

**Aus der Universitäts-Frauenklinik mit Poliklinik Tübingen  
Abteilung allgemeine Geburtshilfe und Frauenheilkunde  
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. D. Wallwiener**

**Die Expression der Cyclooxygenase-2 bei  
Mammakarzinompatientinnen unter primär  
systemischer Therapie mit Aromataseinhibitoren und  
Chemotherapie**

**Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard-Karls-Universität  
zu Tübingen**

**vorgelegt von  
Kathrin Veronika Leibbrand**

**aus**

**Überlingen**

**2008**

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Privatdozent Dr. N. Fersis

2. Berichterstatter: Professor Dr. K. Sotlar



**meiner Familie  
&  
Christian  
&  
meinen Freunden**

# Inhalt

Inhalt .....	I
1 Einleitung .....	1
1.1 Allgemeines .....	1
1.2 Neoadjuvante Therapie.....	1
1.3 Cyclooxygenase.....	3
1.3.1 Was sind Cyclooxygenasen?.....	3
1.3.2 Vorkommen, Funktion und Wirkung der Cox 2 .....	4
1.3.3 Verbindung zwischen der Cox-2 und dem Mammakarzinom.....	4
1.4 Einfluss der Aromataseinhibitoren auf den Cox-2-Zyklus .....	5
1.5 Fragestellung und Zielsetzung der Arbeit .....	6
2 Material und Methode.....	7
2.1 Patientinnenkollektiv und Tumorcharakteristika .....	7
2.1.1 Altersverteilung .....	7
2.1.2 Therapie.....	7
2.1.3 TumorgroÙe, T-Stadium, N-Stadium.....	8
2.1.4 Histologie .....	10
2.1.5 Grading .....	10
2.1.6 Rezeptorstatus.....	11
2.1.7 Pathologisches Antwortverhalten.....	14
2.2 Immunhistochemie.....	16
2.2.1 Gewinnung der Stanzbiopsie .....	17
2.2.2 Herstellung der Schnitte.....	17
2.2.3 Färbemethode und verwendete Antikörper.....	17
2.2.4 Färbeprotokoll.....	18
2.3 Mikroskopische Auswertung .....	20
2.4 Statistische Analyse.....	21
3 Ergebnisse .....	22
3.1 Ergebnisse der immunhistochemischen Cox-2-Expression.....	22
3.1.1 Immunhistochemische Cox-2-Expressionsstärke .....	22
3.1.2 Färbeverhalten des Cox-2-Antikörpers .....	23
3.2 Statistische Auswertung der Cox-2-Expression .....	26
3.2.1 Cox-2-Expression am Stanzpräparat.....	26
3.2.2 Cox-2-Expression am OP-Präparat .....	27

3.3	Cox-2-Expressionsänderung unter Therapie .....	28
3.4	Einfluss des Alters auf die Cox-2-Expression .....	30
3.4.1	Einfluss des Alters auf die Cox-2-Expression .....	30
3.4.2	Cox-2-Expression prä- und postmenopausal.....	32
3.5	Zusammenhang zwischen der Tumorgröße, dem T-Stadium und dem N-Stadium und der Cox-2-Expression .....	33
3.5.1	Beziehung der Cox-2-Expression und des T-Stadiums .....	33
3.5.2	Einfluss der Tumorgröße auf die Cox-2-Expression .....	34
3.5.3	Zusammenhang zwischen dem Lymphknotenstadium und der Cox-2-Expression .....	35
3.6	Beziehung zwischen der histologischen Gruppe und der Cox-2-Expression .....	36
3.6.1	Cox-2-Expression der Stanz- und OP-Präparate in den histologischen Gruppen .....	36
3.6.2	Beziehung zwischen der histologischen Gruppe und der Cox-2-Expression getrennt nach Chemo- und Hormontherapie.....	40
3.7	Das Grading in Bezug auf die Cox-2-Expression.....	43
3.8	Cyclooxygenase-2-Expression und Prognosefaktoren .....	44
3.8.1	Beziehung zwischen der Cyclooxygenase-2 und dem Progesteron- und Östrogenrezeptorstatus.....	44
3.8.2	Beziehung zwischen der Cyclooxygenase-2-Expression und dem Tumorsuppressorgen p53.....	51
3.8.3	Einfluss der Cox-2-Expression auf den Faktor bcl-2 .....	54
3.8.4	Zusammenhang zwischen der Cyclooxygenase-2-Expression und dem Faktor c-erbB-2 .....	57
3.8.5	Beziehung zwischen der Cox-2-Expression und dem Faktor Mib-1 .....	60
3.9	Zusammenhang zwischen der Cox-2-Expression und dem pathologischen Antwortverhalten .....	64
4	Diskussion .....	67
4.1	Färbeverhalten des Cox-2-Antikörpers .....	67
4.2	Die Cox-2-Expression am Stanzpräparat, sowie die Cox-2-Expressionsänderung unter primär systemischer Therapie .....	70
4.3	Cox-2-Expression und Alter .....	71

4.3.1	Altersverteilung .....	71
4.3.2	Prä- und Postmenopausenstatus.....	71
4.4	Cox-2-Expression und T-Stadium, Tumorgröße, N-Stadium .....	72
4.4.1	T-Stadium .....	72
4.4.2	Tumorgröße .....	72
4.4.3	N-Stadium.....	73
4.5	Die Cox-2-Expression und die histologische Gruppe.....	73
4.6	Die Cox-2-Expression und das Grading.....	74
4.7	Die Cox-2-Expression in Beziehung zu den Prognosefaktoren des Mammakarzinoms.....	74
4.7.1	Östrogenrezeptorstatus und Cox-2-Expression .....	74
4.7.2	Progesteronrezeptorstatus und Cox-2-Expression .....	75
4.7.3	Hormonrezeptorstatus und Cox-2-Expression .....	75
4.7.4	Tumorsuppressorgen p53 und Cox-2-Expression .....	76
4.7.5	Faktor bcl-2 und Cox-2-Expression .....	76
4.7.6	Faktor c-erbB-2 und Cox-2-Expression.....	77
4.7.7	Faktor Mib-1 und Cox-2-Expression .....	77
4.8	Cox-2-Expression und pathologisches Antwortverhalten.....	78
5	Zusammenfassung.....	80
6	Abbildungsverzeichnis.....	82
7	Tabellenverzeichnis.....	84
8	Abkürzungsverzeichnis .....	88
9	Literaturverzeichnis .....	89
10	Danksagung .....	97
11	Curriculum vitae .....	98

# 1 Einleitung

## 1.1 Allgemeines

Die häufigste Krebserkrankung der Frau in Deutschland ist das Mammakarzinom, an dem jährlich ca. 45000-50000 Frauen neu erkranken [1]. Jede vierte Krebserkrankung bei Frauen ist Brustkrebs [2]. Das mittlere Erkrankungsalter liegt bei 63 Jahren [3]. Die häufigste Krebstodesursache bei Frauen in Deutschland ist das Mammakarzinom, wobei der Anteil der tumorbedingten Mortalität 17,8% beträgt. [3].

## 1.2 Neoadjuvante Therapie

Die neoadjuvante Therapie, auch primär systemische Therapie genannt, ist eine Form der Chemo- und/oder Hormontherapie, die nach Sicherung der Diagnose und Klassifizierung des Tumors präoperativ durchgeführt wird. Momentan wird sie nur innerhalb von Studien bei T2-Mammakarzinomen und inflammatorischen Karzinomen angewandt. Das Ziel dieser Therapie ist das down-staging, d.h. die Tumorverkleinerung, wodurch sich die Möglichkeit ergeben kann, den Tumor brusterhaltend anstatt ablativ zu operieren. Ziel ist das Erreichen einer kompletten Remission des Karzinoms, auch pathologische Komplettremission genannt (pCR). Es zeigte sich, dass diese Patientinnen ein besseres Outcome haben. Fischer et al stellten mit der NSABP B-18 Studie eine Erhöhung der Zahl an BET von 60% auf 67% und eine pCR von 9,8% durch die neoadjuvante Chemotherapie fest [4]. In der NSABP B-27 Studie konnte die pathologische komplette Remission durch den sequentiellen Einsatz von Docetaxel sogar von 9,8% auf 18,9% gesteigert werden [5]. Scholl et al konnten zudem einen Überlebensvorteil für Patientinnen, die mit einer neoadjuvanten Therapie behandelt wurden, aufzeigen [6]. Durch die neoadjuvante Gabe von Aromataseinhibitoren konnte Miller et al eine Tumorverkleinerung von über 50% in knapp 80% der Fälle erreichen [7]. Mit einer neoadjuvanten Therapie kann zudem die Sensitivität des Tumors auf eine medikamentöse Therapie getestet und somit die weitere postoperative Therapie

optimiert werden [8]. Bisher fehlen aber für die endgültige Beurteilung der primär systemischen Therapie Langzeitergebnisse.

Die neoadjuvante Chemotherapie wird mit den äquivalenten Chemotherapeutika einer adjuvanten Therapie durchgeführt. Dazu liegen verschiedene Studienprotokolle, wie z.B. die Gepar-Quattro-Studie vor, wobei zur Zeit Anthrazykline und Taxane bevorzugt eingesetzt werden [9]. In dem vorliegenden Patientinnenkollektiv wurde Epirubicin mit Cyclophosphamid (EC), Epirubicin mit Taxol (ET) sowie Adriamycin mit Taxotere (AT) verabreicht.

Bei Hormonrezeptor positiven postmenopausalen Mammakarzinompatientinnen kann eine endokrine neoadjuvante Therapie mittels Aromataseinhibitoren durchgeführt werden, da rund 75% der Mammakarzinome Östrogene synthetisieren und eine starke Korrelation zwischen dem positiven Östrogenrezeptor und dem Nachweis der intratumoralen Aromatase gefunden wurde [10, 11]. Die Aromatase, ein Cytochrome P 450 Komplex, ist das Schlüsselenzym in der Synthese von Östrogen. Sie vermittelt die Konversion von Androstendion und Testosteron zu Östron und Östradiol [12]. Östrogene induzieren die Proliferation von Östrogenrezeptor positiven Mammatumoren und induzieren die Expression von Wachstumsfaktoren [13], welche zusätzlich das Tumorwachstum fördern. Aromataseaktivität und Aromatase mRNA liegt in normalem Brustgewebe, ebenso wie im Brustkrebsgewebe vor [14-21]. 60% der Brusttumore exprimieren Aromatase [22] und haben zudem eine Aromataseaktivität [23]. Die Östrogensynthese prämenopausaler Frauen erfolgt hauptsächlich in den Ovarien, die der postmenopausalen Frauen durch Umwandlung zirkulierender Androgene in Leber, Muskeln oder peripherem Fettgewebe.

Aromatasehemmer vermindern die körpereigene Östrogenproduktion, indem sie die Umwandlung (Aromatisierung) von Androstendion zu Östron unterdrücken. Dabei gibt es steroidale Aromataseinhibitoren, wie Exemestan und nicht-steroidale Aromataseinhibitoren, wie Anastrozol und Letrozol. Im Patientinnenkollektiv der vorliegenden Untersuchung wurden Letrozol und Exemestan verwendet.

## 1.3 Cyclooxygenase

### 1.3.1 Was sind Cyclooxygenasen?

Cyclooxygenasen (Cox) sind Enzyme, die bei der Prostaglandinsynthese (PG) eine wesentliche Rolle einnehmen. Abbildung 1 von Davies et al [24] zeigt den Syntheseweg von Prostaglandinen aus Phospholipiden, d.h. aus der Zellmembran, über die Arachidonsäure.

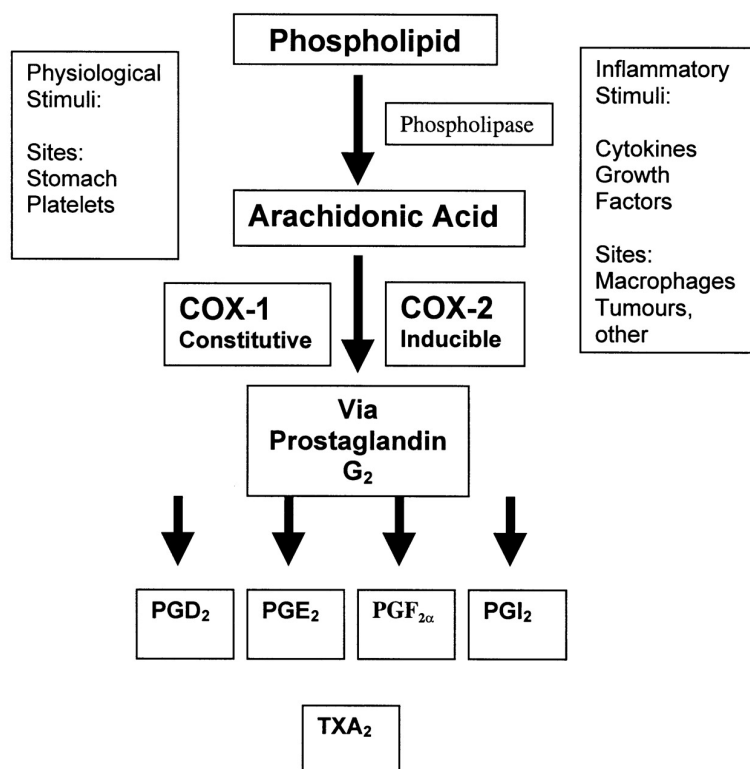


Abbildung 1: Prostaglandinsynthese via Arachidonsäure aus Davies et al [24]

Die Cyclooxygenasen haben eine Doppelfunktion als Cyclooxygenase und als Peroxidase. So wird im ersten Reaktionsschritt aus der Arachidonsäure durch die Cox-Funktion Prostaglandin G<sub>2</sub> freigesetzt, welches dann im zweiten Reaktionsschritt durch die Peroxidasefunktion zu Prostaglandin H<sub>2</sub> reduziert wird. Beide Intermediärprodukte sind chemisch labil. Prostaglandin H<sub>2</sub> ist die Muttersubstanz der Prostaglandine I<sub>2</sub>, E<sub>2</sub>, F<sub>2</sub>, D<sub>2</sub> sowie des Thromboxans A<sub>2</sub> und des Malondialdehyds [25]. Diese werden zellspezifisch durch verschiedene Enzyme aus Prostaglandin H<sub>2</sub> synthetisiert.

