlarda tamoksifen ve bir aromataz inhibitörü olan letrozolün uterusunda meydana getirdiği histopatolojik değişiklikleri, hücre proliferasyonu, apoptozis, anjiogenez ve COX-2 inhibisyonu ile serum VEGF-C üzerine olan etkilerini karşılaştırmayı ve aspirinin bu

ilaçlarla kombinasyonunun ne gibi değişikliklere sebep olabileceğini araştırmayı hedefledik.

Bizim çalışmamızda gruplar arasında vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında dikkati çeken nokta tamoksifen grubunda deneyin başlangıcındaki ağırlığın (230,0±4,2 gr), 2. ay sonunda (215,3±6,6 gr) azalmış olmasıydı. Benzer sonuç tamoksifen –aspirin grubunda da izlendi, diğer gruplarda ise 2 aylık bu süre içinde kilo artışı gözlemlendi. Burada tamoksifen grubunda kilo artışı olmaması ve bu durumun tamoksifen-aspirin grubunda da izlenmesi dikkat çekici idi. Tamoksifen grubunda vücut ağırlığında azalma olmasına rağmen kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark olmadığı saptandı ($p>0.05$). Oysa tamoksifen-aspirin grubunda vücut ağırlığındaki azalma anlamlı idi ($p<0,05$). Uterin ağırlıklar açısından gruplar arasında anlamlı fark olmadığı görüldü ($p>0.05$). Ancak letrozol grubunda kontrol grubuna (DMSO) göre uterin ağırlıkta (1,13±0,09gr) artış saptanmakla birlikte tamoksifen kullanılan grupla kıyaslandığında letrozolde uterin ağırlığın düşük seviyelerde olması dikkat çekiciydi. Letrozol-aspirin kombinasyonunda ise uterin ağırlıktaki azalma (1,08±0,07gr) daha belirgin idi. Çeşitli çalışmalarda tamoksifen kullanılanlarda vücut ağırlığının azalıp uterin ağırlığın arttığı yönünde sonuçlar bildirilmiştir (184, 185). Kafkaslı ve ark. (186), ooforektomize ratlara farklı dozlarda tamoksifen vermişler ve sonuçta tamoksifenin ratların vücut ağırlıklarında anlamlı azalmaya yol açtığını ancak uterin ağırlıklarında herhangi bir değişiklik meydana getirmediğini bulmuşlardır. Goss ve ark. (187)' ları da aromataz inhibitörleri, tamoksifen ve aromataz inhibitörü-tamoksifen kombinasyonu ile oluşturdukları bir çalışmada aromataz inhibitörü olan atamestanın uterin ağırlığı artırmazken tamoksifenin uterin ağırlık artışına yol açtığını ortaya koymuşlardır. Tsujioka ve ark. (188), dişi ratlarda fertilité üzerine yaptıkları bir çalışmada tamoksifenin vücut ağırlığını azalttığı sonucunu bulmuşlardır.

Carthew ve ark. (189) ooforektomize ratlarda tamoksifen, toremifen ve östradiol'ün uterin etkilerini araştırmışlar, tamoksifen ve toremifenin uterin ağırlığı ooforektomize kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde artırdığını ancak östradiol'ün uterin ağırlıkta tamoksifen ve toremifene göre daha fazla artış yaptığını bulmuşlardır. Mohamed ve ark. (184) letrozolün dişi ratlar üzerindeki etkilerini inceledikleri çalışmalarında letrozolün vücut ağırlığını artırdığını, ancak uterin ağırlığı azalttığını

bulmuşlardır. Kenneth ve ark. (185)' ları ratlarda tamoksifen, vorozol (aromataz inhibitörü) ve östrojenin uterin ağırlıklara etkilerini araştırmışlar ve 28 günlük tedavi süresi sonunda tamoksifen verilen gruptaki uterin ağırlığın vorozol (aromataz inhibitörü) ve östrojen verilen gruba göre daha az olduğunu, tedavinin sonlandırılması ardından 21 gün sonra ise tamoksifenin uterin ağırlığı iki kat artırdığı ancak vorozolün uterin ağırlıkta anlamlı bir değişiklik yapmadığını bulmuşlardır. Östrojen verilen grupta ise uterin ağırlıkta azalma olduğu dikkati çekmiştir. Kenneth ve ark. (185)' larından farklı olarak bizim çalışmamızda 30 günlük enjeksiyonun hemen ardından uterin örnekleme yapıldığı için uterin ağırlıklar üzerinde gruplar arası fark belirginleşmemiş olabilir.

Bu konuda daha önce yapılmış çalışmalar dikkate alınarak karar verilen 30 günlük enjeksiyon süresinin ya da enjeksiyon bitiminden itibaren geçen sürenin uzatılması belki de gruplar arası farkın anlamlı olmasını sağlayabilirdi. Yine de Carthew ve ark. (189)' larının 3 günlük ilaç enjeksiyonunu takiben ulaştıkları çalışma sonuçlarına kıyasla bu 30 günlük sürenin histopatolojik değişikliklerin gelişmesini sağlayabilecek uzunlukta olduğu düşünülebilir.

Kenneth ve ark. (185), ratlarda 28 günlük tedavi sonunda tamoksifen verilen grupta kontrol grubuna göre lüminal ve glandüler epitel yüksekliğinde anlamlı artış ($p<0,05$), stromada ise kontrol grubuna göre azalma saptamışlardır. Tedavinin sonlandırılması ardından 21.günde tamoksifen ve kontrol grupları arasında lüminal ve glandüler epitel yükseklikleri açısından varolan farklılığın devam ettiği gözlenmiştir. Araştırmacılar bunu tamoksifenin epitel üzerinde rezidüel etkisinin sürdüğü şeklinde yorumlamışlardır. Tersine, toremifen grubunda tedavinin sonlandırılması ardından 21. günde kontrol grubuna göre stroma açısından farklılık saptanmazken lüminal epitel yüksekliğinde kontrol grubuna göre varolan artışın anlamlılığını koruduğu, dolayısıyla toremifenin lüminal epitel üzerine rezidüel etkisinin devam ettiği ortaya konmuştur. İlginç olarak tamoksifen ve toremifen lüminal ve glandüler epitel hücrelerinde östrojenik, stromada ise anti-östrojenik etki göstermişlerdir. Dolayısıyla uterusun farklı kompartmanlarının bu ajanlara karşı farklı cevaplar oluşturduğu görülmüştür.

Carthew ve ark. (189) ooforektomize ratlarda 3 gün süreyle uygulanan östradiol, tamoksifen ve toremifenin uterin etkilerini araştırmışlar ve bu

değişikliklerin şiddetini tedavi süresiyle ilişkilendirmişlerdir. Çalışmada her üç ajanla benzer derecelerde lüminal epitel hücre hipertrofisi geliştiği saptanmış, hipertrofi derecesinin son 48 saatte arttığı ortaya konmuştur.

Saruhan ve ark. (191) ise ratlarda ooforektominin uterus üzerine etkilerini ve ooforektomi sonrası eksojen östrojen verilmesi halinde uterustaki değişiklikleri incelemişler, ooforektominin stromada fibrozis, glandlarda sayıca azalma, lümende daralma, myometriumda ve myometrial damarlanmada azalmaya sebep olduğunu, eksojen östrojen verilmesi sonrası ise bütün bu değişikliklerin geriye döndüğünü gözlemlemişlerdir.

Çalışmamızın histopatolojik sonuçlarını değerlendirmek gerekirse ooforektominin direkt etkisinin gözlemlendiği SF grubunda stromada fibrozis olması ve lüminal epitelin tamoksifen grubuna göre daha alçak kolumnar olması östrojen eksikliğini yansıtmaktadır ve literatür bilgileri ile uyumludur (185, 189, 190).

Tamoksifen grubunda lüminal ve glandüler epitelin yüksek kolumnar olması ve gland sayısında azalma olması Kenneth ve ark. (185)'nin çalışmasıyla uyumluluk göstermektedir. Bulgularımız tamoksifenin epitelyal kompartman üzerine uterotropik etkisi olduğunu ortaya koymaktadır. Letrozol grubunda ise dikkati çeken sadece lüminal epitel yüksekliğinde artış olmasıdır ki bu sonuç ta Kenneth ve ark.(185)'nin vorozolün uterin etkilerinin gözlemlendiği çalışma sonuçları ile uyumludur.

Tamoksifenin uterus üzerinde parsiyel agonistik etki ile proliferasyona kimi zaman da hiperplaziye sebep olduğu, letrozolün ise tamamen antiöstrojenik etki ile uterusta atrofi yapabileceği düşünülürse çalışmamızda hem tamoksifen hem letrozol grubunda lüminal epitelin yüksek oluşu östrojenden bağımsız bir etki olarak yorumlanabilir.

Bizim çalışmamızda tamoksifen grubunda hematoksilen-eozin ile boyama sonrası lüminal ve glandüler epitelin tamamen yüksek kolumnar, stromanın sellüler görünümde olduğu ve gland sayısında azalma olduğu dikkati çekerken letrozol grubunda luminal epitelin yüksek kolumnar olması yanında glandlar kuboidal epitelle döşeli ve stroma fibrotik görünümde idi. Buradan bu iki ilacın zıt etkilerinin (tamoksifenin endometriumda hiperplazi yaparken letrozolün atrofi yapması) sebebinin endometrial gland-stroma oranındaki farklılıklara bağlı olabileceği düşünülebilir. Dolayısıyla tamoksifenin uterusun stromal kompartmanında

sellülariteye sebep olması östrojenik bir etki olarak düşünüldüğünde letrozolün stromada fibrozise sebep olması da antiöstrojenik bir etkinin sonucu olarak düşünülebilir. Tamoksifen-aspirin grubunda ve letrozol-aspirin grubunda lüminal epitel yüksekliğinde değişiklik olmazken tek başına aspirin verilen grupta lüminal epitel ağırlıklı olarak alçak kolumnar ve glandlar kuboidal epitel ile döşelidir. Aspirinin bu etkisi sadece ooforektomi ile endojen östrojenin bloke edildiği SF ve DMSO grubundaki sonuçlarla benzerdir, ancak buradan aspirinin tek başına uterus üzerine bir etkisinin olmadığı yorumu yapılamaz çünkü aspirin grubunda da letrozoldeki gibi stroma fibrotik görünümündedir yani antiöstrojenik etkisi olabilir. Aspirinin COX-2 inhibisyonu üzerinden proliferasyonu, aromataz aktivitesini, anjiogenezi baskıladığı ve apoptozu indüklediği düşünüldüğünde (18-20) indirekt yoldan antiöstrojenik etkinliği tartışılabilir. Tamoksifen-aspirin grubundaki gland sayısının tamoksifen grubundaki gland sayısına göre artmış olması tamoksifenin aspirinle olan kombinasyonun yarattığı tek farktı.

İnsan çalışmalarında tamoksifenin endometrial polibe sebep olduğu bilinmektedir (56). Çalışmamızda da tamoksifen-aspirin grubunda sadece bir olguda endometrial polip izlenmesine rağmen ilaç enjeksiyonlarından bağımsız bir bulgu olduğu da düşünülebilir.

Endometriumun devamlı östrojen stimülasyonuna maruz kalmasıyla endometrial hiperplazi gelişir. Endometrial hiperplazi, normal proliferatif endometriumla kıyaslamada, gland/stroma oranındaki artma ile birlikte düzensiz biçim ve büyüklükteki glandların anormal proliferasyonu olarak tanımlanır (192). Laboratuvar hayvanlarına östrojen verilmesiyle endometrial hiperplazi ve endometrial kanser geliştiği uzun zamandan beri bilinmektedir (193). Endometrium hiperplazileri endometrium kanser riskinde artış ile birlikte olduklarından klinik olarak önemlidirler. Endometrial hiperplazinin gelişmesinden sorumlu tutulan en önemli faktör progesteron ile karşılanmamış endojen veya eksojen kaynaklı artmış östrojen olup, klinikte östrojen-progesteron ilavesi ile riskte anlamlı azalmanın olduğu gösterilmiştir (194-196).