Es gibt zwei Isoformen der Cyclooxygenase: eine „konstitutive“ (Cox-1) [26-28] und eine „induzierbare“ (Cox-2) [29-33].

### **1.3.2 Vorkommen, Funktion und Wirkung der Cox 2**

1991 entdeckten zwei Forschergruppen [30, 31], unabhängig voneinander, die Cox-2. Sie ist ein Enzym, welches physiologischerweise nicht oder nur in geringen Mengen in den menschlichen Zellen vorhanden ist und vor allem bei Schmerz- und Entzündungsprozessen hervortritt. Analysen mit Cox-2-knock-out-Mäusen zeigten, dass Cox-2 wichtig für die postnatale Nierenentwicklung und verschiedene weibliche Reproduktionsprozesse wie Ovulation, Fruchtbarkeit, Implantation und Decidualisation ist [34-37]. Die Cyclooxygenase-2 kann durch verschiedene Faktoren wie Wachstumsfaktoren, Tumornekrosefaktor  $\alpha$ , TGF  $\beta$  und Cytokine [38] sowie einige Onkogene, wie Her-2/neu, v-src, v-Ha-ras und Wnt [39-43] induziert werden. Dies erklärt auch, dass Cox-2 an der Tumorentwicklung und -progression beteiligt ist [25]. Dieses Enzym kann im entzündeten Gewebe oder im ZNS bei „Stress“ innerhalb von wenigen Stunden bis auf das Hundertfache ansteigen.

### **1.3.3 Verbindung zwischen der Cox-2 und dem Mammakarzinom**

Erste Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen der Tumorgenese und der Cox-2 ergaben sich aus epidemiologischen Studien mit nicht-steroidalen, antiphlogistischen Medikamenten (NSAID) [44], wobei sich zeigte, dass die regelmäßige Einnahme von Aspirin mit einem 50% verringerten Risiko einhergeht, an einem Kolonkarzinom zu erkranken [45, 46]. Zahlreiche weitere Studien zeigen, dass Cox-2 mRNA und sein Protein auch in anderen Tumorgeweben, wie auch beim Mammakarzinom überexprimiert vorliegt und an deren Pathogenese beteiligt ist [47-51].

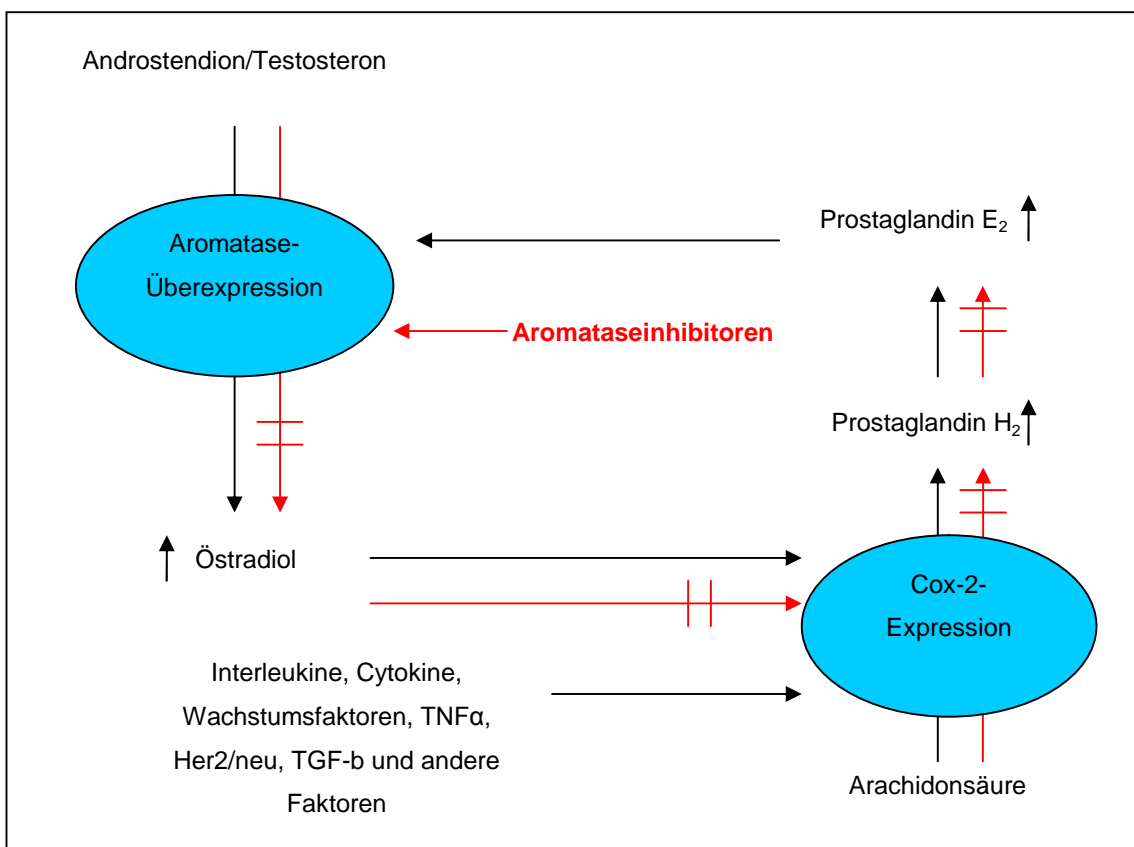
In verschiedenen Studien wurde die Cox-2-Expression im Mammakarzinom mittels Immunhistochemie untersucht [22, 51-60], wobei sich in den meisten dieser Arbeiten eine Cox-2-Überexpression in ca. 40% der Mammatumoren ergab. Einige dieser Studien setzten die Cox-2-Expression mit Prognosefaktoren des Mammakarzinoms, wie Lymphknotenstatus, Tumor-



größe, Grading, Hormonrezeptorstatus, c-erbB-2 Score, Tumorproliferation (MIB-1), p53, TGF- $\alpha$  und dem Alter in Beziehung [52, 53, 55, 57, 60, 61]. In der Literatur wird über eine signifikante Beziehung zwischen der Cox-2-Expression und den Prognosefaktoren berichtet.

### 1.4 Einfluss der Aromataseinhibitoren auf den Cox-2-Zyklus

In den Gonaden wird die Aromatase durch Gonadotropin reguliert [62], außerhalb der Gonaden wird die Aromatase vor allem durch Prostaglandin E<sub>2</sub>, Glucokortikoide, cAMP und andere Faktoren geregelt [62].



**Abbildung 2: Modell der pathophysiologischen Regulation der Aromatase und Cyclooxygenase-2 in Brustkrebszellen unter Berücksichtigung der Einflussmöglichkeit der Aromataseinhibitoren (rote Pfeile)**

Im Mammakarzinomgewebe spielt Prostaglandin E<sub>2</sub>, das Produkt der Cyclooxygenase 2, bei der erhöhten Aromataseexpression eine wichtige Mediatorrolle [22]. Es wurde in einigen Studien nachgewiesen, dass die

Cyclooxygenase-2 und die Aromatase hier positiv zusammenhängen [22, 48], sowie eine Beziehung zwischen der CYP 19 Genexpression und der Cyclooxygenase Genexpression besteht [48].

Der Einfluss der Aromataseinhibitoren auf den Cox-2- und Aromatase-Zyklus ist in Abbildung 2 dargestellt. Aromataseinhibitoren hemmen die Aromatase, welche somit kein Androstendion mehr in Östradiol aromatisieren kann. Dadurch ist die positive Rückkopplung des Östrogens auf die Cox-2 gehemmt. Es wird weniger Cyclooxygenase 2 exprimiert, und dadurch weniger Prostaglandin H<sub>2</sub> und folglich weniger Prostaglandin E<sub>2</sub> produziert. Die Cox-2 Expression erfolgt dann nur noch über Faktoren wie Interleukine, Cytokine, Wachstumsfaktoren und TNF $\alpha$ . Schließlich zeigt sich dies in einer stark erniedrigten Aromataseexpression und könnte so zu einem erniedrigten bis beendeten Tumorwachstum führen.

### **1.5 Fragestellung und Zielsetzung der Arbeit**

In der vorliegenden Arbeit wurde immunhistochemisch die Expression der Cyclooxygenase-2 bei Mammakarzinompatientinnen untersucht, die neo-adjuvant chemotherapeutisch oder endokrin behandelt wurden. Es wurden jeweils präoperativ gewonnene Stanzpräparate und die korrespondierenden posttherapeutischen Operationspräparate analysiert und unter den folgenden Fragestellungen ausgewertet:

- 1.) Wie hoch ist die Cox-2-Expression im Stanzpräparat, wie hoch im Operationspräparat?
- 2.) Gibt es eine Änderung der Cox-2-Expression unter der Therapie? Wird die Cox-2-Expression durch die verschiedenen Therapieformen, Chemo- oder Hormontherapie, beeinflusst?
- 3.) In wie weit hat die Cox-2-Expression Einfluss auf das pathologische Antwortverhalten und auf den Hormonrezeptorstatus?
- 4.) Gibt es einen Einfluss des Alters, der Tumorgroße, des Lymphknotenstatus, des Gradings, der Histologie und der Prognosefaktoren auf die Cox-2-Expression?

## 2 Material und Methode

### 2.1 Patientinnenkollektiv und Tumorcharakteristika

Die vorliegende Studie umfasst 93 Patientinnen mit einem invasiven Mammakarzinom, welche zwischen 1998 und 2002 an der Universitätsfrauenklinik Tübingen behandelt wurden.

Aus Datenschutzgründen werden keine Patientinnennamen genannt. Jeder Patientin wurde bei der Auswertung eine Nummer zugeteilt.

#### 2.1.1 Altersverteilung

Das Durchschnittsalter des Kollektivs lag bei 56,4 Jahren, 33% der Patientinnen waren prämenopausal und 67% postmenopausal. Die jüngste Patientin war 27 Jahre, die Älteste 84 Jahre alt.

#### 2.1.2 Therapie

Die Patientinnen wurden alle neoadjuvant therapiert. 62 Patientinnen wurden mit einer Chemotherapie alle drei Wochen über sechs Monate behandelt. 31 Patientinnen wurden mit einer Hormontherapie über mindestens 6 Monate behandelt.

Therapie	Anzahl (n)	Relative Häufigkeit (%)
Doxorubicin (50 mg/m <sup>2</sup> ) + Paclitaxel (175mg/m <sup>2</sup> ) (AT)	23	25
Epirubicin (60mg/m <sup>2</sup> )+ Paclitaxel (175mg/m <sup>2</sup> ) (ET)	20	22
Epirubicin (60mg/m <sup>2</sup> ) + Cyclophosphamid (EC)	16	17
Chemotherapie unbekannt	3	3
Letrozol (1 mg/d)	17	18
Exemestan (2,5 mg/d)	13	14
Hormontherapie unbekannt	1	1

**Tabelle 1: Therapieschema der systemischen Therapie im Mammakarzinomkollektiv**

Nach der systemischen Therapie wurde der Tumor bei 90 Patientinnen (97%) operativ entfernt. Die drei nicht operativ therapierten Patientinnen gehören der Hormontherapiegruppe an und lehnten die Operation ab.

### 2.1.3 Tumorgröße, T-Stadium, N-Stadium

Alle Patientinnen hatten ein stanzbioptisch gesichertes invasives Mammakarzinom, mindestens mit Stadium T2, da in den in der Universitätsklinik Tübingen verwendeten Protokollen einer neoadjuvanten Therapie eine Tumorgröße von mindestens 2 cm oder ein inflammatorisches Mammakarzinom Voraussetzung sind.

Tumorstadium	Stanze	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
<b>T2</b>	54	58
<b>T3</b>	10	10
<b>T4</b>	29	31

**Tabelle 2: Tumorstadien im Mammakarzinomkollektiv vor neoadjuvanter Therapie**

Der Median der Tumorgröße präoperativ lag bei 3,1 cm (Spannweite: 0,8 – 11 cm). Die Mammasonografie wurde mittels einem 15 MHz Schallkopf durchgeführt und es wurden beide Mammae sowie die lokalen Lymphabflußwege untersucht.

Lymphknotenstatus	Stanze	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
<b>N0</b>	30	32
<b>N1</b>	57	61
<b>N2</b>	5	5
<b>Nx</b>	1	1

**Tabelle 3: Lymphknotenstatus im Mammakarzinomkollektiv vor neoadjuvanter Therapie**

Der axilläre Lymphknotenstatus wurde vor der Therapie klinisch mittels hochauflösender Sonografie (15 MHz-Schallkopf) durchgeführt (Tabelle 3).

Während der neoadjuvanten Therapie wurde alle drei Wochen eine hochauflösende Mammasonografie durchgeführt und das Ansprechen des Tumors und gegebenenfalls suspekter Lymphknoten dokumentiert. Unmittelbar präoperativ wurde nochmals eine Mammografie durchgeführt.

Des Weiteren wurde bei allen Patientinnen des Kollektivs ein Staging, welches ein Röntgen-Thorax, eine Oberbauchsonografie und eine Ganzkörperskelettszintigrafie beinhaltet, vorgenommen.

Die Operationspräparate wurden nach der pTNM-Klassifikation bestimmt [63]. Bei diesen Befunden, nach einer neoadjuvanten Therapie, wird das Präfix y vorangestellt.

Tumorstadium	OP-Präparat	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
ypT0	6	6
ypTis	5	5
ypT1	27	29
ypT2	35	38
ypT3	9	10
ypT4	11	12

**Tabelle 4: Tumorstadium nach neoadjuvanter Therapie im Mammakarzinomkollektiv**

Die Tumorgöße wurde postoperativ am pathologischen Präparat festgemacht, wobei der Median hierbei bei 2,2 cm (Spannweite: 0 – 9 cm) lag.

Der Lymphknotenstatus postoperativ wurde anhand von mindestens zehn pathologisch untersuchten Lymphknoten durch die pN-Klassifikation bestimmt. Beim untersuchten Patientinnenkollektiv waren bei 39 Patientinnen keine regionären Lymphknotenmetastasen nachweisbar (pN0), bei 51 Patientinnen fanden sich bewegliche ipsilaterale axilläre Lymphknotenmetastasen in bis zu 3 Lymphknoten (pN1) und bei 3 Patientinnen wurde ein pN2 festgestellt.

### 2.1.4 Histologie

Der histologische Subtyp der Mammakarzinome wurde anhand der WHO-Klassifikation durch Fachärzte für Pathologie des Institutes für Pathologie der Universität Tübingen sowohl am Stanz- als auch am OP-Präparat bestimmt [64].

Histologie	Stanze		OP-Präparat	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
<b>DCIS</b>			5	5
<b>Invasiv duktal</b>	55	59	49	53
<b>Invasive lobulär</b>	26	28	20	22
<b>Invasiv dukto-lobulär</b>	9	10	9	10
<b>Medullär</b>	1	1	1	1
<b>Papillär</b>	1	1	1	1
<b>Keine Malignität</b>	1	1	6	6
<b>Unbekannt</b>			2	2

Tabelle 5: Histologische Subtypen der untersuchten Mammakarzinome

### 2.1.5 Grading

Das Grading wurde durch Fachärzte für Pathologie des Institutes für Pathologie des Universitätsklinikums Tübingen am Stanzpräparat, sowie am OP-Präparat bestimmt. Es erfolgte nach der von Elston und Elis modifizierten Einteilung von Bloom und Richardson und ist ein Maß für die Differenzierung der Karzinomzellen [65].

Grading	Stanze		OP-Präparat	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
<b>G1</b>	1	1	10	11
<b>G2</b>	69	74	2	2
<b>G3</b>	19	20	53	57
<b>Unbekannt</b>	3	3	24	26
<b>Keine Malignität</b>	1	1	1	1
<b>Keine OP</b>			3	3

Tabelle 6: Verteilung des Grading am Patientinnenkollektiv

### 2.1.6 Rezeptorstatus

Der Hormonrezeptorstatus, der Wachstumsfaktorrezeptor c-erbB-2 (Her2/neu), der Tumorsuppressor p53, der Apoptoseinhibitor bcl-2 und das proliferationsassoziierte Antigen Ki-67 (Klon Mib-1) wurden immunhistochemisch bestimmt. Dabei wurden folgende Cut-off-Werte zu Grunde gelegt [66, 67].

	ER	PgR	p53	bcl-2	Mib-1	c-erbB-2
positiv	≥ 3	≥ 3	>10%	>10%	>20%	3+
negativ	< 3	< 3	≤10%	≤10%	≤20%	< 3+

Tabelle 7: Cut-Off-Werte für die immunhistochemische Auswertung

#### 2.1.6.1 Hormonrezeptorstatus

Bei der Bestimmung des Hormonrezeptorstatus wurde der Östrogenrezeptor (ER) und der Progesteronrezeptor (PgR) immunhistochemisch mit monoklonalen Antikörpern nachgewiesen. Dabei wurde der ER-Antikörper gegen den Klon SP1-Rabbit (E1678C01, DCS Innovative Diagnostik-Systeme, Hamburg) und der PgR-Antikörper gegen den Klon SP2-Rabbit (P1680C01, DCS Innovative Diagnostik-Systeme, Hamburg) verwendet. Die Auswertung

erfolgte nach dem Immunreaktiven Score (IRS) von Remmele und Stegner [68]. Von Rezeptorpositivität wurde bei der immunhistochemischen Untersuchung ab einem Score von  $\geq 3$  gesprochen. War einer der beiden Rezeptoren positiv, wurde der Tumor als Hormonrezeptor (HR) positiv klassifiziert.

Östrogen- und Progesteronrezeptorstatus	Stanze		OP-Präparat	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
ER positiv	68	73	61	66
ER negativ	24	26	22	24
ER unbekannt	1	1	10	11
PgR positiv	41	45	28	30
PgR negativ	50	54	54	58
PgR unbekannt	1	1	11	12

Tabelle 8: Östrogen- und Progesteronrezeptorstatus der untersuchten Mammakarzinome

Hormonrezeptorstatus	Stanze		OP-Präparat	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
HR positiv	68	73	61	66
HR negativ	24	26	22	24
HR unbekannt	1	1	10	11

Tabelle 9: Hormonrezeptorstatus der untersuchten Mammakarzinome

### 2.1.6.2 p53 Status

Die Überexpression des Proteins p53 wurde immunhistologisch mit dem p53-Antikörper (nclparvo, Novocastra, Newcastle, UK) gegen den Klon R92F6 nachgewiesen. Ein Tumor wurde bei mehr als 10% p53-exprimierender Tumorzellen als p53 positiv gewertet [66, 67].



p53 Status	Stanze		OP-Präparat	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
<b>p53 positiv</b>	35	38	18	19
<b>p53 negativ</b>	57	61	54	58
<b>Unbekannt</b>	1	1	21	23

Tabelle 10: p53 Status der untersuchten Mammakarzinome

### 2.1.6.3 bcl-2 Status

Der Nachweis des bcl-2 Status erfolgte immunhistochemisch mit dem bcl-2-Antikörper (M0887, DAKO Deutschland GmbH, Hamburg) gegen den M124-Klon, wobei der Tumor bei mehr als 10% bcl-2 positiver Tumorzellen als bcl-2 positiv gewertet wurde [66, 67].

bcl-2 Status	Stanze		OP-Präparat	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
<b>bcl-2 positiv</b>	66	71	50	54
<b>bcl-2 negativ</b>	26	28	19	20
<b>Unbekannt</b>	1	1	24	26

Tabelle 11: bcl-2 Status der untersuchten Mammakarzinome

### 2.1.6.4 Her2/neu Status

Das Her2/neu-Onkoprotein wurde immunhistochemisch mit dem HercepTest® (A0485, DAKO Deutschland GmbH, Hamburg) gegen den Poly-Rabbit-Klon nachgewiesen und nach dem speziellen Score-System (HercepTest-Score, DAKO Deutschland GmbH, Hamburg) ausgewertet. Der prädiktive Wert dieses Testes hinsichtlich des Ansprechens der Mammakarzinome auf eine Herceptin®-Therapie gilt als gesichert [69].

Her2/neu Status	Stanze		OP-Präparat	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
Her2/neu positiv	22	24	14	15
Her2/neu negativ	68	73	57	61
Unbekannt	3	3	22	24

Tabelle 12: Her2/neu Status der untersuchten Mammakarzinome

### 2.1.6.5 Mib-1 Status

Zur immunhistochemischen Bestimmung wurde der Mib-1-Antikörper (M7240, DAKO Deutschland GmbH, Hamburg) gegen den MIB1-Klon verwendet. Bei der Auswertung der immunhistochemischen Färbung wurden die Mib1 positiven Zellen/100 Tumorzellen bestimmt. Das Gewebe wurde ab >20% als Mib-1 positiv gewertet [66, 67].

Mib-1 Status	Stanze		OP-Präparat	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
Mib-1 positiv	56	60	16	17
Mib-1 negativ	35	38	56	60
Unbekannt	2	2	21	23

Tabelle 13: Mib-1 Status der untersuchten Mammakarzinome

### 2.1.7 Pathologisches Antwortverhalten

Das pathologische Antwortverhalten objektiviert den Therapieerfolg anhand des Tumorwachstums. Die Einteilung basiert auf UICC-Kriterien.

<b>Ansprechen</b>	<b>Abkürzung</b>	<b>Definition</b>
<b>Progressive disease</b>	PD	Größenzunahme des Tumors um $\geq 10\%$
<b>No change</b>	NC	Änderung der Tumorgroße um $\leq 10\%$
<b>Minor response</b>	MR	Verringerung der Tumorgroße um $> 10\%$ , aber nicht um mehr als 50%
<b>Partial response</b>	PR	Verringerung der Tumorgroße um $> 50\%$ , auch Carcinoma in situ
<b>Complete remission</b>	pCR	kein Nachweis eines invasiven Tumors oder eines In-Situ-Karzinoms im OP-Präparat

Tabelle 14: Objektive Kriterien zur Beurteilung des Tumorwachstums (UICC-Kriterien)

<b>Pathologisches Antwortverhalten</b>	<b>OP-Präparat (gesamt)</b>	
	<b>Anzahl (n)</b>	<b>Rel.Häufigkeit %</b>
<b>PD</b>	14	15
<b>NC</b>	12	13
<b>MR</b>	26	28
<b>PR</b>	28	30
<b>pCR</b>	5	5
<b>unbekannt</b>	8	9

Tabelle 15: Pathologisches Antwortverhalten der untersuchten Mammakarzinome

In Tabelle 16 und 17 wurde das pathologische Antwortverhalten der Tumoren nach der Chemotherapie- und der Hormontherapiegruppe aufgeschlüsselt.

Pathologisches Antwortverhalten	OP-Präparat (Chemo)	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
PD	6	10
NC	7	11
MR	14	23
PR	24	39
pCR	5	8
unbekannt	6	10

Tabelle 16: Pathologisches Antwortverhalten in der Chemotherapiegruppe der untersuchten Mammakarzinome

Pathologisches Antwortverhalten	OP-Präparat (Hormon)	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
PD	8	26
NC	5	16
MR	12	39
PR	4	13
pCR	0	0
unbekannt	2	6

Tabelle 17: Pathologisches Antwortverhalten in der Hormontherapiegruppe der untersuchten Mammakarzinome

## 2.2 Immunhistochemie

Die Immunhistochemie basiert auf einer Färbemethode, die Zell- und Gewebsbestandteile durch spezifische Antigen-Antikörperbindungen nachweist bzw. auf Schnittpräparaten sichtbar macht. Die Bewertung der Expression eines Proteins durch ein Karzinom erfolgt durch die Beurteilung der Intensität der Färbung und durch die Zahl der gefärbten Tumorzellen.

### **2.2.1 Gewinnung der Stanzbiopsie**

Zur histopathologischen Diagnose wurde eine Stanzbiopsie mit dem Stanzapparat der Firma BARD aus dem betreffenden Mammaparenchymanteil entnommen. Der Gewebestanzzylinder wurde bei lokaler Betäubung durch eine 1,4 mm dünne Nadel unter sonografischer Kontrolle entnommen. Pro Stanzbiopsie wurden mindestens 5 Gewebezyylinder entnommen.