Bcl-2, hücre proliferasyonuna neden olmadan hücrenin canlılığını sağlayan apoptoz inhibitörüdür (167). BCL-2'nin overekspresyonu radyasyon, UV, p53, kemoterapötik ilaçlar gibi değişik stimuluslar tarafından başlatılan hücre ölümünü

engeller ya da belirgin biçimde azaltır (167, 168). Bunu genel apoptoz yolunu kapatarak yapar (168). Bcl-2 proteini apoptozisile ilişkili moleküllerin belki de en iyi karakterize edilmiş olanıdır ve veriler bcl-2 proteininin kesin olarak hücre ölüm süpresörü olarak rol oynadığını desteklemektedir. Bugüne dek bcl-2'nin insan endometriumunda proliferatif faz sırasında apoptozisi inhibe ettiği düşünülüyse de, insan endometriumundaki apoptozisin kesin mekanizması halen tam olarak bilinmemektedir (170,171).

Ki-67 ise çoğalan hücrelerde görülen bir çekirdek proteindir. Esas olarak G₁, S, M ve G₂ fazında görülür. G₀ fazında yoktur. Hücre proliferasyonunu doğru olarak yansıtan bir proteindir (160).

Altaner ve ark. (197), tamoksifen ilişkili endometrial polipler ile postmenopozal poliplerde BCL-2 ve Kİ-67 ekspresyonunu araştırmışlar, çalışmaya ayrıca basit endometrial hiperplazili, atipili kompleks hiperplazili ve endometrial adenokarsinomlu olguları da dahil etmişlerdir. Tanımlanan 5 hasta grubu arasında BCL-2 boyanması açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$). Tamoksifen ilişkili poliplerde BCL-2 ekspresyonunun postmenopozal polip grubuna nazaran daha yüksek olduğu görülmüştür. Bizim çalışmamızda da bu çalışmaya benzer şekilde epitel hücrelerinde BCL-2 boyanması açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

Altaner ve ark. (197)' nin çalışmasında Kİ-67'nin endometrial adenokarsinomda en yüksek olduğu, onu atipili kompleks endometrial hiperplazi grubunun takip ettiği saptanmıştır. Tamoksifen ilişkili poliplerde Kİ-67 ekspresyonunun adenokarsinom ve atipili kompleks hiperplazi olgularına nazaran düşük, postmenopozal polip grubuna göre ise anlamlı derecede yüksek olduğu ortaya konmuştur ($p<0,0001$). Altaner ve ark. (197) tamoksifen ilişkili poliplerin postmenopozal polip grubu ile kıyaslandığında , yüksek Kİ-67 indeksine sahip olması nedeniyle daha yüksek malign potansiyelde olabileceğini vurgulamışlardır. Buna karşın çalışmamızda glandüler epitelde Kİ-67 ekspresyonu tamoksifen grubunda kontrol grubu (DMSO) ile kıyaslandığında değişmezken letrozol grubunda azalmıştır. Tamoksifen grubunda stromal hücrelerin BCL-2 ile boyanması açısından tamoksifen ve aspirin grubu arasında anlamlı fark saptandı ($P<0.001$). Ancak bu fark aspirin grubunda stromal hücrelerde tamoksifene göre daha şiddetli boyanma olması

şeklindeydi. Tamoksifen grubunda stromada BCL-2 ile hiç boyanma olmazken letrozol ve aspirin grubunda orta şiddette boyanma olması BCL-2'nin apoptozu indüklediğini savunan çalışmalarla çelişen bir sonuçtur. Yine tamoksifen grubunda stromal hücrelerin BCL-2 ile hiç boyanmaması ve tamoksifen-aspirin grubunda bir olguda endometrial polip görülmesine rağmen verilerin hiç değişmemesi yapılan çalışmalardan farklı bir sonuç olup bunu açıklayacak bir faktör saptanmamıştır.

Cohen ve ark. (198) gelişen endometrial patolojilerin kullanılan tamoksifen dozuna bağlı olabileceğini savunmuşlardır. Belki bizim çalışmamızda da verilen tamoksifen dozlarının daha yüksek tutulması endometrium üzerindeki olumsuz etkilerin gözlenmesini sağlayabilecekti. Naomi ve ark. (199) tamoksifenin ve bir aromataz inhibitörü olan anastrozolün endometrial biopsi sonuçlarını karşılaştırmış ve bir yıl boyunca tamoksifen ile tedavi edilen postmenopozal olguların stroma ve glandlarında KI-67 ekspresyonunda anlamlı artış ($p<0,05$), stromal kompartmanda BCL-2 ekspresyonunda anlamlı azalma saptamışlardır ($p<0,05$). Anastrozolda ise glandlarda KI-67 ekspresyonu azalmış ancak stromada böyle bir azalma gözlenmemiştir. BCL-2 ekspresyonunda ise anlamlı azalma saptanmıştır ($p<0,05$). Tamoksifen kullananlarda glandüler kompartmandaki değişiklik anlaşılacakla birlikte stromada gözlenen BCL-2 ekspresyonundaki artışın tamoksifenin parsiyel östrojenik etkisine bağlı olduğu yorumu yapılmıştır. Anastrozolün endometriumda proliferatif etkilerinin bulunmaması östrojeni baskılamasına bağlanmıştır.

Bizim çalışmamızda glandüler epitel hücrelerinde letrozolün BCL-2 ile hiç boyanmaması Naomi ve ark. (199)' nın bulgularıyla uyumlu iken stromal hücrelerde boyanma olması bu uyumu bozmaktadır. Çalışmamızdaki sonuçlarda dikkat çekici olan letrozol ve aspirin grubunda BCL-2 ekspresyonunun kontrol grubu ile kıyaslandığında stromal hücrelerde artmış olması buna karşılık tamoksifen grubunda glandüler epitel ve stromada BCL-2 ekspresyonunun azalmış olmasıydı. Ayrıca tamoksifen ve letrozolün aspirin ile kombinasyonu halinde de bulgularda değişiklik olmamıştır. Bu sonuçlar gözönüne alındığında aslında Grace ve ark. (200)' nın da belirttiği gibi BCL-2 aslında bir apoptoz regülatörüdür. BCL-2' nin tümörogenik potansiyeli hayvan modellerinde gösterilmiştir ve bu bulgu lenfoma gibi pek çok tümörde BCL-2 overekspresyonunun izlenmesi ve onkojenik etki göstermesi bu bulguyu desteklemektedir. Ancak meme kanserini de kapsayan pek çok solid organ

tümöründe BCL-2 paradoksik olarak tümör süpresör etki göstermektedir. Dolayısıyla bizim çalışmamızda da tamoksifen BCL-2 ekspresyonunu azaltarak apoptozu inhibe etmiştir ve bununla ilişkili olarak tamoksifenin endometrial etkileri apoptozu baskılaması ile ilişkili olabilir. Letrozol grubunun ise BCL-2 ekspresyonunu artırmış olması tamoksifenden farklı olarak apoptozu indüklediği anlamına gelebilir ve endometrial yan etkilerinin daha az olması bu sonuçla ilişkili olabilir. Aspirinin bir COX-2 ilişkili apoptoz indükleyicisi olduğu düşünüldüğünde (126) çalışmamızda aspirin grubunda BCL-2 ekspresyonunun artışı COX-2 inhibisyonunun tam olup aspirinin apoptoz indükleyicisi olduğu yorumunu desteklemektedir.

Usta ve ark. (201), BCL-2 boyanmasının en yüksek düzeylere hiperplazi olgularında eriştiği buna karşılık boyanmanın hiperplazilerde atipinin belirginleşmesiyle beraber azaldığı ancak proliferatif indeks olan KI-67 ile boyanma şiddetinin karsinom derecesi ile birlikte arttığı sonucuna varmışlardır. BCL-2 ekspresyonunun hiperplazik endometriumda daha fazla olmasını hormonal etki ile açıklamışlar ve son olarak ta BCL-2 ekspresyonunun normal proliferatif endometriumda yüksek derecede gözlenirken sekretuar fazda hızla azalması, östrojenle artması, menopozda azalması bu hormonal kontrolün daha anlaşılır olduğu yorumunu yapmışlardır.

Mourits ve ark. (202) tamoksifen kullanan postmenopozal kadınlarda BCL-2 ile boyanma açısından kontrol grubuna göre anlamlı fark saptanmadığı, apoptoz/proliferasyon oranının ise kontrol grubuna göre daha düşük olduğu sonucunu bulmuşlardır. Yani tamoksifene bağlı artmış proliferasyonun apoptoz artışı ile telafi edilemeyeceği ve bu sonucun da tamoksifene bağlı ciddi yan etkilere gidişi açıklayabileceği yorumu yapılmıştır.

Punyadeera ve ark.(203) ise hücre kültürü ile yaptıkları çalışmada östrojenin postmenopozal endometriumda özellikle glandlarda kısa zamanda proliferasyonu artırıcı etkisinin olduğu ve KI-67 ile boyanma şiddetinin arttığını ancak tamoksifen ve diğer SERM grubu ilaçların endometrium üzerindeki etkilerinin nötr olduğu sonucuna varmışlardır.

Çalışmamızda KI-67 ile boyanma açısından glandüler hücrelerde letrozole oranla tamoksifende daha yüksek oranda boyanma olması yapılan diğer çalışmaları desteklemektedir ancak bu sonuçlar diğer gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı

değildir ($p>0,05$). Aspirin tek başınayken de tamoksifen ve letrozol ile kombine edildiğinde de lüminal epitelde, glandüler epitelde ve stromada Ki-67 ile boyanma yüzdelerini artırmıştır dolayısıyla proliferasyonu uyardığı dikkati çekmiştir.

VEGF, hem gelişim sırasında, hem de yetişkinde vaskülogenez ve anjiogenez için önemli ve gereklidir (141). Özellikle insan endometriumunda VEGF ekspresyonu glandüler epitelde ve stromal hücrelerde lokalizedir (204). Stromal VEGF ekspresyonu proliferatif fazda sekretuar faza göre daha fazla olmaktadır (149). Stromal VEGF ekspresyonu proliferatif fazda maksimum iken glandüler VEGF ekspresyonu sekretuar dönemde pik yapmaktadır (150). Östrojen VEGF sekresyonunu ve VEGF içeren hücre sayısını artırmaktadır (151). Overleri alınmış farelere östrojen verilmesini takiben ilk 2 saatte VEGF mRNA'sı özellikle stromal hücrelerde artış göstermiştir (152). Bununla birlikte 24 saat sonra stromal hücrelerde VEGF saptanmazken lüminal epitelde VEGF mRNA seviyesi oldukça artmış olarak saptanmıştır. İnsan endometrial hücre kültürlerinde östrojenin VEGF ekspresyonunu stimüle ettiği bilinmektedir (153,154). Hayvanlarda da VEGF ekspresyonunun östrojen verildikten çok kısa süre sonra arttığı bilinmektedir (205). Niklaus ve ark. (206), maymunlar üzerinde yaptıkları çalışmada VEGF ekspresyonunun glandüler ve lüminal epitelde, stromada ve vasküler endotelde yüksek oranda bulunduğunu ancak ooforektomi sonrası gland ve stromada anlamlı düzeyde azaldığını ($p<0,05$) saptamışlardır. Zheng ve ark. (207), tamoksifenin uterusu lüminal ve glandüler epitelde VEGF seviyelerini 6 saat içinde en yüksek düzeye ulaştırdığını tespit etmişlerdir. Mueller ve ark. (208) ise tamoksifen kullanımının *invivo* ve *invitro* VEGF ekspresyonuna etkilerini araştırmışlar ve sonuçta hücre kültüründe tamoksifenin VEGF ekspresyonunu artırmasına rağmen postmenopozal kadınların endometrial biopsilerinde VEGF ekspresyonu açısından kontrol grubu ile tamoksifen kullanan grup arasında bir fark saptamamışlardır. Hyder ve ark. (209), tamoksifenin östrojenik etki ile rat uterusunda hiperemi ve vaskülarizasyonda artış yaptıklarını sonuçta VEGF ekspresyonunu artırdıklarını gözlemlemişler.