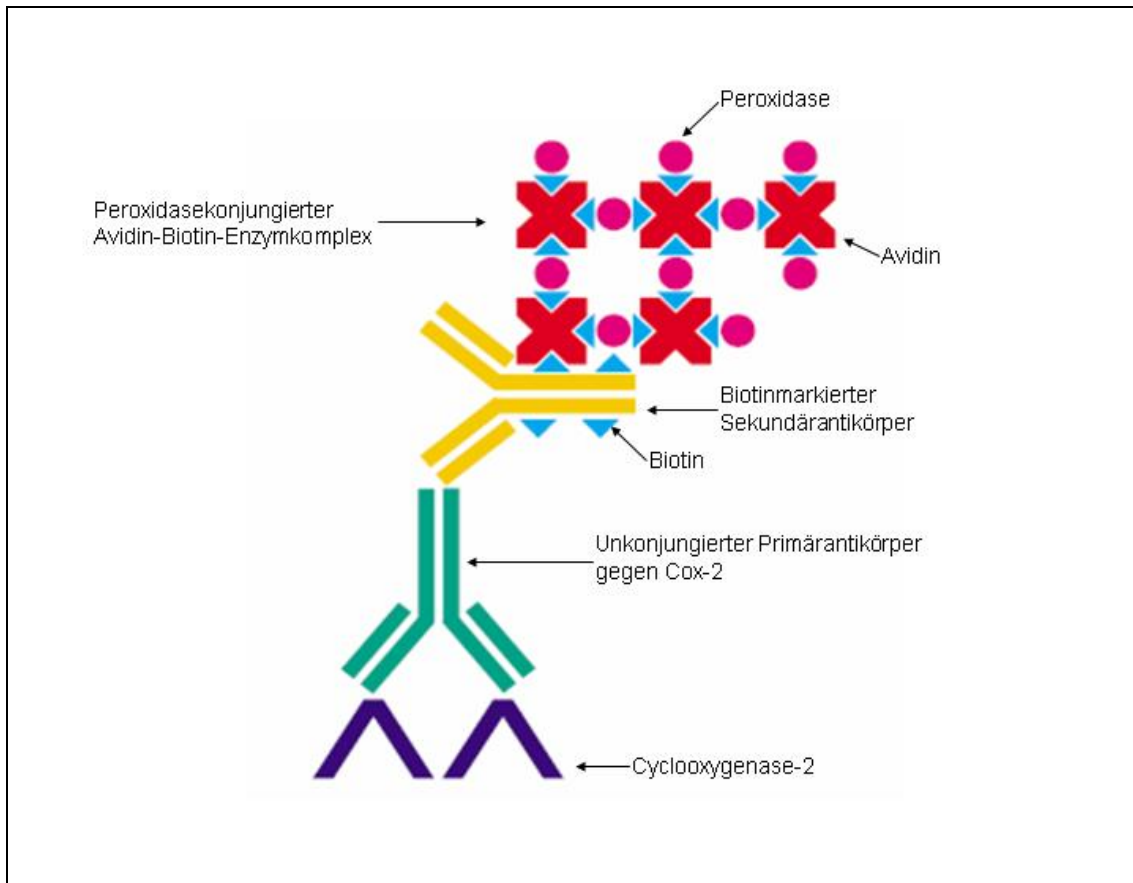
### **2.2.2 Herstellung der Schnitte**

Die zu untersuchenden Präparate wurden unmittelbar nach der Entnahme in 5%iger neutral gepufferter Formalinlösung (NBF) bis zu 24 Stunden fixiert. Die Zeit zwischen der Präparatentnahme und der Fixierung durfte dabei 30 Minuten nicht überschreiten.

Zur Weiterverarbeitung der fixierten Gewebe wurden Paraffinschnitte hergestellt. Das Gewebe wurde auf eine Größe von maximal 25x20x4 mm zugeschnitten und in einer aufsteigenden Alkoholreihe nach folgendem Schema entwässert: 70% Ethanol, 80% Ethanol, 95% Ethanol, 95% Ethanol, 100% Ethanol. Danach wurde der Alkohol mittels Xylol aus dem Gewebe entfernt. Das Gewebe wurde in das verflüssigte Paraffin bei 58°C infiltriert und eingebettet. Aus diesen Paraffinblöcken wurden ca. 4 µm dicke Scheiben geschnitten. Diese wurden auf Objektträger (HistoBond®; Paul Marienfeld GmbH & Co. KG, Lauda-Königshofen) aufgezogen, wobei zur besseren Haftung 10% Poly-L-Lysin Lösung (Poly-L-Lysin, Sigma-Aldrich, Deisenhofen), die 1:10 verdünnt war, verwendet wurde. Die Schnitte auf den Objektträgern trockneten 12-24 Stunden bei Raumtemperatur.

### **2.2.3 Färbemethode und verwendete Antikörper**

Die Schnitte wurden nach der Avidin-Biotin-Methode, der sogenannten ABC-Methode (Abbildung 3), die 1981 erstmals von Hsu und Mitarbeitern angewendet wurde, angefärbt [70].



**Abbildung 3: ABC-Methode nach DAKO, Immunhistochemische Färbemethode 2003**

Der verwendete Antikörper ist ein polyclonaler Kaninchenantikörper (ALX-210-712-1, Alexis Biochemicals, Grünberg) gegen die Cyclooxygenase-2. Er korrespondiert zu aa 567-599 des menschlichen Cox-2-Proteins. Der Antikörper wurde 1:300 verdünnt. Bei der Negativkontrolle wurde der Primärantikörper weggelassen. Bei der Positivkontrolle wurde als Gewebe Kolonkarzinom verwendet [52], bei welchem das Cox-2-Protein sicher exprimiert wird.

Der verwendete Sekundärantikörper Anti-Broad Spectrum ist Bestandteil des ZytoChemPlus (HRP) Broad Spectrum Bulk Kit (HRP 500, Zytomed, Berlin). Dieser Sekundärantikörper ist ein Ziegenantikörper, der spezifisch an Maus-, Ratten-, Kaninchen- und Guinea-Schwein-Antikörper bindet.

### 2.2.4 Färbeprotokoll

Zunächst Entparaffinierung der Schnitte durch 20-minütige Einlagerung in Xylol. Danach Behandlung in absteigender Alkoholreihe nach folgendem Schema:

100% Ethanol für 2×3 Minuten, 96% Ethanol für 3 Minuten, 75% Ethanol für 3 Minuten, abschließend destilliertes Wasser für 3 Minuten. Die Schnitte befanden sich dabei in Glashalterungen, die in Glasküvetten standen, welche mit der jeweiligen Reaktionskomponente gefüllt waren. Diese und alle folgenden Schritte wurden, soweit nicht anders erwähnt, bei Raumtemperatur vollzogen. Nach der Entparaffinierung Kochen der Schnittpräparate für 4 Minuten im Dampfkochtopf (Rommelsbacher Automatik) im Citratpuffer 0,01 M (82ml NaCitrat + 18ml Zitronensäure + 900ml Aquadest, eingestellt auf pH 6,0) zur Demaskierung der Antigene. Anschließend kurze Abkühlung im Wasserbad. Weiterbehandlung der Schnitte für 2×5 Minuten im Tris-Puffer (100ml Tris-Konzentrat + 900ml Aquadest, eingestellt auf pH 7,6). Danach Färbung im Färbeautomat Tecan Genesis RSP 100 (Tecan, Crailsheim). Dazu Einfügung der Schnitte in Coverplates-Reaktionsräume, welche in passende Kassetten gesetzt wurden. Die im Folgenden beschriebenen Schritte fanden im erwähnten Färbeautomat statt. Zunächst Spülung der Schnitte für 5 Minuten mit Tris-Puffer. Überschichtung der Schnitte 10 Minuten mit Normalserum Super Block (ZytoChemPlus (HRP) Broad Spectrum Bulk Kit, HRP 500, Zytomed, Berlin) zur Blockierung unspezifischer Bindungsstellen. Das Normalserum stammte aus derselben Spezies wie auch der Sekundärantikörper, in diesem Fall der Ziege. Danach einstündige Inkubation mit dem Primärantikörper Cyclooxygenase-2. Im Folgenden Spülung der Schnitte für 5 Minuten mit Tris-Puffer. Für 15 Minuten Behandlung mit dem biotinylierten Sekundärantikörper Anti-Broad Spectrum (ZytoChemPlus (HRP) Broad Spectrum Bulk Kit, HRP 500, Zytomed, Berlin). Weiteres Spülen mit Tris-Puffer für 5 Minuten. Daraufhin Überschichtung der Schnitte für 15 Minuten mit dem Peroxidase konjugierten Avidin-Biotin-Enzymkomplex (Peroxidase (HRP), ZytoChemPlus (HRP) Broad Spectrum Bulk Kit, HRP 500, Zytomed, Berlin). Weitere 5 Minuten Spülung mit Tris-Puffer. Inkubation der Schnitte für 7 Minuten mit 3,3'-Diaminobenzidintetrahydrochlorid-Gebrauchslösung (DAB) (DAB Substrate Kit, DAB 530, Zytomed, Berlin). Danach Spülung für 5 Minuten mit Tris-Puffer. Hiermit Abschluss der Färbung im Färbeautomaten. Die Gegenfärbung mit Hämatoxylin nach Harrys wurde von Hand vollzogen. Zunächst Lagerung der Schnitte für 10 Minuten in Hämatoxylin (Harrys Hämatoxylin, 9253, Merck KGaA, Darmstadt). Im Folgenden Einstellung der Schnitte für 5 Minuten in warmem Leitungswasser.

Danach Spülung mit destilliertem Wasser. Zur Entwässerung Behandlung der Gewebeschnitte für je 2-3 Minuten in einer aufsteigenden Alkoholreihe nach folgendem Schema: 70% Ethanol, 70% Ethanol, 95% Ethanol, 100% Ethanol. Abschließend Einstellung in Xylol.

Eindeckung der Schnitte mit einem Deckglas unter Verwendung eines Eindeckmediums (Pertex, Medite).

### 2.3 Mikroskopische Auswertung

Die Schnitte wurden unter dem Lichtmikroskop (Axioskop 40, Firma Zeiss, Göttingen) (Objektive: x1,25; x2,5; x10; x20; x40) ausgewertet. Die Beurteilung erfolgte doppelt blind, einmal durch mich selbst und einmal durch Herrn Dr. med. Vogel, überwiegend bei 40-facher Objektiv-Vergrößerung. Die positiven Zellen, d.h. die Zellen, die Cox-2 exprimierten, stellten sich in einer braunen Färbung dar. Die Expression von Cox-2 wurde nach der Lage der Färbung, d.h. nukleär oder cytoplasmatisch, nach der Intensität, d.h. keine, schwach, mäßig, stark, sowie nach der Prozentzahl der angefärbten Zellen, beurteilt. Für die Färbeintensität war der vorherrschende Intensitätsgrad ausschlaggebend. Es wurde ein Score ermittelt, der auf dem Immunreaktiven Score (IRS) nach Remmele und Stegner [68] basiert.

Prozentsatz positiver Kerne x Färbeintensität = IRS (0 - 12 Punkte)			
Keine positiven Kerne	0 Punkte	keine Färbung	0 Punkte
< 10% positive Kerne	1 Punkt	schwache Färbeintensität	1 Punkt
10 - 50%	2 Punkte	mäßige Färbeintensität	2 Punkte
51 - 80%	3 Punkte	starke Färbeintensität	3 Punkte
> 80%	4 Punkte		

**Tabelle 18: Immunreaktiver Score nach Remmele und Stegner [68]**

Die Punkte wurden für den Prozentsatz positiv gefärbter Tumorzellen und für die Färbeintensität der gefärbten Tumorzellen vergeben. Die Punktezahl der Prozentzahl positiv gefärbter Zellen wurde mit der Punktezahl der



Färbeintensität multipliziert. Der ermittelte Wert entsprach dem Immunreaktiven Score.

Der ermittelte IRS wurde dann auf die Expression der Cyclooxygenase-2 übertragen. So entsprachen 0 Punkte keiner, 1-4 Punkte einer geringen, 5-8 Punkte einer mäßigen und 9-12 Punkte einer starken Cox-2-Expression [57].

Zusätzlich zum IRS wurde das Färbeverhalten des Cox-2-Antikörpers analysiert. Es wurde die Lage der Färbung, also nukleär oder cytoplasmatisch, die angefärbte Zellart, also z.B. Tumorgewebe, gesundes Mammagewebe und Makrophagen festgehalten.

### **2.4 Statistische Analyse**

Die statistische Analyse wurde im Institut für Medizinische Biometrie der Universität Tübingen durch Frau Dr. rer. nat. Tina Herberts durchgeführt. Es wurde mit dem Programm JMP-In 5.1 (SAS Institute Inc., Cary NC, USA All) gearbeitet.

Die Auswertung erfolgte rein deskriptiv über Tabellen und Grafiken, wobei die Cox-2-Expression, die Cyclooxygenase-2-Expressionsänderung unter Therapie und der Zusammenhang zwischen der Cox-2-Expression und verschiedenen Faktoren beschrieben wurden.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Ergebnisse der immunhistochemischen Cox-2-Expression

##### 3.1.1 Immunhistochemische Cox-2-Expressionsstärke

Die Expression der Cyclooxygenase-2 wird nach der Auswertung des Immunreaktiven Scores nach Remmele und Stegner [68] in vier Stärken eingeteilt: keine Expression (Abbildung 4), geringe Expression (Abbildung 5), mäßige Expression (Abbildung 6) und starke Expression (Abbildung 7).

Die Cyclooxygenase-2-Färbung stellt sich in der immunhistochemischen Färbung braun dar. Die nicht Cox-2 exprimierenden Zellen nehmen durch die Gegenfärbung mit Hämatoxylin eine blaue Färbung an.