Bizim çalışmamızda tamoksifen grubunda lüminal epitelde en şiddetli boyanma olmak üzere glandüler epitel ve stromada da yüksek oranda VEGF ekspresyonu izlendi, diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında (206, 207) en yüksek boyanma oranı tamoksifen grubunda idi. Letrozol ve aspirin grubunda ise boyanma

hafif şiddette idi. Glandüler epitelde boyanma açısından tamoksifen ve aspirin grubu arasında anlamlı fark saptandı ($p < 0,05$). VEGF ekspresyonu açısından bu çalışmanın en değerli tarafı tamoksifenin aspirinle kombinasyonunun VEGF ekspresyonunu azaltması idi. Burada diğer immun belirteçlerden farklı bir sonuç olarak VEGF ekspresyonu açısından tamoksifenin tüm uterin kompartmanlarda (lüminal epitel, glandüler epitel, stroma) her iki kontrol grubundan (SF ve DMSO) anlamlı farklı çıkmasıydı. Dolayısıyla buradan deneyin güvenilirliği ve gerçekliğinin VEGF ekspresyonu açısından yüksek olduğu yorumunu yapabiliriz. Aspirinin hem tamoksifen ile hem letrozol ile kombinasyonunun VEGF ile boyanma şiddetlerini azaltması aspirinin antianjiogenik bir ajan olarak kullanılabilme ihtimalini düşündürülebilir.

Niklaus ve ark. (206) 'dan farklı olarak bizim çalışmamızda damar endotelinde VEGF ekspresyonu hiçbir grupta izlenmemiştir. Diğer parametrelerde yüksek boyanma oranlarına rağmen damar endotelinde boyanma olmaması anlaşılammıştır.

COX-2 ve anjiyogenez ilişkisi ilk olarak diklofenak kullanılan COX-2 pozitif kolon kanser dizilerinde anjiyogenez azalması ile gösterilmiştir. Ardından birçok kanser tipinde COX-2 ile anjiyogenez belirleyicileri (VEGF, BFGF, TGF- β) aynı anda gösterilmiştir (128, 129). Kronik inflamasyon, sitokinler vb. uyarılar COX-2 artışı yaparak prostaglandin artışına yol açar. TXA₂, PGE₂ ve PGI₂ endotelial hücre göçü ve yeni damar oluşumuna yol açarken, COX-2 direkt olarak anjiyogenik faktörleri uyarır ve vasküler geçirgenliği artırır. Tüm bunlar karsinogenez ve metastaz potansiyelini arttıran mekanizmalardır. Meme kanserinde VEGF artışı kötü prognostik parametre olarak bilinmektedir. COX-2 spesifik inhibitörlerinin tümör anjiyogenezini inhibe ederek tümörde gerilemeye yol açtığı gösterilmiştir (130-132). Siklooksijenaz sistemi aracılığı ile (COX-2) lokal olarak tümör dokusunda sentezlenen PGE₂ nin aromataz aktivitesini arttırarak östrojen sentezini arttırdığı gösterilmiştir (18-20).

Maia ve ark. (210), postmenopozal tamoksifen, tibolon ve vajinal östrojen kullanımına bağlı endometrial polipli olgularda glandüler epitelde COX-2 ekspresyonunun arttığını tespit etmişlerdir. Kong ve ark. (211), COX-2 inhibitörlerinin apoptozu indükleyerek ve hücre bölünmesini engelleyerek ektopik

endometrial stromal hücrelerin proliferasyonunu inhibe ettiğini gözlemlemişlerdir. Hertrampf ve ark. (212) östrojen agonist ve antagonistlerinin ooforektomize ratlarda uterus ve damar endotelinde COX-2 ekspresyonu üzerine etkilerini araştırmışlar ve sonuçta tamoksifene bağlı COX-2 ekspresyonunun uterusu değişmediğini damar endotelinde azaldığını, saf östrojen antagonisti olan faslodeks'in COX-2 ekspresyonuna hiç etkisi olmadığını tespit etmişler, 17- β östradiol'ün ise zaman bağımlı olarak hem uterusu hem de damar endotelinde COX-2 ekspresyonunu uyardığını gözlemlemişlerdir.

Bizim çalışmamızda COX-2 boyanması VEGF ile korelasyon göstermektedir. Tamoksifen grubunda lüminal ve glandüler epitelde, stromada ve damar endotelinde şiddetli boyanma izlenmiştir. Letrozol grubunda ise COX-2 ekspresyonunun lüminal epitelde tamoksifenle aynı ancak glandüler epitel, stroma ve damar endotelinde ise tamoksifenden daha az olduğu dikkati çekmiştir. Tamoksifen grubu ile letrozol grubu arasında damar endotelinde COX-2 ekspresyonu açısından da anlamlı fark izlenmiştir ($P<0,05$). COX-2 ekspresyonunun tamoksifen grubunda en yüksek, letrozol grubunda ise en düşük olduğu gözlenmiştir. Aromataz enzimini inhibe etmesinden dolayı letrozol grubunda beklediğimiz sonuçlar diğer çalışmalar ile uyum göstermektedir. Tamoksifenin de parsiyel östrojenik etkisinden dolayı proliferasyonu artırarak bu farka sebep olduğu düşünülebilir. Aspirinin COX inhisiyonu yapması ile uyumlu bir sonuç olarak glandüler epitel ve stromada hiç boyanma olmazken damar endotelinde orta şiddette, lüminal epitelde ise hafif şiddette boyanma dikkati çekmiştir. Aspirinin tamoksifen ve letrozol ile kombine edilmesi boyanma şiddeti açısından herhangi bir değişiklik sağlamamıştır. Aspirin grubu ile tamoksifen grubu arasında hem glandüler epitelde hem stromada hem de damar endotelinde COX-2 ekspresyonu açısından anlamlı fark izlenmiştir ($p<0,05$). Bu fark COX-2 ekspresyonunun tamoksifende en yüksek aspirinde ise en düşük olduğu yönündedir. Genç ve ark. (213), hücre kültürü çalışmalarında VEGF ve COX-2 ekspresyonunun endometrial malign hücrelerde arttığını ve COX-2 inhibitörlerinin bu artışı azaltabileceğini ve anjiogenezi baskılayabileceğini savunmuşlardır.

Bizim çalışmamızın amacı da aspirinin proflaktik kullanımıyla tamoksifenin endometrial yan etkilerini engelleyebileceğimizi gözlemlemektir. Tamoksifen-aspirin kombinasyonunun VEGF ve COX-2 ekspresyonunu belirgin oranda azaltması

bizim bu düşüncemizi desteklerken sadece damar endotelinde COX-2 ekspresyonunun bu kombinasyona rağmen değişmemesi aspirinin bizi tamoksifenin sadece uterus üzerine olan yan etkilerini inhibe edebileceği yorumuna götürebilir.

Aspirinin 5 yıldan uzun süre kullanıldığında kolonun adenomatöz poliplerini ve kolorektal kanserleri önlediği savunulmuştur ayrıca bu etkisini 300mg gibi yüksek dozlarda yaptığı ve diğer NSAİİ'lerle arasında bu etki açısından bir fark olmadığı da eklenmiştir (214, 215). Yine aspirinin yüksek riskli hastalarda kolorektal neoplazilerin proflaksisinde kullanılırken diğer (meme, prostat, akciğer, özefagus, mide) kanserlerin önlenmesinde veya tedavisinde de kullanılabilirdiğinden bahsedilmiştir (216). Çalışmamızda aspirini tercih etmemizin sebebi hem ucuz olması hem ciddi kardiovasküler yan etki potansiyeli taşımaması hem de yapılmış çalışmalarda COX ekspresyonunu baskılayarak kanser proflaksisinde kullanılabilmesi idi, henüz tamoksifen kullananlarda endometrial yan etkileri engellemek amaçlı kullanım alanı olmasa da bu konuda yapılacak çalışmalara bir örnek teşkil etmesi açısından aspirin seçiminin önemli olduğu görüşündeyiz.

Çalışmamızda anjiogenezin belirlenmesinde VEGF yanında PECAM-1 ekspresyonu da araştırılmıştır. PECAM-1'in adheziv ve sinyal özellikleri üzerine son çalışmalar vasküler hücre biyolojisindeki rolünü daha iyi anlayabilmemizi sağlamıştır (183). Anti PECAM-1 antikollarının invivo anjiogenezi inhibe ettikleri gösterilmiştir (217). Wang ve ark (218) PECAM-1'in vasküler bariyerin önemli bir mediatörü ve lökosit, endotel hücre adezyon ve migrasyonunun düzenleyicisi olduğunu savunmuşlardır. Dimaio ve ark (219) ise PECAM-1 ekspresyonunun vasküler gelişim ve anjiogenezde endotel hücresinin devamında, migrasyonunda ve diğer fonksiyonlarının sürdürülmesinde önemli bir yeri olduğunu savunmuşlardır. Ancak ulaşılabildiğimiz kaynaklarda PECAM 1' in uterin dokudaki anjiogenezi belirleyiciliği ile ilgili rat çalışmalarına rastlanmamıştır.

Biz de çalışmamızda PECAM-1 ile gruplar arasında mikrodamar yoğunluğu açısından anlamlı fark saptamadık hatta letrozol-aspirin grubunda PECAM-1 ile boyanmanın gruplar arasında en yüksek oranda görülmesi anlayamamıştır. PECAM-1 ile boyanma letrozol grubunda tek başına tamoksifen grubundan yüksek bulundu. Oysa postmenopozal dönemde parsiyel östrojenik etkinin izlendiği tamoksifen grubunda anjiogenezin uyarılmasını ve PECAM-1 ile boyanma

oranlarının artmasını beklerdik. Aspirinin ise antianjiogenik etki ile PECAM-1 düzeylerini düşürmesini beklerdik ki kontrol grubundan sonra en düşük mikrodamar yoğunluğu aspirin grubunda izlenmiştir. Sonuç olarak çalışmamızda rat modelinde angiogenez belirteci olarak PECAM-1 ile gruplar arasında bir fark saptanmamıştır.

VEGF, özellikle endotel hücreleri için özgün etkilere sahip olan multifonksiyonel bir büyüme faktörü ailesidir. Endotel hücrelerinin proliferasyonuna, migrasyonuna ve differansiasyonuna neden olur (141). VEGF, hem gelişim sırasında, hem de yetişkinde vaskülogenez ve anjiogenez için önemli ve gereklidir.

Tek bir VEGF geninin değişik bölünmeleri ile 6 farklı VEGF izoform oluşmuştur (VEGF A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, PlGF). Hipoksi, aktif onkojenler ve çeşitli sitokinlerde VEGF ekspresyonunu artırır. VEGF-C ekspresyonunun çeşitli kanserlerde tümör dokusunda arttığı tespit edilmiştir ve anjiogenez yanında lenfanjiogenezden de sorumludur (220).

Chris ve ark (221) tamoksifen veya aromataz inhibitörü tedavisi alan meme kanserli 30 hastanın proanjiogenik protein olan VEGF düzeylerini belirlemişler ve ayrıca bu hastaların serum, plazma ve platelet aktivasyonu ile indüklenen VEGF örneklerinin aspirin kullanımından nasıl etkilendiğini araştırmışlardır. Sonuçta tamoksifen tedavisinin plazma VEGF düzeylerini değiştirmedeğini, platelet ilişkili VEGF düzeylerini artırdığını ancak kronik aspirin kullananlarda serum ve platelet ilişkili VEGF düzeylerini düşürdüğünü gözlemlemişler ve belki de tamoksifenin ilerleyen zamanlarda güvenle kullanılabilmesinin antianjiogenik (aspirin) ve/veya antiplatelet (aspirin) tedavilerin geliştirilmesi sonucu olabileceğini savunmuşlardır. Aromataz inhibitörü kullanımının plazma, serum ve platelet ilişkili VEGF oranlarını değiştirmedeğini sonucunu bulmuşlar ve VEGF düzeylerinde değişiklik olmamasının 1-5 hafta gibi kısa tedavi süresinden kaynaklanabileceği yorumunu yapmışlardır. Adams ve ark (222) ise Chris ve ark (221)'dan farklı olarak tamoksifen tedavisinin dolaşımdaki ve platelet ilişkili VEGF düzeylerini artırdığını tespit etmiş ancak dolaşımdaki VEGF' in doku düzeyindeki VEGF ile korele olmadığını gözlemlemişler ve tamoksifen ilişkili artan VEGF düzeylerinin klinik gidiş ve gelişen patolojilerle ilişkili olabileceğini savunmuşlardır. Coşkun ve ark. (223)' da postmenopozal meme kanserli hastalarda 3 aylık tamoksifen tedavisi sonrası endometrial kalınlık artışını serum VEGF düzeyleri ile ilişkilendirmiş ve sonuçta

tamoksifen kullanan ve endometrial kalınlık artışı ile seyreden olgularda serum VEGF düzeylerinin arttığını , endometrial kalınlığın normal olduğu hastalarda ise serum VEGF düzeylerinin değişmediği sonucuna varmışlardır. Mcnamara ve ark. (224) VEGF'in en güçlü proanjiojenik sitokin olduğunu ve tamoksifenin kanserli olgularda serum VEGF düzeylerini düşürdüğünü ve bunu VEGF'e anjiogenik cevabı azaltarak yaptığını savunmuşlardır. Sonuçta tamoksifenin serum VEGF düzeylerini düşürerek endotelyal hücrelerde VEGF etkisini inhibe ettiği yorumunu yapmışlardır.

Bizim çalışmamızda gruplar arasında serum VEGF-C düzeyleri açısından anlamlı fark saptanmamakla beraber tamoksifen grubunda serum VEGF-C düzeyleri (207,1 pg/ml) en yüksek seviyedeydi. Daha sonra sırasıyla letrozol grubu (154,9 pg/ml) ve aspirin grubu (128,7 pg/ml) gelmekteydi. Burada önemli olduğunu düşündüğümüz sonuç ise tamoksifenin aspirinle kombinasyonu halinde serum VEGF-C düzeylerinin düşmesiydi (183,4 pg/ml). Gruplar arasında anlamlı fark çıkmamasının sebebi ilaç enjeksiyonlarımızın 30 gün ile sınırlı olması veya serum örnekleri yanında plazma örneklerinin de çalışmaya dahil edilmemesi olabilir. Ayrıca çalışmamızda tamoksifen grubunda gelişen uterin bir patoloji gözlenmemiştir. Tamoksifen-aspirin grubunda ise bir olguda endometrial polip varlığı dikkati çekmiştir. Buradan endometrial polibin ilaç enjeksiyonuna başlamadan önce mi geliştiği yoksa tamoksifen etkisinde mi geliştiği bilinmemekle birlikte serum VEGF düzeylerinin tamoksifen grubundan sonra en yüksek değerlerde olduğu tespit edilmiştir. Yani Coşkun ve ark. (223)' nın çalışmasında vurguladıkları gibi serum VEGF düzeylerindeki yükselmelerin tamoksifene bağlı gelişen endometrial patolojilerle ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

Sonuç itibariyle çalışmamızda ooforektomize rat uterusunda tamoksifenin vücut ağırlığını azaltmasına rağmen uterin ağırlığı artırdığı tespit edilmiştir ancak bu artış anlamlı değildir. Yine tamoksifenin BCL-2 ve KI-67 ekspresyonunu azalttığı VEGF ve COX-2 ekspresyonunu ise arttırdığı gözlemlenmiştir. Letrozol, vücut ağırlığında artış yaparken uterin ağırlığı azaltmakla birlikte anlamlı değildir. Letrozol stromal hücrelerde BCL-2 ekspresyonunda artış, VEGF ve COX-2 ekspresyonunda azalmaya sebep olmaktadır. Aspirinin tamoksifen ile kombinasyonu VEGF ve COX-2 ekspresyonunu azaltmaktadır. PECAM-1 ekspresyonu ile tamoksifenin uterin etkileri arasında bir ilişki saptanmamıştır. Serum VEGF düzeylerinin tamoksifen ile

arttığı aspirin ve letrozol ile azaldığı düşünülmektedir. Çalışmamızda aspirinin VEGF ve COX-2 ekspresyonunu inhibe ettiği görülmekle birlikte tamoksifen ile kombinasyonu halinde endometrial yan etkileri önleyebileceği görüşünü destekleyecek daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- 1- Tamoksifen vücut ağırlığını azaltır ancak tamoksifen aspirinle kombine edildiğinde bu azalma daha belirgin olup anlamlı fark oluşturmuştur.
- 2- Tamoksifen uterin ağırlıkta artış yapabilir ancak bu artış endometrial patolojilerin izlenmesiyle birlikte belirginleşebilir.
- 3- Tamoksifenin aspirinle kombinasyonu uterin ağırlıkta bir fark yaratmamıştır.
- 4- Letrozol vücut ağırlığını artırıp uterin ağırlığı azaltabilir ancak uterin ağırlıktaki azalma anlamlı değildir.
- 5- Tamoksifen uterusun stromal hücrelerinde VEGF ekspresyonunu anlamlı düzeyde artırmaktadır. Aspirin ile kombine edildiğinde ise VEGF ekspresyonunda azalma izlenmektedir ancak anlamlı düzeylere ulaşmamıştır. Daha çok denek kullanımı ve daha uzun süreli ilaç enjeksiyonları ile tamoksifenin uterin etkilerini önlemede aspirinin olumlu etkileri anlamlı düzeylere ulaşabilir.
- 6- Letrozol uterusun stromal hücrelerinde VEGF ekspresyonunu etkilememiştir. Aspirinle kombine edilmesi de anlamlı bir fark oluşturmamıştır ancak tamoksifene göre letrozol-aspirin kombinasyonu VEGF ekspresyonunu anlamlı ölçüde azaltmıştır.
- 7- Tamoksifen uterusun glandüler epitelinde ve stromasında COX-2 ekspresyonunu anlamlı düzeyde artırmaktadır. Aspirin ile kombine edildiğinde ise COX-2 ekspresyonu azalmaktadır ancak kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı düzeylerde değildir. Dolayısıyla tamoksifenin uterin etkilerini önlemede aspirinin olumlu etkileri, çalışmada kullanılan hayvan sayısının artırılması ve daha uzun süren ilaç enjeksiyonları ile anlamlı düzeylere ulaşabilmektedir.
- 8- Letrozolün uterusu COX-2 ekspresyonuna etkisi yoktur.
- 9- Aspirin uterusun glandüler epitelinde ve stromal hücrelerinde COX-2 ekspresyonunu tamoksifene kıyasla anlamlı düzeyde baskılamaktadır ancak kontrol grubu ile karşılaştırıldığında COX-2 ekspresyonunu etkilemediği gözlenmiştir.

- 10- Tamoksifen stromal hücrelerde BCL-2 ekspresyonunu azaltırken lüminal ve glandüler epitelde BCL-2 ekspresyonuna etkisi yoktur. Dolayısıyla tamoksifenin apoptozu inhibe ederek BCL-2 'yi baskıladığı düşünülmüştür.
- 11- Letrozolün BCL-2 ekspresyonunu etkilemediği düşünülmüştür.
- 12- Aspirin kontrol grubu ile kıyaslandığında stromal hücrelerde BCL-2 ekspresyonunu artırmazken tamoksifenle kıyaslandığında stromal hücrelerde BCL-2 ekspresyonunu artırmaktadır ve aspirinin apoptozu indükleyerek bu etkiye sebep olduğu düşünülmüştür.
- 13- Tamoksifen KI-67 ekspresyonunu lüminal epitelde azaltırken glandüler epitel ve stromada etkilememiştir.
- 14- Letrozolün KI-67 ekspresyonunu etkilemediği düşünülmüştür.
- 15-Tamoksifenin PECAM-1 ekspresyonuna etkisi olmadığı gibi aspirinle kombinasyonunun da PECAM-1 ekspresyonunu azaltıcı etkisi yoktur.
- 16- Tamoksifen serum VEGF düzeylerini artırmakla birlikte tamoksifene bağlı bu artış endometrial yan etkilerle korele ise anlamlı düzeylerde olabilir.
- 17- Tamoksifenin aspirinle kombinasyonu serum VEGF düzeylerini azaltır.
- 18- Letrozolün serum VEGF düzeylerini artırıcı etkisi minimal iken letrozol-aspirin kombinasyonunun serum VEGF düzeylerini belirgin şekilde azalttığı gözlenmiştir. Bu etkiye bağlı olarak endometrial yan etkilerin serum VEGF düzeyleri ile korele olabileceği düşünülmüştür.
- 19-Aspirin kontrol grubu ile kıyaslandığında serum VEGF düzeylerini etkilemezken tamoksifene kıyasla tamoksifen+aspirin kullanılan grupta serum VEGF düzeylerinin azaldığı gözlenmiştir.
- 20-Tamoksifenin endometrial yan etkilerini önlemeye yönelik hayvan çalışmalarında daha uzun süreli ilaç uygulamaları ve daha fazla denek kullanılması sonuçların anlamlı düzeylere ulaşmasını sağlayabilir.

KAYNAKLAR

1. Baring CC, Squires TS, Tong T: Cancer statistics 1993 C A. Cancer J Clin, 1993, 43, 7-26.
2. Coughlin SS, Ekwueme DU. Breast cancer as a global health concern. Cancer Epidemiol. 2009, 33(5): 315-8.
3. Jordan VC: The development of tamoxifen for breast cancer therapy: A tribute to the late Arthur Walpole. Breast Cancer Res Treat, 1988, 11: 197-209.
4. Ward HWC: Antiestrogen therapy for breast cancer- A trial of tamoxifen at two dose levels. BrMedJ, 1973, 1: 13-14.
5. Saarto T, Blomqvist C, Ehnholm C: Anti atherogenic effect of adjuvant antiestrogens: A randomised trial comparing the effects of tamoxifen and toremifene on plasma lipid levels in postmenopausal women with node - positive breast cancer. J Clin Oncol, 1996, 14: 429 -433.
6. Love RR, Mazess RB, Barden HS, et al: Effects of tamoxifen on bone mineral density in postmenopausal women after 5 years. Arch Int Med, 1994, 154 : 2585 - 2588.
7. Decensi A, Fontana V, Bruno S, et al: Effect of tamoxifen on endometrial proliferation. J Clin Oncol, 1996, 14 : 434-440.
8. Barakat RR, Gilewski TA, Saigo PE et al: The effect of adjuvant tamoxifen on the endometrium in women with breast cancer : An interim analysis of a prospective study. ProcAm Soc Clin Oncol, 1995, 779.
9. Timmerman D, Deprest J, Vergote I : Tamoxifen induced endometrial polyp. N Engl J Med, 1997, 336 : 1389-1390.