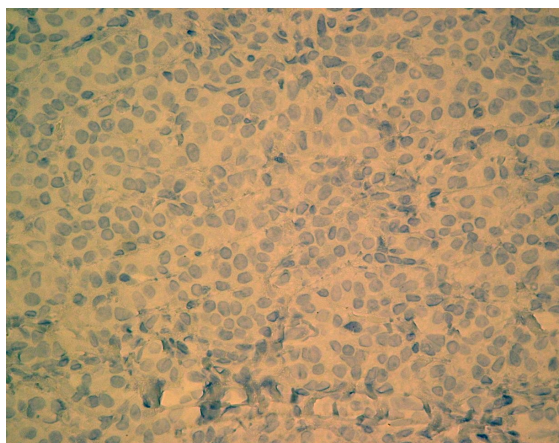


Abbildung 4: Keine Cox-2-Expression

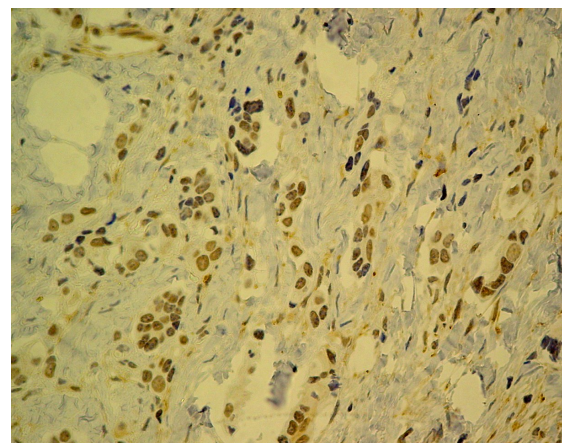


Abbildung 5: Geringe Cox-2-Expression

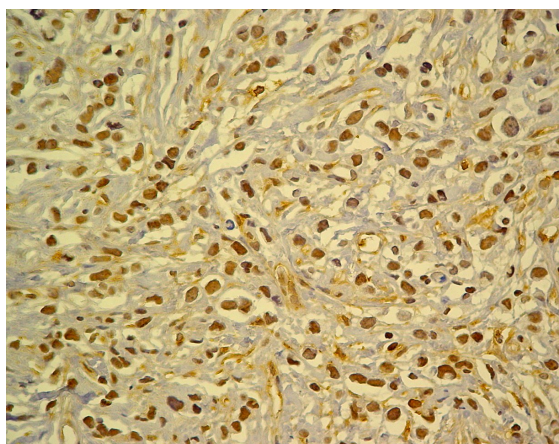


Abbildung 6: Mäßige Cox-2-Expression

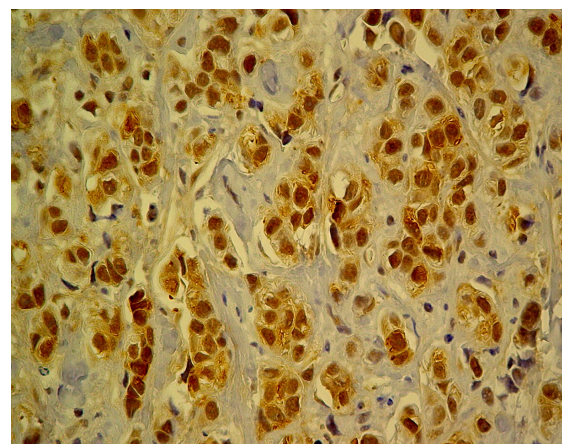
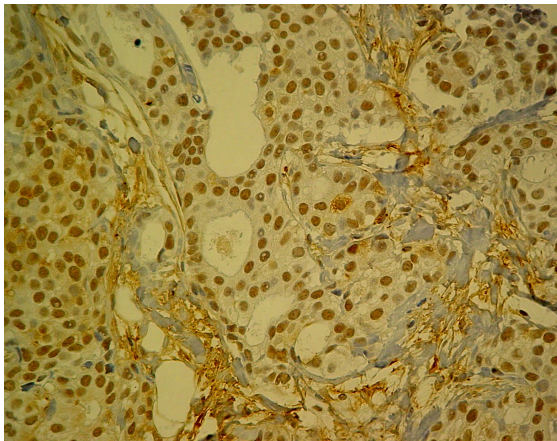


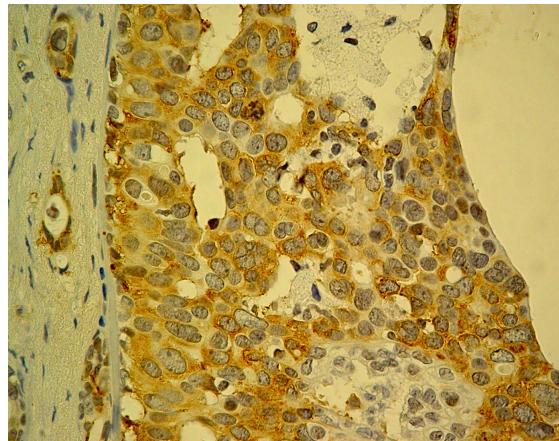
Abbildung 7: Starke Cox-2-Expression

### 3.1.2 Färbeverhalten des Cox-2-Antikörpers

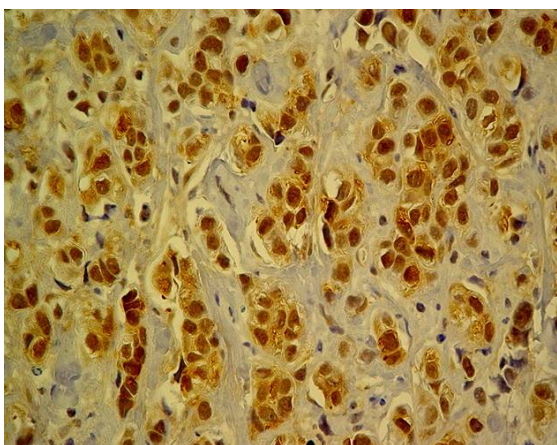
Die Cox-2-Färbung an Tumorzellen stellte sich nukleär und cytoplasmatisch dar, wobei Zellen nur nukleär (Abbildung 8) oder nur cytoplasmatisch (Abbildung 9) oder gleichzeitig nukleär und cytoplasmatisch (Abbildung 10) angefärbt sein konnten.



**Abbildung 8: Nukleäre Färbung**



**Abbildung 9: Cytoplasmatische Färbung**

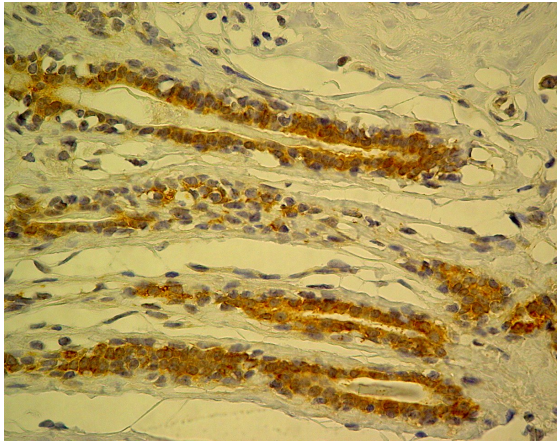


**Abbildung 10: Nukleäre und cytoplasmatische Färbung**

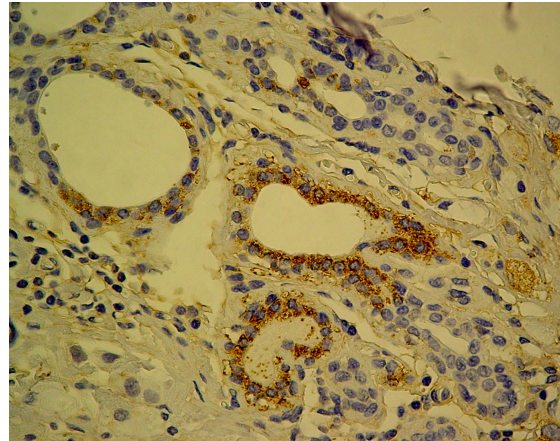
In Abbildung 11 und 12 sind die Cyclooxygenase-2 Färbungen gesunder Brustdrüsenzellen dargestellt.

Ferner ließ sich eine Expression von Cox-2 in Adipozyten (Abbildung 13), in neutrophilen Granulozyten (Abbildung 14), an Makrophagen (Abbildung 15), im regelhaften Epithel (Abbildung 16), im Stroma (Abbildung 17) sowie an Nervenzellen (Abbildung 18) nachweisen.

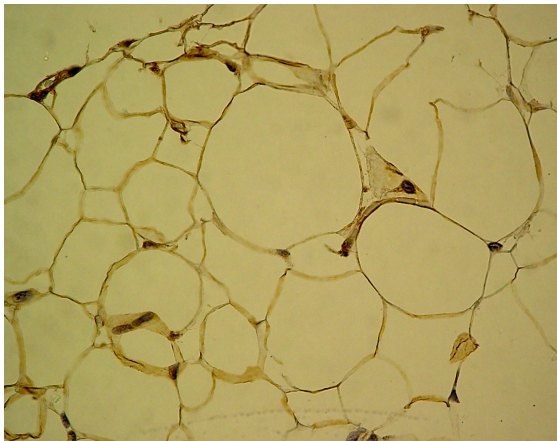




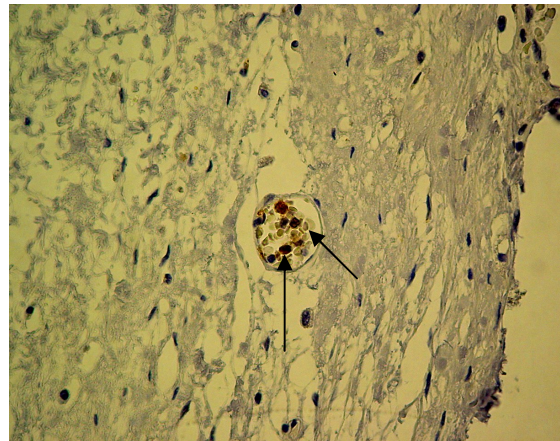
**Abbildung 11: Gesunde  
Brustdrüsenzellen**



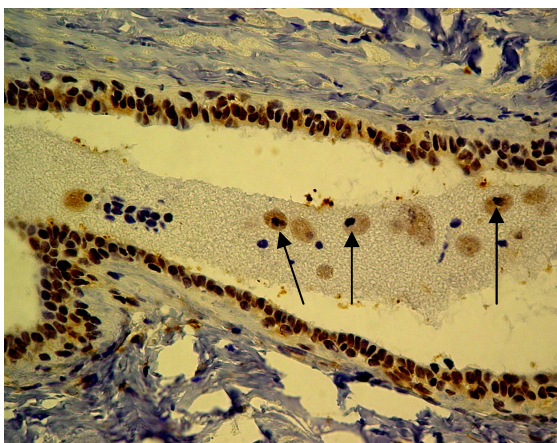
**Abbildung 12: Gesunde  
Brustdrüsenzellen**



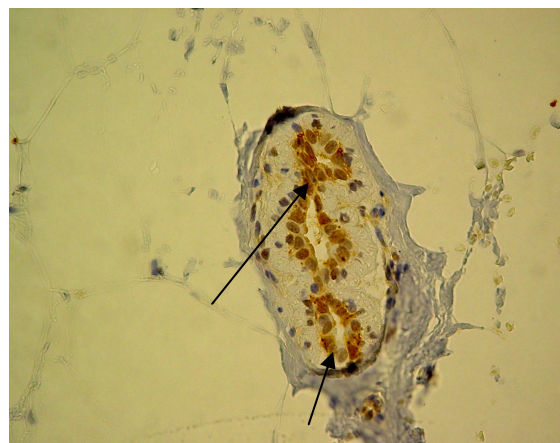
**Abbildung 13: Adipozyten**



**Abbildung 14: Neutrophile Granulozyten**

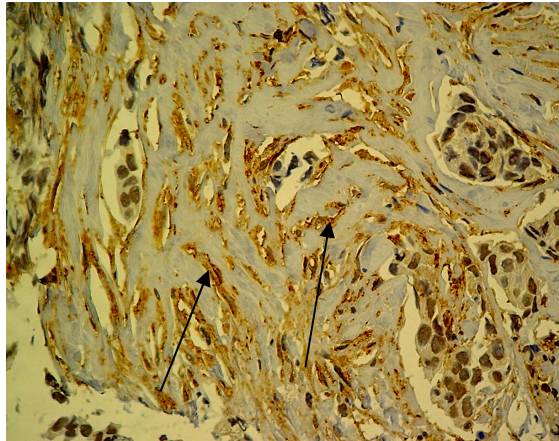


**Abbildung 15: Makrophagen**

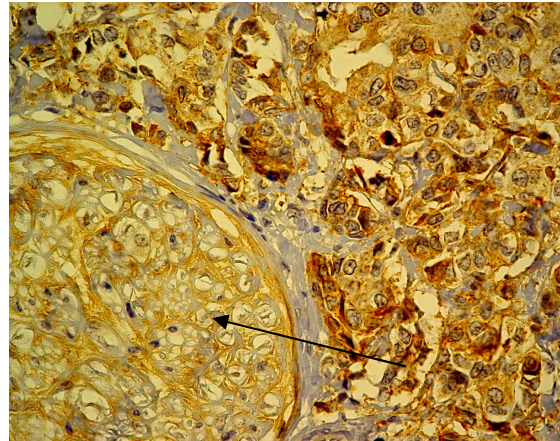


**Abbildung 16: Epithelzellen**





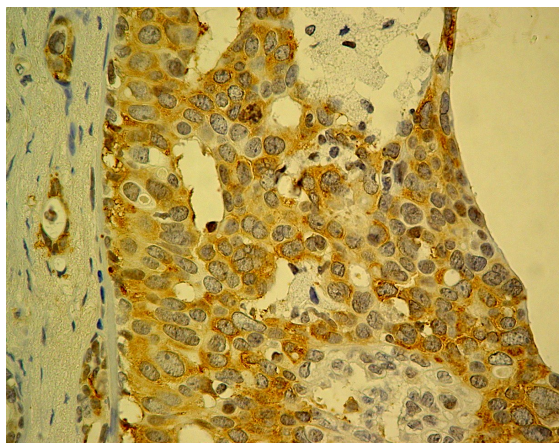
**Abbildung 17: Stromafärbung**



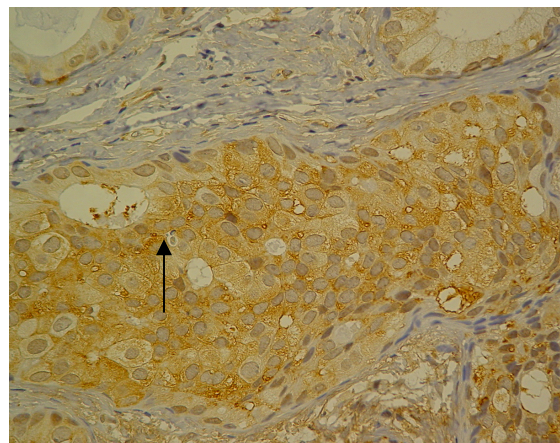
**Abbildung 18: Gefärbter Nerv und stark gefärbter Tumor**