10. Fisher B, Constantino JP, Redmond C: Endometrial cancer in tamoxifen treated breast cancer patients; Finding from the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project (NSABP) B-14, *J Natl Cancer Inst*,1994, 86: 527-537.
11. Van Leeuwen FE, Benraadt J, Coebergh JWW: Risk of endometrial cancer after tamoxifen treatment of breast cancer. *Lancet*, 1994, 343 : 448 -452.
12. Dixon JM, Love CD, Bellamy CO, Cameron DA, Leonard RC, Smith H, Miller WR. Letrozole as primary medical therapy for locally advanced and large operable breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2001; 66 (3):191-9.
13. Tamanini C, De Ambrogi M. Angiogenesis in developing follicle and corpus luteum. *Reprod Domest Anim.* , 2004 , 39: 206-216.
14. Arun B, Goss P. The role of COX-2 inhibition in breast cancer treatment and prevention. *Semin Oncol*. 2004; 31 (2 Suppl 7): 22-9
15. Timothy H L, Bishop-Bailey D, Liu C H, Schaefers H J, Trifan O C. Cyclooxygenase 1 and 2 enzymes. *The International Journal of Cell Biology and Chemistry* 1999; 31: 551-557.
16. Singh B, Lucci A. Role of Cyclooxygenase-2 in Breast Cancer. *Journal of Surgical Research* 2002;108: 173-179.
17. Singh-Ranger G, Mokbel K. The role of cyclooxygenase-2 (COX-2) in breast cancer and implications of COX-2 inhibition. *EJSO* 2002; 28: 729-737.
18. Key T J, Pike M C. The role of oestrogens and progestagens in the epidemiology and prevention of breast cancer. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1988; 24: 29–43.

19. Thomas H V, Allen D S, Moore J W, Dowsett M, Fentiman I S. A prospective study of endogenous serum hormone concentrations and breast cancer risk in postmenopausal women on the island of Guernsey. *Br J Cancer* 1997; 76: 401–405.
20. Toniolo PG, Levitz M, Zeleniuch-Jaquette A, Banerjee S, Koenig K L, Shore R E. A prospective study of endogenous estrogens and breast cancer in postmenopausal women. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 190–197.
21. Key TJ, Verkasalo PK, Banks E. Epidemiology of breast cancer. *Lancet Oncol* 2001; 2: 133.
22. T.C. Sağlık Bakanlığı web sitesi Kanser İstatistikleri 1999, (<http://www.saglik.gov.tr/extras/istatistikler/apk20017092.htm>).
23. Tavassoli FA, Devilee P. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of the Breast and Female Genital Organs. Lyon , IARC Press, 2003;9-113.
24. Kelsey JL, Gammon MD, John EM. Reproductive factors and breast cancer. *Epidemiol Rev* 1993;15.
25. Ewertz M, Duffy SW, Adami HO. Age at first birth, parity and risk of breast cancer: a meta-analysis of 8 studies from the Nordic countries. *Int J Cancer* 1990;46:597
26. Key T, Appleby P, Barnes I, Reeves G; Endogenous sex hormones and breast cancer in postmenopausal women: reanalysis of nine prospective studies. *J Natl Cancer Inst.* 2002 17;94(8):606-16.

27. Beatson GT: On the treatment of inoperable cases of carcinoma of the mamma: Suggestions for a new method of treatment with illustrative cases . Lancet 1886, 2: 104 -107.
28. Ailen E, Doisy EA: An ovarian hormone: Preliminary report on its localisation, extraction and partial purification and action in test animals. JAMA, 1923, 81 : 819 -821.
29. Jensen EV, Block GE, Smith S, et al : Estrogen receptors and breast cancer response to adrenalectomy. In Hail TC (ed) Prediction of response in cancer therapy .Monogr Natl Cancer Insi, 1971. 34: 55- 70.
30. Lemer LI, Holthaus F J, Thompson CR: A nonsteroidal estrogen antagonist 1-p-2 diethylaminoethoxyphenyl -1-phenyl 2-p- methoxyphenyethanol. Endocrinol, 1958.63:215-318
31. Cole MP, Jones CTA, Todd IDH: A new antiestrogenic agent in last breast cancer: A preliminary appraisal of ICI, 46,474 Br J Cancer ,1971 25: 270- 275.
32. Adam HK, Patterson JS, Kemp JV. Studies on the metabolism and pharmacokinetics of tamoxifen in normal volunteers. Cancer Treat Rep 1980 64: 701-705.
33. Haskell CM: Antineoplastic agents. in: Haskel CM, Berek JS (eds). Cancer treatment. 4th ed. Philadelphia, W.P. Saunders Company, 1995, pp 78-166.
34. Lippman ME, Bolan G: Oestrogen responsive human breast cancer in long – term tissue culture. Nature, 1975, 256: 592- 593.
35. Osborne CK, Boldt DH , Clark GH, et al: Effects of tamoxifen on human breast cancer cell cycle kinetics accumulation of cells in early G 1 phase . Cancer, 1983, 43: 3583-3585.

36. Sutherland RL , Reddel RR, Green MD: Effects of oestrogens on cell proliferation and cell cycle kinetics: A hypothesis on the cell cycle effects of antiestrogens . *EurJ Cancer Clin Oncol*, 1983, 19: 307- 318.
37. Jordan VC, Dix CJ, Ailen KE: The effectiveness of long term treatment in laboratory model for adjuvant hormone therapy of breast cancer. in Salman SE, Jones SE (ed) : *Adjuvant therapy of cancer* , pp. 19 -24. New York , Grune and Stratton, 1979.
38. Jordan VC: Laboratory studies to develop general principles for the adjuvant treatment of breast cancer with antiestrogens: Problem and potential for future clinical applications. *Breast Cancer Res Treat*, 1983. 3 (Suppl):73-86
39. Jordan VC: Use of the DMBA induced rat mammary carcinoma system for the evaluation of tamoxifen as a potential adjuvant therapy: *Reviews On Endoc Rel Cancer*, 1978 (10 suppl), 49- 55.
40. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group : A systematic overview of all available randomised trials in early breast cancer of adjuvant endocrine and cytotoxic therapy *Treatment of Early Breast Cancer, Volume 1: Worldwide evidence 1985 - 1990*, p, 207 .Oxford, Oxford University Press, 1990.
41. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group : The effects of adjuvant tamoxifen and of cytotoxic therapy on mortality in early breast cancer: An overview of 61 randomised trials among 28.896 women. *NEngl J Med*, 1988, 319 : 1681 - 1692.
42. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group : Systemic treatment of early breast cancer by hormonal, cytotoxic or immune therapy : 133 randomised trials involving 31.000 recurrences and 24.000 deaths among 75.000 women. *Lancet*,1992,4; 339 (8784): 1-15

43. Jordan VC: Tamoxifen for the treatment and prevention of breast cancer. pp. 257- 264, PRR Inc. New York , 1999.
44. Rosen PP, Greshen S, Kinne DW: Factors influencing prognosis in node-negative breast carcinoma : Analysis of 767 T1NoMo / T2NoMo patients with long- term followup. J Clin Oncol,1993, 11: 2090 -2100.
45. Grady D, Rubin SM, Pettiti DB, et al: Hormone therapy to prevent disease and prolong life in postmenopausal women. Ann Int Med,1992, 117: 1016 - 1037.
46. Sullivan JM, Vander Zwaag R, Lemp UF : Postmenopausal estrogen use and coronary atherosclerosis . Ann Int Med, 1988, 108 : 358 - 363.
47. Bush TL, Barrett- Connor E, Cowan LD; et al: Cardiovascular mortality and noncontraceptive use of estrogen in women: Results from the Lipid Research Clinics Program Follow up Study. Circulation, 1987, 75: 1102 -1109.
48. Assikis VJ, Neven P, Jordan VC, et al : A realistle clinical perspective of tamoxifen and endometrial carcinogenesis. Eur J Cancer 1996, 32 A: 1464-1476.
49. Jordan VC, Labadibi MK, Langan -Fahey S: Supression of mouse mammary tumorigenesis by long- term tamoxifen therapy. J Natl Cancer Inst 1991, 83: 492 -496.
50. Fisher B, Constantino JP, Wickerham DL, et al : Prevention of breast cancer with tamoxifen : Report of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project P-1 Study. J Natl Cancer Inst,1998, 90: 1371-1388.

51. Veronesi U, Maisonneuve P, Costa A, et al: Prevention of breast cancer with tamoxifen : Preliminary findings from the Italian randomised trial among hysterectomised women . *Lancet* 1998, 362: 93-97.
52. Lien EA, Lonning PE: Selective oestrogen receptor modifiers (SERMs) and breast cancer therapy. *Cancer Treat Reviews* 26: 205-227, 2000.
53. Kiang DT, Kennedy BJ: Tamoxifen therapy in advanced breast cancer. *Ann Intern Med* 87:687-690,1977.
54. Haskell CM: Antineoplastic agents. in: Haskel CM, Berek JS (eds). *Cancer treatment*. 4th ed. Philadelphia, W.P. Saunders Company, 1995, pp 78-166
55. Kaiser-Kupfer MI, Lippman ME: Tamoxifen retinopathy. *Cancer Treat Rep*,1978, 62: 315—320.
56. Cohen I. Endometrial pathologies associated with postmenopausal tamoxifen treatment. *Gynecol Oncol*. 2004; 94 (2):256-66.
57. Killackey MA, Hakes TB, Pierce VK: Endometrial adenocarcinoma in breast cancer patients receiving antiesrogens. *Cancer Treat Rap*,1985, 69: 237- 238.
58. Assikis VJ, Jordan VC: Gynecologic effects of tamoxifen and the association with endometrial carcinoma . *Int J Gynecol Obstet*,1995, 49: 241- 257.
59. Fisher B, Constantino JP, Wickerham DI. et al.: Tamoxifen for prevention of breast cancer report of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project P-1 study. *J Natl Cancer Inst*,1998, 90: 1371-1380
60. Jaiyesimi IA, Buzdar AU, Decker DA, Hortobagyi GN: Use of tamoxifen for breast cancer twenty-eight years later. *J Clin Oncol*,1995, 13: 513-529.

61. Swedish Breast Cancer Cooperative Group Randomised trial of two versus five years of adjuvant tamoxifen for postmenopausal early stage breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 88: 1543-1529, 1996.
62. Hemsell DL, Grodin JM, Brenner PK, Mac Donald PC. Plasma precursors of estrogen. Correlation of the extent of conversion of plasma androstenedione to estrone with age. *J Clin Endocrinol Metab*, 1974 38: 476- 479.
63. Bilimonia MM, Assikis VJ, Jordan VC: Should adjuvant tamoxifen therapy be stopped at 5 years *Cancer J Sci Am*,1996, 2: 140 -150.
64. Sasco AJ: Tamoxifen and menopausal status: Risks and benefits. *Lancet*,1996 347:761.
65. Magriples U, Naftolin F, Schvartz P, et al: High-grade endometrial carcinoma in tamoxifen treated breast cancer patients. *J Clin Oncol*,11: 485- 490, 1993.
66. Susana M. Campos Aromatase Inhibitors for Breast Cancer in Women *The Oncologist*, April 2004, 9(2): 126–136.
67. Symezak J, Milewicz A, Thijssen JH e al: Concentration of sex steroids in adipose tissue after menopause. *Steroids*,1998, 63: 319-321.
68. Goss PE, Yow O. An overview of aromatase Inhibitors in the treatment of metastatic breast cancer. *Current Oncology*, 2001, S(2):1-9.
69. Mitwally MF, Casper RF. Aromatase inhibitors in ovulation induction. *Semin in Reprod Med* 2004;22:61-78.
70. Buzdar AU Plourde PV, Hortobagyi GN: Aromatase Inhibitors in metastatic breast cancer. *Semin Oncol*, 1996, (4 suppl. 9), 23:28-32.

71. Harvey HA: Aromatase Inhibitors in clinical practise: current status and a look to the future. *Semin Oncol*, (Suppl. 9), 1996, 23:33-38.
72. Kardinal CG: Endocrine therapy of breast cancer. In: Donegan WL, Spratt JS (eds). *Cancer of the Breast* 4th ed. Philadelphia, W.P. Saunders Company, 1995, pp 534-580.
73. Poster AB, Jarmon M, Leung CS, et al: Analogues of aminoglutethimide: selective inhibition of aromatase. *J Med Chem*, 1985, 28:20-26.
74. Dowsett M, Macneill FA, Mehta A, et al: Endocrine, pharmacologic and clinic studies of the aromatase inhibitor 3-ethyl-3(4-pyridyl) piperidine-2,6 diane ("pyridoglutethimide") in postmenopausal breast cancer. *Br J Cancer* 1991, 64:887-893.
75. Macneill FA, Jones AL, Jacobs S, et al: The influence of aminoglutethimide and its analogue rogletimide on peripheral aromatization in breast cancer. *Br. J Cancer*, 1992, 66:5-692-697.
76. Gertsch MC: New aromatase inhibitors: More selectivity, less toxicity, unfortunately, the same activity. *European J Cancer*, 1996, 32A: 393-395.
77. Raars JI, Falkson G, Falkson HC, et al: A study of fadrozole, a new aromatase inhibitor, in postmenopausal women with advanced metastatic breast cancer. *J Clin Oncol*, 1992, 10:111-116.
78. Killer A, Lipton A, Plenderson I, et al: Fadrozole hydrochloride in postmenopausal patients with metastatic breast cancer. *Cancer*, 1996 78:789-793.
79. Thürlimann B, Beratta K, Bacchi M, et al: First-line fadrozole HCL (CGS 16949 A) versus tamoxifen In postmenopausal women with advanced breast cancer.

Prospective randomised trial of the Swiss Group for clinical cancer research SAKK 20/88. *Ann Oncol*, 1996, 7:471-479.

80. Falkson CI, Falkson HC. A randomised study of CGS 16949A (fadrozole) versus tamoxifen in previously untreated postmenopausal patients with metastatic breast cancer. *Ann Oncol*, 1996, 7:465-469.
81. Goss PE, Clark, RM, Ambus U, et al: Phase II study of vorozole (R83S42), a new aromatase inhibitor, in postmenopausal women with advanced breast cancer in progression on tamoxifen. *Clin Cancer Res*, 1995, 1: 287-294.
82. Vinholes J, Paridaens R, Piccart MJ, et al: An EORTC breast group phase II study of vorozole (R 83842). a new aromatase inhibitor in advanced breast cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol*, 1994, 13: A, 223.
83. Lubet RA, Steele VE, Casebolt TL, et al; Chemopreventive effects of the aromatase inhibitors vorozole (R-S3S42) and 4-hydroxyandrostenedione in the methylnitrosourea (MNU)- induced mammary tumo-ur model in Sprague-Dawley rats. *Carcinogenesis*, 1994, 15: 2775-2780.
84. Grubbs CJ, DeCoster R, Bowden CR, et al: Vorozole, an aromatase inhibitor, as a chemopreventive agent in the methylnitrosourea (MNU)-induced mammary cancer model. *Proc Annu Meet Am Assoc Cancer Res*, 1996 37:1867.
85. Naboltz A, Buzdar A, Pollak M et al.: Anastrozole is superior to tamoxifene as first line therapy for advanced breast cancer in postmenapausal woman: results of a North American multicenter randomised trial. Arimidex Study Group. *J Clin Oncol*, 2000, 18: 3758-3767.
86. Bonnetterre K, Thiirlimann B, Robertson JF et al.: Anastrozole versus tamoxifen as first-line therapy for advanced breast cancer in 688 postmenapausal wo-

memresults of the tamoxifen or arimidex randomized group efficacy and tolerability study. *J Clin Oncol*,2000, 18:3748-3757.

87. Buzdar A, Nabholz JM, Robertson JF et al. Anastrozole versus tamoxifen as first line therapy for advanced breast cancer in postmenopausal women:combined analyses from two identically designed multicenter trials. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2000; 19.
88. Geisler J, King N, Dowsett M, et al: Influence of anastrozole (Arimidex), a selective, non-steroidal aromatase inhibitor, on in vivo aromatisation and plasma oestrogen levels in postmenopausal women with breast cancer. *Br J Cancer*, 1996, 74:1286-1291.
89. The ATAC (Arimidex, Tamoxifen Alone or in Combination) Trialists' Group. Anastrozole alone or in combination with tamoxifen versus tamoxifen alone for adjuvant treatment of postmenopausal women with early breast cancer: first results of the ATAC randomised trial. *The Lancet*, 2002, 359: 2131-2139.
90. Plourde PV, Dyroff M, Dukes M. Arimidex:A potent and selective fourth generation aromatase inhibitor. *Breast Cancer Treat*,1994, 30(1): 13-111.
91. Yates RA, Dowsett M, Fisher GV et al. Arimidex: a selective, potent inhibitor of aromatase in postmenopausal female volunteers. *Br J Cancer*, 1996;73:543-548.
92. Jonat W, Howell A, Blomqvist C, et al: A randomised trial comparing two doses of the new selective aromatase inhibitor anastrozole with megestrol acetate in postmenopausal patients with advanced breast cancer. *Eur J Cancer*, 1996, 32A:404-412.
93. Buzdar AU, Jonat W. Howell A, et al: Anastrozole versus megestrol acetate in the treatment of postmenopausal women with advanced breast carcinoma. Results of

a survival update based on a combined analysis of data from two mature phase III trials. *Cancer*, 1998, 83:1142-1152.

94. Ivason A, Smith IE, Ahern J, et al: Phase I study of the oral nonsteroidal aromatase inhibitor CGS 20267 in postmenopausal patients with advanced breast cancer. *Cancer Res*, 1993, 53: 266-270.
95. Demers LM: Effect of fadrozole (CGS 16949 A) and letrozole (CGS 20267) on the inhibition of aromatase activity in breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat*, 1994, 30: 95-102.
96. Gershanovich M, Chaudri HA, Campos D, et al: Letrozole, a new oral aromatase inhibitor: Randomized trial comparing 2.5 mg daily, 0.5 mg daily and aminoglutethimide in postmenopausal women with advanced breast cancer. *Ann Oncol*, 1998, 9: 639-645.
97. Dombernowsky P, Smith I, Falkson G, et al: Letrozole, a new oral aromatase inhibitor for advanced breast cancer: double-blind randomized trial showing a dose effect and improved efficacy and tolerability compared with megestrol acetate. *J Clin Oncol*, 1998, 16: 453-461.
98. Mouridsen H, Gershanovich M, Sun Y, et al: Superior efficacy of letrozole versus tamoxifen as first-line therapy for postmenopausal women with advanced breast cancer: Results of a phase III study of the international letrozole breast cancer group. *J Clin Oncol*, 2001, 19 (10): 2596-2606.
99. Ellis MJ, Coop A, Singh B et al.: Letrozole is more effective neoadjuvant endocrine therapy than tamoxifen for erbB1 and /or erbB2 positive, estrogen receptor positive primary breast cancer: Evidence from a phase III randomized trial *J Clin Oncol*, 2001, 19(18): 3808-3816.

100. Sioufi A, Sandrenan N, Godbillon J et al. Comparative bioavailability of letrozole under fed and fasting conditions in 12 healthy subjects after 2.5 mg single oral administration. *Biopharm Drug Dispos*,1997, 18(6);459-497.
101. Sioufi A, Gauducheau N, Pineau V V et al Absolute bioavailability of letrozole in healthy postmenopausal women. *Biopharm. Drug Dispos.* 18 (9); 779-789,1997.
102. Dowsett M, Pfister C, Johnston SRD et al.: Impact of tamoxifen on the pharmacokinetic and endocrine effects of aromatase inhibitor letrozole in postmenopausal women with breast cancer *Clin Cancer Res*, 1999, 5: 2338-2343.
103. Tomas E, Kauppila A, Blanco G, et al: Comparison between the effects of tamoxifen and toremifen on the uterus In postmenopausal breast cancer patients. *Gynecol Oncol*, 1995, 59:261-226.
104. Perez-Carrion R, Alberola CV, Calabresi F, et al: Comparison of the selective aromatase inhibitor formestane with tamoxifen as first-line hormonal therapy in postmenopausal women with advanced cancer. *Ann Oncol*,1994, (Suppl 7), 5:12-24.
105. Zilembo N, Noberasco C, Bajetta E, et al: Endocrinological and clinical evaluation of exemestane, a new steroidal aromatase inhibitor. *Br J Cancer*, 1995 ,72: 1007- 1012.
106. KaufmannM, Bajetta E, Dirix LY, et al: Exemestane is superior to megestrol acetate after tamoxifen failure postmenopausal women with advanced breast cancer: results of a phase III randomized double blind trial. *J Clin Oncol*, 2000, 18:1399-1411.

107. Fong GH, Rossant J, Gertsenstein M, Breitman ML. Role of Flt-1 receptor tyrosine kinase in regulating the assembly of vascular endothelium. *Nature*. 1995; 376: 66-70.
108. Rabbani ML, Rogers PA. Role of vascular endothelial growth factor events before implantation in rats. *Reproduction*. 2001;122:85-90.
109. Matsui N, Kawano Y, Nakamura S, Miyakawa I. Changes in vascular endothelial growth factor production associated with desidualization by human endometrial stromal cells in vitro. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2004;83:138-143.
110. Özen E, Kargı A. Akut ve kronik inflamasyon. İç: Çevikbaş, U. *Temel Patoloji*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 1995. s. 25-46.
111. Mehmet Melli ve S.Oğuz Kayaalp Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, 2009, s. 837-870, 12.baskı, 2.cilt, Pelikan Yayıncılık.
112. Patrono C. Aspirin as an antiplatelet drug. *New Eng J Med* 1994; 330:1287-1294.
113. Allan SM, Sacks NP Colorectal cancer. *Oncology*. London: Chapman, 1995: 621-634.
114. Suh O, Mettlin C, Petrelli NJ. Aspirin use, cancer and polyps of the large bowel. *Cancer* 1993; 72: 1171-7.
115. Giovannucci E, Egan KM, Hunter DJ, et al. Aspirin and the risk of colorectal cancer in women. *N Eng J Med* 1995; 333:609-614.

116. Peleg H, Maibach HT, Brown HT, et al. Aspirin and NSAID use and risk of subsequent colorectal cancer and adenoma in male. *Arch Int Med* 1994; 154: 394-9. *T Klin J Med Sci* 1997, 17.
117. Hixson LJ, Earnest DL, Fennerty MB. NSAID effect on sporadic colon polyps. *Am J Gastroenterol* 1993; 88:1652-6.
118. Thun MJ, Calle EE. Aspirin use and risk of fatal cancer. *Cancer Res* 1993; 53:1322-7.
119. Paganini HA. Aspirin and colorectal cancer. *Prev Med* 1996; 43: 275-9.
120. Morita I, Schindler M, Regier MK et al. Different intracellular locations for PGH synthase 1 and 2. *J Biol Chem* 1995; 270: 10092-8.
121. Eberhart CE, Coffey RJ, Giardinello FM et al. Up-regulation of cox-2 gene expression in human colorectal adenomas. *Gastroenterology* 1994; 107:118-8.
122. Sinicrope FA, Ruan SB, Cleary KR. Bcl-2 and p53 oncoprotein expression during colorectal tumorigenesis. *Cancer Res* 1995; 55: 237-41.
123. Bedi A, Pasricha PJ, Akthar AJ et al. Inhibition of apoptosis during development of colorectal cancer. *Cancer Res* 1995; 55: 1811-6.
124. Symonds H, Krall L, Remington L et al. p53 dependent apoptosis suppresses tumor growth and progression in vivo. *Cell* 1994; 78: 703-11.
125. Fu JY, Masferrer JL, Raz A. The induction and suppression of COX in human monocytes. *J Biol Chem* 1990; 265: 167, 37-40.
126. Denkert C, Winzer K J, Hauptmann S. Prognostic impact of Cyclooxygenase-2 in breast cancer. *Clinical Breast cancer* 2004 ; 4: (6), 1-6.