Der verwendete Cox-2-Antikörper färbte auch die dysplastischen Epithelzellen von duktalem Carcinomata in situ (Abbildung 19 und 20) an.

Allgemein stellte sich das Färbemuster sehr unterschiedlich dar. Oftmals waren die Färbungen granulär (Abbildung 20). Dadurch wurde die Auswertung deutlich erschwert.



**Abbildung 19: Gefärbtes DCIS**



**Abbildung 20: DCIS mit granulärer Färbung**

## 3.2 Statistische Auswertung der Cox-2-Expression

### 3.2.1 Cox-2-Expression am Stanzpräparat

Zur Auswertung der Cox-2-Expression am Stanzpräparat wurde das Kollektiv in die Chemo- und Hormontherapiegruppe aufgeteilt. Insgesamt exprimierten 85% der Tumoren aus der Chemotherapiegruppe und 90% der Tumoren aus der Hormontherapiegruppe Cox-2.

Cox-2-Expression am Stanzpräparat	Chemotherapiegruppe		Hormontherapiegruppe	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
Keine Expression	9	15	3	10
Geringe Expression	29	47	16	52
Mäßige Expression	20	32	10	32
Starke Expression	3	5	2	6
Expression unbekannt	1	2	0	0

Tabelle 19: Cox-2-Expression am Stanzpräparat

Bei einem Stanzpräparat aus der Chemotherapiegruppe konnte keine Cox-2-Expression analysiert werden, da dieses Präparat keinen Tumor beinhaltete.

Abbildung 21, ein Mosaik-Plot, veranschaulicht die Anteile der jeweiligen Expressionsstärken. Dabei stellen die Zahlen 0-3 an der rechten Seite den Cox-2-Score dar. Die Zahl 0 steht dabei für eine fehlende Cox-2-Expression, die Zahl 1 für eine geringe, die Zahl 2 für eine mäßige und die Zahl 3 für eine starke Cox-2-Expression. In folgendem Plot wird eine negative Cox-2-Expression durch die rote Fläche, eine geringe Cox-2-Expression durch die grüne, eine mäßige Cox-2-Expression durch die blaue und eine starke Cox-2-Expression durch die orange Fläche dargestellt. Die linke Spalte des Plots stellt dabei die Chemotherapiegruppe dar, die rechte Spalte die Hormontherapiegruppe.

Abbildung 21 zeigt, dass vor der jeweiligen Therapie in jeder Therapiegruppe jede Cox-2-Expressionsstärke exprimiert wurde.

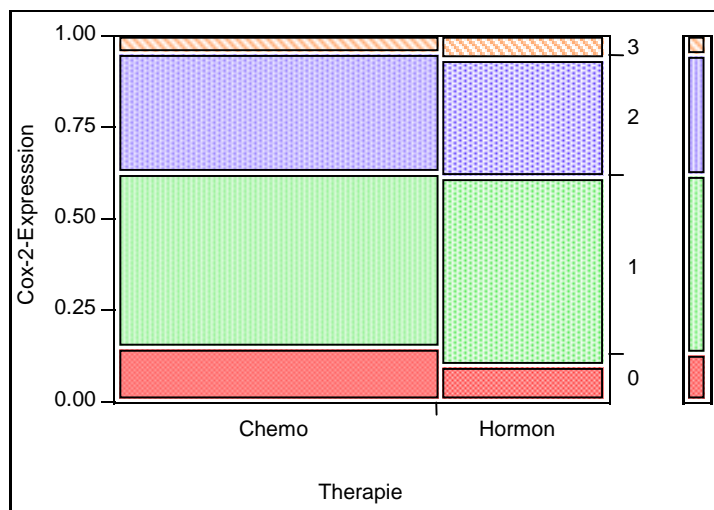


Abbildung 21: Cox-2-Expression am Stanzpräparat

### 3.2.2 Cox-2-Expression am OP-Präparat

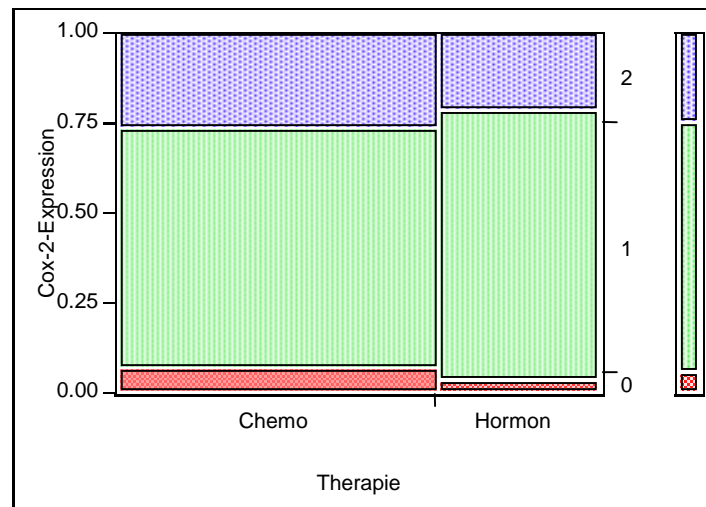
Nach Therapie wurde keine starke Cox-2-Expression mehr gefunden. Der Anteil der Cox-2 exprimierenden Tumoren ist jedoch in beiden Therapiegruppen gestiegen. Er beträgt in der Chemotherapiegruppe 94%, in der Hormontherapiegruppe 97% (Tabelle 20).

Cox-2-Expression am OP-Präparat	Chemotherapiegruppe		Hormontherapiegruppe	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
Keine Expression	4	6	1	3
Geringe Expression	38	61	21	68
Mäßige Expression	15	24	6	19
Starke Expression	0	0	0	0
Expression unbekannt	6	10	3	10

Tabelle 20: Cox-2-Expression am OP-Präparat

In beiden Therapiegruppen überwog die geringe Expression deutlich (Abbildung 22). Hierbei entsprechen die roten Flächen einer fehlenden Cox-2-Expression

(Score 0), die grünen Flächen einer geringen (Score 1) und die blauen Flächen einer mäßigen Cox-2-Expression (Score 2).



**Abbildung 22: Cox-2-Expression am OP-Präparat**

Bei insgesamt neun Präparaten konnte keine Cox-2-Expression untersucht werden, da bei drei Patientinnen aus der Hormontherapiegruppe keine operative Tumorentfernung vorgenommen wurde, bei vier Tumoren aus der Chemotherapiegruppe keine Malignität mehr nachweisbar war, bei einer Patientin aus der Chemotherapiegruppe nur ein Lymphknotenpräparat vorlag und bei einer Patientin nur ein Hautpräparat vorhanden war.

### 3.3 Cox-2-Expressionsänderung unter Therapie

Zur Analyse der Cox-2-Änderung unter Therapie wurde das Kollektiv in zwei Gruppen geteilt, zum einen in die Patientinnengruppe, die mit einer Chemotherapie behandelt wurde und zum anderen in die Gruppe mit den Patientinnen, die eine Hormontherapie erhalten hatten. Bei der jeweiligen Gruppe setzte man die Cox-2- Expression vor Therapie, also die Expression am Stanzpräparat, der Cox-2-Expression nach Therapie, also der Expression am OP-Präparat, gegenüber. Die Ergebnisse sind in Tabelle 21 (Chemotherapie) und Tabelle 22 (Hormontherapie) zusammengefasst. Dabei zeigt die linke Spalte der Tabelle die Cox-2-Expression vor der Therapie auf, die mittlere



Spalte die Expression nach der Therapie. In der rechten Spalte steht die Anzahl der Patientinnen, die jeweils diese Cox-2-Expression aufwiesen.

Deutlich wird hierbei in der Chemotherapiegruppe, dass mit 29% am häufigsten keine Veränderung der geringen Cox-2-Expression, gefolgt von einer mäßigen Expression, die zu einer geringen Cox-2-Expression am OP-Präparat (22%) wurde, auftrat.

<b>Cox-2-Expressionsänderung unter Chemotherapie</b>		
<b>Cox-2-Expression an der Stanze</b>	<b>Cox-2-Expression am OP-Präparat</b>	<b>Beobachtungen Anzahl n (%)</b>
Unbekannt	Gering	1 (2%)
Keine	Unbekannt	2 (3%)
Keine	Keine	1 (2%)
Keine	Gering	5 (9%)
Keine	Mäßig	1 (2%)
Gering	Keine	3 (5%)
Gering	Gering	17 (29%)
Gering	Mäßig	7 (12%)
Mäßig	Unbekannt	1 (2%)
Mäßig	Gering	13 (22%)
Mäßig	Mäßig	6 (10%)
Stark	Gering	2 (3%)
Stark	Mäßig	1 (2%)

**Tabelle 21: Cox-2-Expressionsänderung unter Chemotherapie**

In der Hormontherapiegruppe zeigte sich eine ähnliche Expressionsänderung nach Therapie (Tabelle 22). Am häufigsten trat mit 36% eine gleich bleibende geringe Cox-2-Expression bei der Stanze sowie beim OP-Präparat auf. Eine Änderung der Expression von einer mäßigen zu einer geringen Cox-2-Expression fand sich noch bei 19% der Patientinnen unter Hormontherapie.

Hierbei ist auffällig, dass unabhängig von der Therapie jeweils keine Änderung der geringen Cox-2-Expression am häufigsten auftrat. Auch die zweithäufigste Änderung, die Änderung einer mäßigen zu einer geringen Cox-2-Expression,

trat in beiden Therapiegruppen gleichermaßen auf. Diese Ergebnisse zeigen somit, dass die Therapieart keinen Einfluss auf die Cox-2-Expression hat.

<b>Cox-2-Expressionsänderung unter Hormontherapie</b>		
<b>Cox-2-Expression bei der Stanze</b>	<b>Cox-2-Expression am OP-Präparat</b>	<b>Beobachtungen Anzahl n (%)</b>
Keine	Gering	2 (6%)
Keine	Mäßig	1 (3%)
Gering	Unbekannt	1 (3%)
Gering	Keine	1 (3%)
Gering	Gering	11 (36%)
Gering	Mäßig	3 (10%)
Mäßig	Unbekannt	2 (6%)
Mäßig	Gering	6 (19%)
Mäßig	Mäßig	2 (6%)
Stark	Gering	2 (6%)

**Tabelle 22: Cox-2-Expressionsänderung unter Hormontherapie**

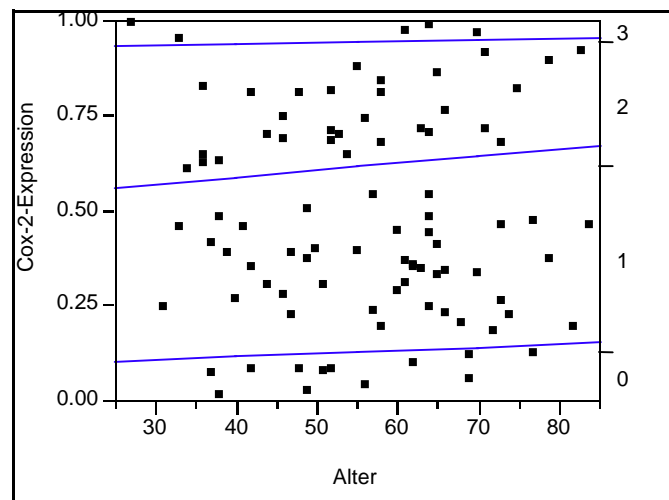
### **3.4 Einfluss des Alters auf die Cox-2-Expression**

#### **3.4.1 Einfluss des Alters auf die Cox-2-Expression**

Die Cox-2-Expression wurde in dieser Analyse zunächst zum Alter, getrennt in Stanzpräparat und OP-Präparat, in Beziehung gesetzt.