127. William C. Wood, Hyman B. Muss, Lawrence J. Solin, Olufunmilayo I. Olopade. Cancer of the Breast: Section 2: DeVita V T. Cancer, Principles and Practice of Oncology. 7th. Edition, Philadelphia USA: Lippincott Williams & Wilkins, 2005, s: 1399-1487.
128. Masferrer J L, Antiangiogenic and antitumor activities of cyclooxygenase-2 inhibitors. *Cancer Res.* 2000, 60: 1306-1311.
129. Davies G, Salter J, Hills M, Martin A L, Sacks N, Dowsett M. Correlation between Cyclooxygenase-2 and expression and angiogenesis in human breast cancer. *Clin. Cancer Res.* 2003; 9:2651-2656.
130. Leahy, K. M., Ornberg, R. L. Cyclooxygenase-2 inhibition by celecoxib reduces proliferation and induces apoptosis in angiogenic endothelial cells in vivo. *Cancer Res.* 2002, 62: 625–631.
131. Rozic Z G, Chakraborty C, Lala P K. Cyclooxygenase inhibitors retard murine mammary tumor progression by reducing tumor cell migration, invasiveness and angiogenesis. *Int. J. Cancer*, 2001, 93: 497–506.
132. Ristimaki 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 Research.* 2002; 62: 632-635.
133. Basu D G, Pathangey L, Tinder L M, LaGioia M, Gendler SJ, Pinku M. Cyclooxygenase-2 inhibitor induces apoptosis in breast cancer cells in an in vivo model of spontaneous metastatic breast cancer. *Mol Cancer Res.* 2004;(2)11.

134. Berrino F, Multi P, Micheli A, Bolelli G, Krogh V, Sciajno R. Serum sex hormone levels after menopause and subsequent breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1996; 88: 291–296.
135. Dorgan J F, Stanczyk F Z, Longcope C, Stephenson H E J, Chang L, Miller R. Relation of prediagnostic serum estrogen and androgen levels to breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1996; 5: 533–539.
136. Reed M J. In situ oestrone synthesis in normal breast and breast tumour tissues: effect of treatment with 4-hydroxyandrostenedione. *Int J Cancer* 1989; 44: 233–237.
137. Hiakivi-Clarke L. Do estrogens always increase breast cancer risk? *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology* 2002; 80: 163-174.
138. Bruegemeier R W, Jeanette R A, Petrel T A. Aromatase and Cyclooxygenases: enzymes in breast cancer. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology* 2003; 86: 501-507.
139. Bruegemeier R W. Correlation of aromatase and cyclooxygenase gene expression in human breast cancer specimens. *Cancer Lett.* 1999; 140: 27-35.
140. Davies G, artin L A, Sacks N, Dowsett M. Cyclooxygenase-2 (COX-2), aromatase and breast cancer: a possible role for COX-2 inhibitors in breast cancer chemoprevention. *Annals of Oncology* 2002;13: 669-678.
141. Bikfalvi A. Recent developments in the inhibition of angiogenesis: examples from studies on platelet factor-4 and the VEGF/VEGFR system. *Bio Pharma.* 2004; 68: 1017-1021.
142. Kleespies A, Guba M, Jauch KW, Bruns CJ. Vascular endothelial growth factor in esophageal cancer. *J Surg Oncol.* 2004;87:95-104.

143. Ferrara N, Gerber HP, Le Couter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med.* 2003;9:669-676.
144. Ortega N, L'faqihi F-E, Plouet J. Control of VEGF angiogenic activity by the extracellular matrix. *Biol Cell.* 1998; 90: 381-390.
145. Ortega N, L'faqihi F-E, Plouet J. Control of VEGF angiogenic activity by the extracellular matrix. *Biol Cell.* 1998;90:381-390.
146. Rosenstein JM, Krum JM. New roles for VEGF in nervous tissue beyond blood vessels. *Exp Neurol* 2004; 187: 246-253.
147. Monacci WT, Merrill MJ, Oldfield EF. Expression of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor in normal rat tissues. *Am J Physiol.* 1993; 264: 995-1002.
148. Zachary I. Molecules in focus: VEGF. *Int J Biochem Cell Biol.* 1998; 30: 1169-1174.
149. Thomas KA. VEGF, a potent and selective angiogenic agent. *J Biol Chemistry.* 1996; 271: 603-606.
150. Harada S, Nagy JA, Sullivan KA, Thomas KA, Endo N, Rodan GA, et al. Induction of vascular endothelial growth factor expression by prostaglandin E2 and E1 in osteoblasts. *J Clin Invest.* 1994; 93: 2490-2496.
151. Shweiki D, Itin A, Soffer D, Keshet E. Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis. *Nature.* 1992;359:843-845.

152. Josko J, Gwozdz B, Jerdzejowska-Szypulka H, Hendryk S. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its effect on angiogenesis. *Med Sci Monit.* 2000; 6:1047-1052.
153. Rees M, Hague S, Oehler MK, Bicknell R. Regulation of endometrial angiogenesis. *Climacteric.* 1999; 2:52-58.
154. Sugino N, Kashida S, Karube-Harada A. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors in human endometrium throughout the menstrual cycle and early pregnancy. *Reproduction.* 2002;123: 379-387.
155. Li XF, Gregory J, Ahmed A. Immunolocalisation of vascular endothelial growth factor in human endometrium. *Growth Factors.* 1994;11: 277-282.
156. Nayak N, Brenner R. Vascular proliferation and vascular endothelial growth factor expression in the rhesus macaque endometrium. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002; 87:1845-1855.
157. Abbas MM, Evans JJ, Sykes PH, Benny PS. Modulation of vascular endothelial growth factor and thymidine phosphorylase in normal human endometrial stromal cells. *Fertil Steril.* 2004; 82:1048-1053.
158. Gerdes J, Schwab U, Lemke H, Stein H. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *Int J Cancer.* 1983 15; 31:13-20.
159. Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J. Cell Physiol.* 2000, 182: 311-22.
160. Endl E, Gerdes J. The Ki-67 protein: fascinating forms and an unknown function. *Exp Cell Res.* 2000, 15; 257: 231-7.

161. Uchikawa J, Shiozawa T, Shih HC, Miyamoto T, Feng YZ, Kashima H, Oka K, Konishi I. Expression of steroid receptor coactivators and corepressors in human endometrial hyperplasia and carcinoma with relevance to steroid receptors and Ki-67 expression. *Cancer* 2003, 15; 98: 2207-2213.
162. Hashimoto K, Araki K, Osaki M, Nakamura H, Tomita K, Shimizu E, Ito H. MCM2 and Ki-67 expression in human lung adenocarcinoma: prognostic implications. *Pathobiology* 2004; 71:193-200.
163. Ohta G, Sakai H, Kachi S, Hirata A, Yonemaru K, Kitajima A, Yanai T, Masegi T. Assessment of proliferative potentials of canine osteosarcomas and chondrosarcomas by MIB-1 immunohistochemistry and bromodeoxyuridine incorporation. *J Comp Pathol.* 2004; 131:18-27.
164. Klein CL, Wagner M, Kirkpatrick CJ, Van Kooten TG. A new quantitative test method for cell proliferation based on detection of the Ki-67 protein. *J Mater Sci Mater Med.* 2000;11:125-132.
165. Tilli CMLJ, Stavast-Kooy AJW, Ramaekers FCS, Neumann HAM. Bax expression and growth behavior of basal cell carcinomas. *J Cutan Pathol* 2002; 29: 79-87.
166. Rossen K, Karabulut Thorup A, Hou-Jensen K, Krag Jacobsen G. Bax protein is not expressed by basal cell carcinomas. *Br J Dermatol* 1998; 139: 472-474.
167. Ramdial PK, Madaree A, Reddy R, Chetty R. Bcl-2 protein expression in aggressive and non-aggressive basal cell carcinomas. *J Cutan Pathol* 2000; 27: 283-291.
168. Delehedde M, Cho SH, Sarkiss M, Brisbay S, Davies M, El-Naggar AK, McDonnell TJ. Altered expression of bcl-2 family member proteins in nonmelanoma skin cancer. *Cancer* 1999; 85: 1514-1522.

169. Tao X-J, Tilly Ki, Maravei DV, Shifren JL, Krajevski S, Reed JC, Tilly JT and Isaacson KB (1997) Differential expression of members of the bcl-2 gene family in proliferative and secretory human endometrium: glandular epithelial cell apoptosis is associated with increased expression of bax. *J Clin Endocrinol Metab* 82, 2738-2746.
170. Cho S, Hahm J-H, Hong Y-S. Analysis of p53 and bax mutations, loss of heterozygosity, p53 and bcl2 expression and apoptosis in basal cell carcinoma in Korean patients. *Br J Dermatol* 2001; 144: 841-848.
171. Diebold J, Barretton G, Felchner M, Meier W, Dopfer K, Schmidt M and Lohrs U (1996) Bcl-2 expression, p53 accumulation and apoptosis in ovarian carcinoma cell lines. *Am J Clin Pathol* 105,341-349.
172. Reed JC (1997) Double identity for proteins of the Bcl-2 family. *Nature* 387, 773-776.
173. Watanabe H, Kanzaki H, Narukavva S, Inoue T, Katsuragavva H, Kaneko Y and Mori T (1997) Bcl-2 and Fas expression in eutopic and ectopic human endometrium during the menstrual cycle in relation to endometrial cell apoptosis. *Am J Obstet Gynecol* 176, 360-368.
174. Otsuki Y (2001) Apoptosis in human endometrium: apoptotic detection methods and signaling. *Med Electron Microsc* 34,166-173.
175. Boise LH, Gonzalez-Garcia M, Postema CE, Ding L, Lindsten T, Turka LA, Mao X, Nunez G and Thompson CB (1993) bcl-x, a bcl-2 related gene that functions as dominant regulator of apoptotic cell death. *Cell* 74, 597-608.

176. Tao X-J, Sayegh RA, Tilly JT and Isaacson KB (1998) Elevated expression of the proapoptotic BCL-2 family member, BAK, in the human endometrium coincident with apoptosis during the secretory phase of the cycle. *Fertil Steril* 70, 338-343.
177. Van Mourik JA, Leeksa OC, Reinders JH, de Groot PG, Zandbergen-Spaargaren J. Vascular endothelial cells synthesize a plasma membrane protein indistinguishable from the platelet membrane glycoprotein IIa. *J Biol Chem.* 1985, 15; 260 (20): 11300–11306.
178. Gumina RJ, Kirschbaum NE, Rao PN, vanTuinen P, Newman PJ. The human PECAM-1 gene maps to 17q23. *Genomics.* 1996 Jun 1;34 (2):229–232.
179. Stockinger H, Gadd SJ, Eher R, Majdic O, Schreiber W, Kasinrek W, Strass B, Schnabl E, Knapp W. Molecular characterization and functional analysis of the leukocyte surface protein CD31. *J Immunol.* 1990 1; 145 (11): 3889– 3897.
180. Muller WA, Weigl SA, Deng X, Phillips DM. PECAM-1 is required for transendothelial migration of leukocytes. *J Exp Med.* 1993 1; 178 (2): 449–460.
181. Vaporciyan AA, DeLisser HM, Yan HC, Mendiguren II, Thom SR, Jones ML, Ward PA, Albelda SM. Involvement of platelet-endothelial cell adhesion molecule-1 in neutrophil recruitment in vivo. *Science.* 1993 3; 262 (5139): 1580–1582.
182. Gumina RJ, el Schultz J, Yao Z, Kenny D, Wartier DC, Newman PJ, Gross GJ. Antibody to platelet/endothelial cell adhesion molecule-1 reduces myocardial infarct size in a rat model of ischemia-reperfusion injury. *Medical College of Wisconsin, Department of Cellular Biology and Anatomy,* 1996, 15; 94 (12): 3327-3333.