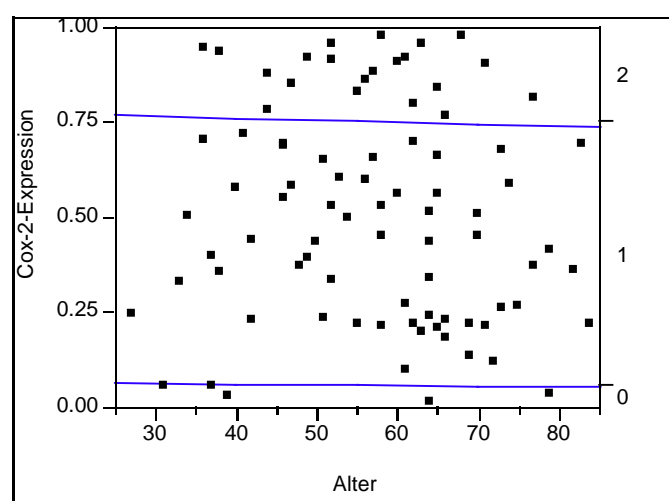
Bei den Stanzbiopsiepräparaten zeigte sich, dass, der Anteil der Tumoren, die keine oder eine geringe Cox-2-Expression aufwiesen mit dem Alter der Patientinnen zunahm. Der Anteil der mäßig Cox-2 exprimierenden Karzinome nahm mit dem Alter ab. Stark exprimierende Tumore zeigten keine Tendenz entsprechend dem Alter. Die Ergebnisse sind in Abbildung 23 dargestellt. Dabei sind auf der y-Achse die Cox-2-Expressionstufen aufgetragen, mit 0 für eine fehlende Cox-2-Expression, 1 für eine geringe Cox-2-Expression, 2 für eine mäßige Cox-2-Expression und 3 für eine starke Cox-2-Expression. Die nahezu horizontal verlaufenden Kurven, die jeweils die obere Grenze des jeweiligen

Cox-2-Expressionsscore darstellen, zeigen deutlich, dass keine Beziehung zwischen dem Alter und der Cox-2-Expression am Stanzpräparat besteht.



**Abbildung 23: Altersverteilung der Cox-2-Expression im Stanzpräparat**

Eine Tendenz zur Verringerung der geringen Expression und Erhöhung der mäßigen Expression mit höherem Alter ist im OP-Präparat ersichtlich. Die nahezu horizontalen Geraden in Abbildung 24 zeigen jedoch, wie schon bei der Stanze, dass kein Zusammenhang zwischen der Cox-2-Expression und dem Alter besteht.



**Abbildung 24: Altersverteilung der Cox-2-Expression im OP-Präparat**

### 3.4.2 Cox-2-Expression prä- und postmenopausal

Bei der Analyse der prä- und postmenopausalen Cox-2-Expression wurden die Patientinnen in zwei Gruppen eingeteilt, einerseits die prämenopausalen Patientinnen, welche jünger als 50 Jahre waren, und andererseits die postmenopausalen, die gleich und älter als 50 Jahre waren.

Bei der Auswertung der Stanzpräparate bezüglich der Prä- und Postmenopause zeigte sich, dass 84% der prämenopausalen Tumoren und 89% der postmenopausalen Tumoren Cox-2 exprimierten. Der größte Anteil der Tumore in beiden Gruppen wies eine geringe Cox-2-Expression auf (Tabelle 23).

Cox-2-Expression der Stanzpräparate	< 50 Jahre		≥ 50 Jahre	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
<b>Keine Expression</b>	5	16	7	11
<b>Geringe Expression</b>	14	45	31	51
<b>Mäßige Expression</b>	10	32	20	33
<b>Starke Expression</b>	2	7	3	5

**Tabelle 23: Cox-2-Expression bezüglich des Menopausenstatus am Stanzpräparat**

Am OP-Präparat exprimierten 88% der prämenopausalen Tumoren und 97% der postmenopausalen Tumoren Cox-2. Bei den Tumoren prämenopausaler Patientinnen trat vermehrt keine Cox-2-Expression auf. Die meisten prä- und postmenopausalen Tumoren zeigten eine geringe Cox-2-Expression, wobei die postmenopausalen Tumoren mit 72% überwogen. Bei der mäßigen Expression hielten sich beide Gruppen die Waage. Eine starke Cox-2-Expression fand sich bei keinem der Präparate. Das Ergebnis der OP-Präparate (Tabelle 24) entspricht somit in etwa dem der Stenzen.

Cox-2-Expression der OP-Präparate	< 50 Jahre		≥ 50 Jahre	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
Keine Expression	3	12	2	3
Geringe Expression	16	64	43	72
Mäßige Expression	6	24	15	25
Starke Expression	0	0	0	0

Tabelle 24: Cox-2-Expression bezüglich des Menopausenstatus am OP-Präparat

### 3.5 Zusammenhang zwischen der Tumorgröße, dem T-Stadium und dem N-Stadium und der Cox-2-Expression

#### 3.5.1 Beziehung der Cox-2-Expression und des T-Stadiums

Bei den T-Stadien Tis, T 2, T 3 und T 4 war die geringe Cox-2-Expression am häufigsten. Bei den T 1 Tumoren überwog diemäßige Cox-2-Expression. Insgesamt zeigte sich in keinem Stadium eine starke Cox-2-Expression (Tabelle 25).

	Keine Cox-2-Expression		Geringe Cox-2-Expression		Mäßige Cox-2-Expression	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
<b>Tis</b>	1	20	4	80	0	0
<b>T 1</b>	0	0	13	48	14	52
<b>T 2</b>	1	3	28	82	5	15
<b>T 3</b>	2	25	5	63	1	12
<b>T 4</b>	1	9	9	82	1	9

Tabelle 25: Beziehung zwischen T-Stadium und Cox-2-Expression postoperativ

Abbildung 25 zeigt deutlich, dass die mäßige Cox-2-Expression von T 1 zu T 4 stetig, jedoch nicht gleichmäßig abnahm, dagegen die geringe Cox-2-Expression zunahm.

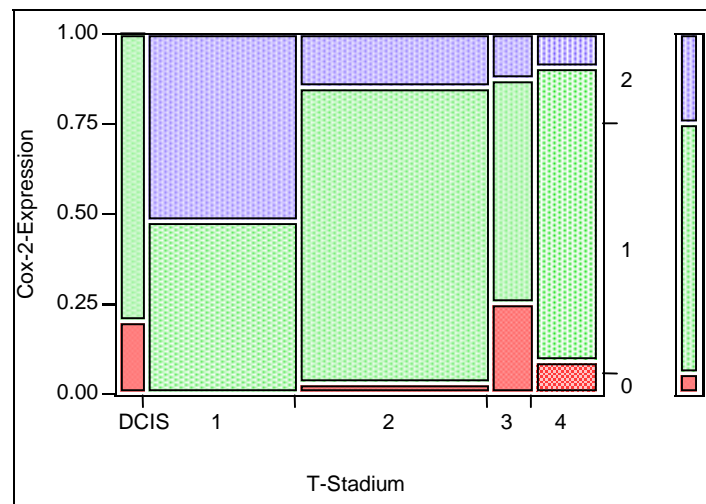


Abbildung 25: Beziehung zwischen T-Stadium und Cox-2-Expression postoperativ

### 3.5.2 Einfluss der Tumorgröße auf die Cox-2-Expression

Bei der Darstellung der Tumorgröße und der Cox-2-Expression zeigte sich bei den Stanzbiopsien keine Beziehung. In der folgenden Abbildung 26 entsprechen die Zahlen 0 bis 3 auf der y-Achse wiederum dem Cox-2-Expressionsscore. Die horizontalen blauen Geraden zeigen, dass keine Tendenzen ersichtlich sind.

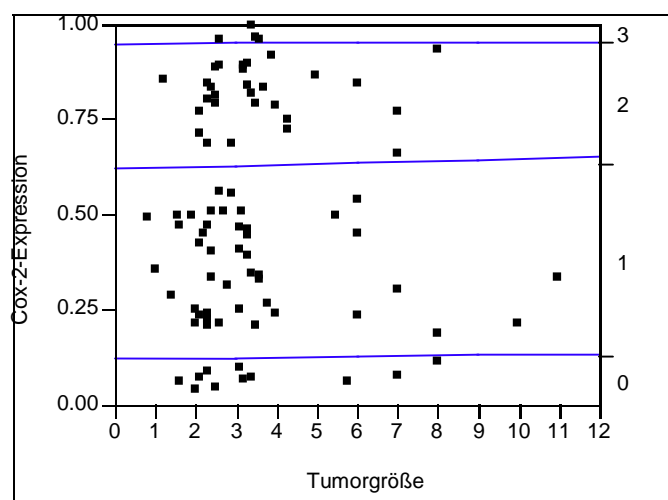
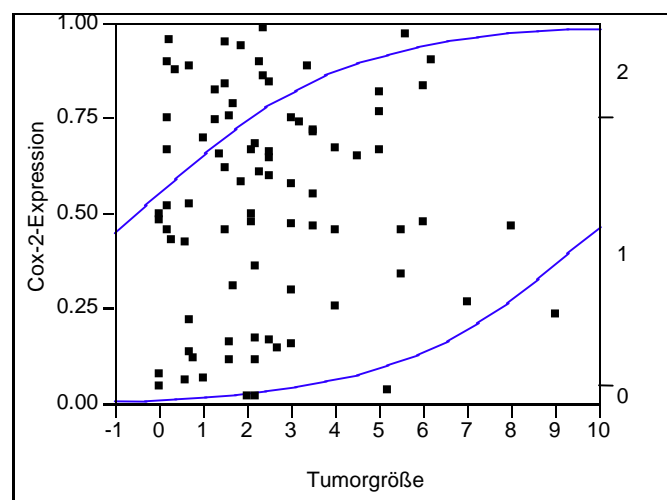


Abbildung 26: Beziehung von Tumorgröße und Cox-2-Expression am Stanzpräparat

Dagegen zeigte sich bei der Auswertung der OP-Präparate deutlich, dass die Cox-2-Expression mit Zunahme der Tumorgröße abnahm (Abbildung 27). Die mäßige Cox-2-Expression nahm mit der steigenden Tumorgröße ab (vertikaler Abstand von der obersten blauen Kurve zur 1.00). Die Tumoren ohne Cox-2-Expression nahmen mit größerer Tumorgröße zu (vertikaler Abstand von der unteren blauen Kurve zur 0.00). Die Fläche zwischen den beiden blauen Kurven entspricht der geringen Cox-2-Expression. Diese nahm mit steigender Tumorgröße ebenfalls ab.



**Abbildung 27: Beziehung von Tumorgröße und Cox-2-Expression am OP-Präparat**

### **3.5.3 Zusammenhang zwischen dem Lymphknotenstadium und der Cox-2-Expression**

Bei der Gegenüberstellung des N-Stadiums zur Cox-2-Expression war der Anteil der geringen Cox-2-Expression in jedem N-Stadium am größten (Tabelle 26). Eine negative Cox-2-Expression trat häufiger im Stadium N 1, die mäßige Cox-2-Expression trat dagegen im Stadium N 0 häufiger auf.

Auch Abbildung 28 zeigt, dass mit steigendem Lymphknotenstatus der Anteil der Tumoren mit geringer Cox-2-Expression stieg (grüne Fläche). Dagegen nahm der Anteil der Tumoren, die Cox-2 mäßig exprimierten (blaue Fläche) mit steigendem N-Stadium ab. Die negative Cox-2-Expression (rote Fläche) nahm von N0 zu N1 zu, fand sich jedoch nicht bei N2.