183. P J Newman , The biology of PECAM-1. *J Clin Invest.* 1997; 99 (1): 3–8.
184. Mohamed I, Yeh JK ,Alfacalcidol prevents aromatase inhibitor (Letrozole)-induced bone mineral loss in young growing female rats. *Metabolism Laboratory, Winthrop-University Hospital, Mineola, New York 11501, USA. J Endocrinol.* 2009; 202 (2): 317-325.
185. Kenneth P. Nephew, Elizabeth Osborne, Ronald A. Lubet, Clinton J. Grubbs and Sohaib A. Khan Effects of Oral Administration of Tamoxifen, Toremifene, Dehydroepiandrosterone, and Vorozole on Uterine Histomorphology in the Rat *Medical Sciences, Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 2000, 223: 288-294.
186. Kafkaslı A, Erdem F, Müezzinoğlu B, Akbaşak B, Burak F, Aksoy T, Birincioglu M, Biotech MG, Biotec FT Side effects of tamoxifen in oophorectomized rats. *Gynecol Obstet Invest.* 1998; 45 (2): 93-98.
187. Goss PE, Qi S, Hu H. Comparing the effects of atamestane, toremifene and tamoxifen alone and in combination, on bone, serum lipids and uterus in ovariectomized rats. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2009; 113 (3-5) : 233-240.
188. Tsujioka S, Ban Y, Wise LD, Tsuchiya T, Sato T, Matsue K, Ikeda T, Nishikibe M. Collaborative work on evaluation of ovarian toxicity. 3) Effects of 2- or 4-week repeated-dose toxicity and fertility studies with tamoxifen in female rats, *J Toxicol Sci.* 2009; 34 (1): SP 43-51.
189. P Carthew, RE Edwards, BM Nolan, MJ Tucker and LL Smith, Compartmentalized uterotrophic effects of tamoxifen, toremifene, and estradiol in the ovariectomized Wistar (Han) rat, *Toxicological Sciences*, MRC

- Toxicology Unit, University of Leicester, United Kingdom. 1999, 48 (2): 197-205.
190. Tabibzadeh S (1995) Signals and molecular pathways involved in apoptosis with special emphasis on human endometrium. *Hum Reprod* 1,303-323.
191. Berna Güney Saruhan, M. Aydın Ketani ,Ooforektomi yapılan sıçanlara eksojen verilen östrojenin uterus bağ ve kas dokularına etkilerinin araştırılması, *Dicle Tıp Dergisi*, 2005, cilt: 32, Sayı: 2, (52-56).
192. Pekin,T: Endometrial hiperplaziler. *Sendrom*. 2000; (8):12-114.
193. Macmahan, B: Risk factors for endometrial cancer. *Gynecol oncol*. 1974; (2): 122-125.
194. J.D, Pickar, J.H: Incidence of endometrial hyperplasia in postmenopausal women taking conjugated oesrogens (premarin) with medroxy progesterone acetate or conjugated estrogens alone. *Amj Obstet Gynecol*. 1994; (170): 1213-1223.
195. Harlap, S: The benefits and risks of hormone replacement therapy: an epidemiologic overview. *Amj Obstet Gynecol*. 1992;(166):1986-92.
196. Gorel A.S., Gorel, H., Demir N: Basit Endometrial Hiperplazi Olgularında Klinik ve Tedavi . *T. Klin J Gynecol Obst*.1997 7/4.
197. Altaner S, Gucer F, Tokatli F, Guresci S, Ozdemir C, Puyan FO, Kutlu K. Expression of Bcl-2 and Ki-67 in tamoxifen-associated endometrial polyps: comparison with postmenopausal polyps. *Onkologie*. 2006; 29(8-9): 376-380.
198. Cohen I, Perel E, Tepper R, Flex D, Figer A, Shapira J, Altaras MM, Fishman A, Bernheim J, Cordoba M, Yigael D, Beyth Y. ,Dose-dependent effect of

tamoxifen therapy on endometrial pathologies in postmenopausal breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat.* 1999; 53 (3): 255-262.

199. Naomi D. Quinton, Lydia J. Taylor and Sean R. Duffy , Differential expression of estrogen receptor α , Ki-67 and Bcl-2 in endometrial biopsies from women treated with anastrozole and tamoxifen, *Proc Amer Assoc Cancer Res*, Volume 46, 2005.
200. Grace M. Callagy, Mark J. Webber, Paul DP Pharoah, Carlos Calas, Meta-analysis confirms BCL-2 is an independent prognostic marker in breast cancer *BMC Cancer* 2008, 8: 153.
201. Usta U., Edalı M., Aydın N., İnaktif, proliferative, hiperplazik endometriumlarda ve endometrioid karsinomda proliferative-apoptotik aktivitenin değerlendirilmesi, *Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2007; 24 (1): 28-35.
202. Mourits MJ, Hollema H, De Vries EG, Ten Hoor KA, Willemsse PH, Apoptosis and apoptosis-associated parameters in relation to tamoxifen exposure in postmenopausal endometrium. *Human Pathology* 2002; 33 (3): 341-346.
203. Punyadeera C, Kamps R, Defrère S, Dijcks F, de Goeij A, Ederveen A, Dunselman G, Groothuis P. Effects of selective oestrogen receptor modulators on proliferation in tissue cultures of pre- and postmenopausal human endometrium. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2008; 112 (1-3): 102-109.
204. Charnock-Jones DS, Sharkey AM, Rajput-Williams J, Burch D, Fountain SA, Boocock CA, Smith SK. Identification and localization of alternately spliced mRNAs for vascular endothelial growth factor in human uterus and estrogen regulation in endometrial carcinoma cell lines. *Biol Reprod.* 1993; 48(5): 1120-8

205. Hyder SM, Huang JC, Nawaz Z, Boettger-Tong H, Mäkelä S, Chiappetta C, Stancel GM, Regulation of vascular endothelial growth factor expression by estrogens and progestins. *Environ Health Perspect.* 2000; 108 (5):785-790.
206. Niklaus AL, Babischkin JS, Aberdeen GW, Pepe GJ, Albrecht ED. Expression of vascular endothelial growth/permeability factor by endometrial glandular epithelial and stromal cells in baboons during the menstrual cycle and after ovariectomy. *Endocrinology.* 2002 ; 143 (10): 4007-4017.
207. Zheng H, Kangas L, Härkönen PL. Comparative study of the short-term effects of a novel selective estrogen receptor modulator, ospemifene, and raloxifene and tamoxifen on rat uterus. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2004 88 (2): 143-156.
208. Mueller MD, Pritts EA, Zaloudek CJ, Dreher E, Taylor RN. Regulation of vascular endothelial growth factor by tamoxifen in vitro and in vivo. *Gynecol Obstet Invest.* 2003; 55 (2): 119-124.
209. Hyder SM, Chiappetta C, Stancel GM. Triphenylethylene antiestrogens induce uterine vascular endothelial growth factor expression via their partial estrogen agonist activity. *Cancer Lett.* 1997, 9;120 (2): 165-171.
210. Maia H Jr, Correia T, Freitas LA, Athayde C, Coutinho E. Cyclooxygenase-2 expression in endometrial polyps during menopause. *Gynecol Endocrinol.* 2005; 21(6): 336-339.
211. Kong B, Tian Y, Zhu W, Su S, Kan Y, Effects of celecoxib and nimesulide on the proliferation of ectopic endometrial stromal cells in vitro. *J Int Med Res* .2008; 36 (5): 1032-1038.

212. Hertrampf T, Schmidt S, Laudенbach-Leschowsky U, Seibel J, Diel P. Tissue-specific modulation of cyclooxygenase-2 (Cox-2) expression in the uterus and the vena cava by estrogens and phytoestrogens. *Mol Cell Endocrinol.* 2005, 24; 243(1-2): 51-57.
213. Genç S, Attar E, Gürdöl F, Kendigelen S, Bilir A, Serdaroğlu H. The effect of COX-2 inhibitor, nimesulide, on angiogenic factors in primary endometrial carcinoma cell culture. *Clin Exp Med.* 2007; 7(1): 6-10.
214. Flossmann E, Rothwell PM; Effect of aspirin on long-term risk of colorectal cancer: consistent evidence from randomised and observational studies. *Lancet.* 2007, 12;369(9573):1603-1613.
215. Grau MV, Sandler RS, McKeown-Eyssen G, Bresalier RS, Haile RW, Barry EL, Ahnen DJ, Gui J, Summers RW, Baron JA. Nonsteroidal anti-inflammatory drug use after 3 years of aspirin use and colorectal adenoma risk: observational follow-up of a randomized study. *J Natl Cancer Inst.* 2009, 18;101(4):267-276.
216. Cuzick J, Otto F, Baron JA, Brown PH, Burn J, Greenwald P, Jankowski J, La Vecchia C, Meyskens F, Senn HJ, Thun M. Aspirin and non-steroidal anti-inflammatory drugs for cancer prevention: an international consensus statement. *Lancet Oncol.* 2009; 10 (5): 501-507.
217. Cao G, Fehrenbach ML, Williams JT, Finklestein JM, Zhu JX, Delisser HM. Angiogenesis in platelet endothelial cell adhesion molecule-1-null mice. *Am J Pathol.* 2009;175(2):903-915.
218. Wang Y, Sheibani N, PECAM-1 isoform-specific activation of MAPK/ERKs and small GTPases: implications in inflammation and angiogenesis. *J Cell Biochem.* 2006, 15;98(2):451-468.

219. Dimaio TA, Wang S, Huang Q, Scheef EA, Sorenson CM, Sheibani N. Attenuation of retinal vascular development and neovascularization in PECAM-1-deficient mice. *Dev Biol.* 2008, 1;315(1): 72-88.
220. Koyama Y, Kaneko K, Akazawa K, et al. Vascular endothelial growth factor-C and vascular endothelial growth factor-D messenger RNA expression in breast cancer: association with lymph node metastasis. *Clin Breast Cancer* 2003; 4: 354-360.
221. Holmes CE, Huang JC, Pace TR, Howard AB, Muss HB. Tamoxifen and aromatase inhibitors differentially affect vascular endothelial growth factor and endostatin levels in women with breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2008, 15;14(10):3070-3076.
222. Adams J, Carder PJ, Downey S, Forbes MA, MacLennan K, Allgar V, Kaufman S, Hallam S, Bicknell R, Walker JJ, Cairnduff F, Selby PJ, Perren TJ, Lansdown M, Banks RE. Vascular endothelial growth factor (VEGF) in breast cancer: comparison of plasma, serum, and tissue VEGF and microvessel density and effects of tamoxifen. *Cancer Res.* 2000 1; 60 (11): 2898-2905.
223. Coskun U, Gunel N, Sancak B, Onuk E, Bayram M, Cihan A. Effect of tamoxifen on serum IL-18, vascular endothelial growth factor and nitric oxide activities in breast carcinoma patients. *Clin Exp Immunol.* 2004 137(3):546-551.
224. McNamara DA, Harmeey J, Wang JH, Kay E, Walsh TN, Bouchier-Hayes DJ. Tamoxifen inhibits endothelial cell proliferation and attenuates VEGF-mediated angiogenesis and migration in vivo. *Eur J Surg Oncol.* 2001 27 (8): 714-718.