Cox-2-Expression	N 0		N 1		N 2	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
Keine Expression	1	3	4	8	0	0
Geringe Expression	21	64	36	72	2	100
Mäßige Expression	11	33	10	20	0	0
Starke Expression	0	0	0	0	0	0

Tabelle 26: Zusammenhang zwischen dem Lymphknotenstadium und der Cox-2-Expression postoperativ

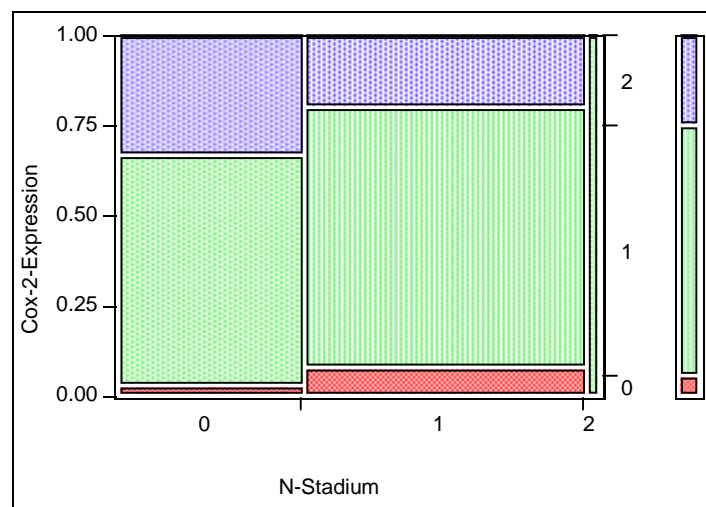


Abbildung 28: Zusammenhang zwischen dem Lymphknotenstadium und der Cox-2-Expression postoperativ

### 3.6 Beziehung zwischen der histologischen Gruppe und der Cox-2-Expression

#### 3.6.1 Cox-2-Expression der Stanz- und OP-Präparate in den histologischen Gruppen

Zur Auswertung wurden die Tumoren in 4 Gruppen eingeteilt: die invasiven duktales, die invasiven lobulären, die DCIS und die speziellen Karzinome. Unter



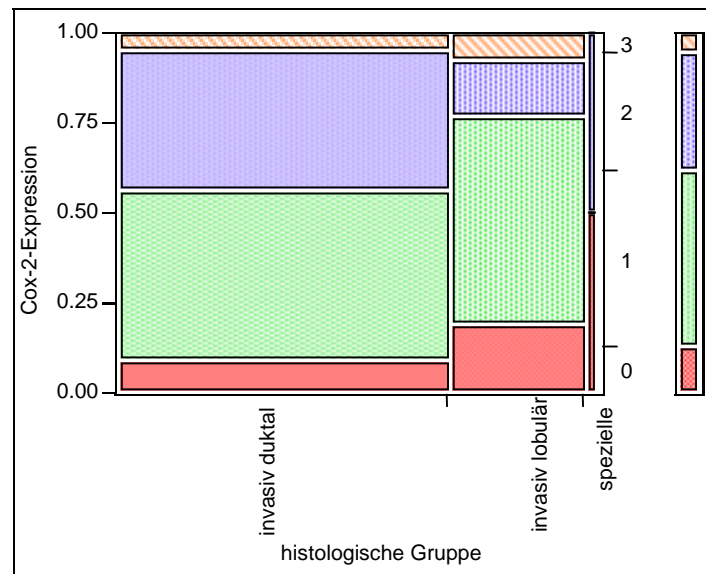
die speziellen Karzinome fielen die medullären und die papillären Karzinome. Die dukto-lobulären Tumoren wurden der Gruppe der invasiv duktaalen Karzinome zugeteilt.

Im Folgenden werden zunächst die Stanzpräparate (Tabelle 27) besprochen. In der Gruppe der invasiven duktaalen exprimierten 91%, in der Gruppe der invasiven lobulären Karzinome 81% der Tumoren Cyclooxygenase-2. Der größte Anteil hatte dabei eine geringe Cox-2-Expression. Die Gruppe der speziellen Karzinome beinhaltete zu 50% keine und zu 50% eine mäßige Cox-2-Expression. Bei den Stanzpräparaten waren keine DCIS vorhanden (siehe Tabelle 5).

Cox-2-Expression	invasiv duktal		invasiv lobulär		spezielle	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
<b>Keine Expression</b>	6	9	5	19	1	50
<b>Geringe Expression</b>	30	47	15	58	0	0
<b>Mäßige Expression</b>	25	39	4	15	1	5
<b>Starke Expression</b>	3	5	2	8	0	0

**Tabelle 27: Beziehung zwischen der histologischen Gruppe und der Cox-2-Expression am Stanzpräparat**

Abbildung 29 verdeutlicht diese Ergebnisse. Dabei sind auf der x-Achse die histologischen Gruppen aufgetragen, wobei die linke Spalte den duktaalen, die mittlere Spalte den lobulären und die rechte Spalte den speziellen Tumoren entspricht. Die Breite der Spalten spiegelt hierbei die relative Häufigkeit der jeweiligen Karzinome wieder. Auf der y-Achse ist die Cox-2-Expression aufgetragen. Hierbei entsprechen die roten Flächen keiner, die grünen Flächen einer geringen, die blauen Flächen einer mäßigen und die orangefarbenen Flächen einer starken Cox-2-Expression.



**Abbildung 29: Beziehung zwischen der histologischen Gruppe und der Cox-2-Expression am Stanzpräparat**

Bei den OP-Präparaten exprimierten 80% der DCIS, 97% der invasiv duktal, 89% der invasiv lobulären und 100% der speziellen Tumoren Cyclooxygenase-2.

In allen histologischen Gruppen überwog dabei die geringe Expression (Tabelle 28).

Fünf Patientinnen hatten nach der neoadjuvanten Therapie ein duktales Carcinoma in situ (DCIS), also eine pR. Diese Patientinnen sind alle aus der Chemotherapiegruppe. Die Cox-2-Expression ihres OP-Präparates stellte sich folgendermaßen dar: ein DCIS hatte keine Cox-2-Expression (20%) und vier hatten eine geringe Expression (80%).

Cox-2-Expression	DCIS	invasiv duktal	invasiv lobulär	spezielle
	Anzahl n (%)	Anzahl n (%)	Anzahl n (%)	Anzahl n (%)
Keine Expression	1 (20%)	2 (4%)	2 (10%)	0 (0%)
Geringe Expression	4 (80%)	42 (72%)	11 (58%)	2 (100%)
Mäßige Expression	0 (0%)	14 (24%)	6 (32%)	0 (0%)
Starke Expression	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

Tabelle 28: Cox-2-Expression in den histologischen Gruppen am OP-Präparat

Abbildung 30 zeigt das deutliche Überwiegen der geringen Cox-2-Expression in allen histologischen Gruppen.

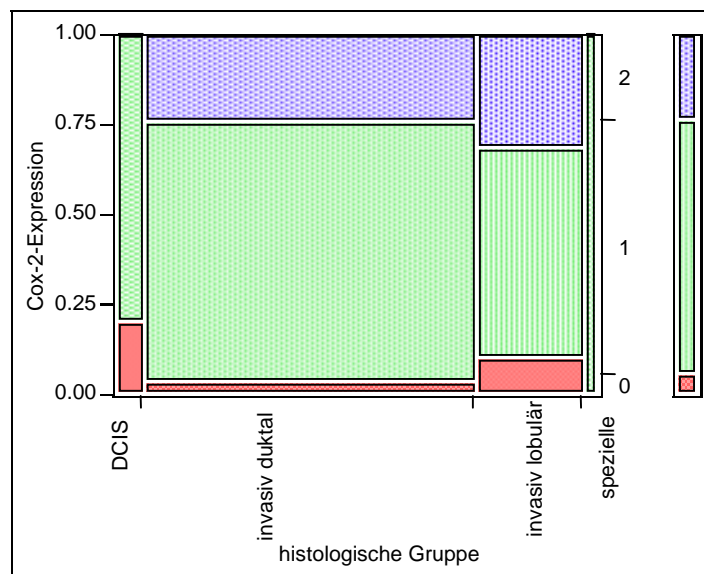


Abbildung 30: Beziehung zwischen der histologischen Gruppe und der Cox-2-Expression am OP-Präparat

### 3.6.2 Beziehung zwischen der histologischen Gruppe und der Cox-2-Expression getrennt nach Chemo- und Hormontherapie

Im Folgenden werden die Gruppen, wie in 3.6.1 beschrieben, ausgewertet. Dabei wurden zwei weitere Gruppen, die Gruppe Chemotherapie und die Gruppe Hormontherapie, gebildet.

#### 3.6.2.1 Chemotherapiegruppe

In der Stanze exprimierten 87% der invasiven duktaalen Karzinome und 77% der invasiven lobulären Tumoren Cox-2. Es überwog deutlich der geringe Enzymgehalt. Auffallend ist, dass in der invasiv duktaalen Tumorguppe die mäßige Cox-2-Expression, in der invasiv lobulären Tumorguppe, dagegen keine Cox-2-Expression am zweithäufigsten auftrat. Bei den speziellen Karzinomen hatten 100% eine mäßige Expression. Diese Ergebnisse sind in Tabelle 29 zusammengefasst.

Cox-2-Expression	invasiv duktal		invasiv lobulär		speziell	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
Keine Expression	6	13	3	23	0	0
Geringe Expression	21	45	8	62	0	0
Mäßige Expression	18	38	1	8	1	100
Starke Expression	2	4	1	8	0	0

Tabelle 29: Cox-2-Expression in den histologischen Gruppen am Stanzpräparat bei der Chemotherapiegruppe

Bei den OP-Präparaten (Tabelle 30) exprimierten 80% der DCIS, 95% der invasiven duktaalen, 89% der invasiven lobulären und 100% der speziellen Karzinome Cox-2. Es überwog in jeder histologischen Gruppe eine geringe Cox-2-Expression. Dieser folgte nun, im Gegensatz zu den Stanzpräparaten,

bei den invasiv duktafen und bei den invasiv lobulären Tumoren die mäßige Expression.

<b>Cox-2-Expression</b>	<b>DCIS</b>	<b>invasiv duktal</b>	<b>invasiv lobulär</b>	<b>speziell</b>
	<b>Anzahl n (%)</b>	<b>Anzahl n (%)</b>	<b>Anzahl n (%)</b>	<b>Anzahl n (%)</b>
<b>Keine Expression</b>	1 (20%)	2 (5%)	1 (11%)	0 (0%)
<b>Geringe Expression</b>	4 (80%)	29 (69%)	4 (44%)	1 (100%)
<b>Mäßige Expression</b>	0 (0%)	11 (26%)	4 (44%)	0 (0%)
<b>Starke Expression</b>	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

**Tabelle 30: Cox-2-Expression in den histologischen Gruppen am OP-Präparat in der Chemotherapiegruppe**

### 3.6.2.2 Hormontherapiegruppe

In der Gruppe der Stanzpräparate mit einem invasiven duktafen Karzinom exprimierten alle Tumore, bei den invasiv lobulären 85% und bei den speziellen Tumoren kein einziger Cox-2. Bei den invasiv duktafen und invasiv lobulären Tumoren überwog der Anteil der Tumoren, die geringe Mengen Cox-2 exprimierten. Es folgte in beiden Gruppen die mäßige Cox-2-Expression. In Tabelle 31 sind diese Ergebnisse dargestellt.

Bei den OP-Präparaten in der Hormontherapiegruppe gibt es keine DCIS. Cyclooxygenase-2 exprimierten in dieser Gruppe 100% der invasiv duktafen, 90% der invasiv lobulären und 100% der speziellen Karzinome. Es überwog in allen Gruppen deutlich die geringe Cox-2-Expression. Diese Ergebnisse sind in Tabelle 32 zusammengestellt.

Cox-2-Expression	invasiv duktal		invasiv lobulär		speziell	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
Keine Expression	0	0	2	15	1	100
Geringe Expression	9	53	7	54	0	0
Mäßige Expression	7	41	3	23	0	0
Starke Expression	1	6	1	8	0	0

Tabelle 31: Cox-2-Expression in den histologischen Gruppen am Stanzpräparat in der Hormontherapiegruppe

Cox-2-Expression	invasiv duktal		invasiv lobulär		speziell	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
Keine Expression	0	0	1	10	0	0
Geringe Expression	13	81	7	70	1	100
Mäßige Expression	3	19	2	20	0	0
Starke Expression	0	0	0	0	0	0

Tabelle 32: Cox-2-Expression in den histologischen Gruppen am OP-Präparat in der Hormontherapiegruppe

### 3.7 Das Grading in Bezug auf die Cox-2-Expression

Bei den Stanzpräparaten exprimierten in der Gruppe G 1 0%, in der Gruppe G 2 88% und in der Gruppe G 3 84% der Tumoren Cox-2 (Tabelle 33). Auffallend dabei ist, dass bei den mäßig differenzierten (Gruppe 2) sowie bei den schlecht differenzierten Karzinomen (Gruppe 3) die geringe Cox-2-Expression stark überwog. Das einzige Präparat mit einem gut differenzierten Tumor, also G 1, wies keine Cox-2-Expression auf.

	G 1 (gut differenziert)		G 2 (mäßig differenziert)		G 3 (schlecht differenziert)	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
<b>Keine Expression</b>	1	100	8	12	3	16
<b>Geringe Expression</b>	0	0	35	51	10	53
<b>Mäßige Expression</b>	0	0	23	33	4	21
<b>Starke Expression</b>	0	0	3	4	2	11

Tabelle 33: Cox-2-Expression in Bezug auf das Grading am Stanzpräparat

Bei der Auswertung der OP-Präparate wurde die Gruppe G 0, der die Präparate, in denen kein invasives Karzinom mehr nachgewiesen werden konnte, zugeteilt wurden, hinzugefügt. Diese Präparate beinhalteten also entweder gesundes Mammagewebe oder ein Carcinoma in Situ. Am OP-Präparat (Tabelle 34) wiesen 80% der Gruppe G 0, 100% der Gruppe G 1, 100% der Gruppe G 2 und 83% der Gruppe G 3 eine Cyclooxygenase-2-Expression auf.

Die Präparate der Gruppe G 0 wiesen zu 80% eine geringe, der restliche Teil keine Cox-2-Expression auf. Dies zeigt deutlich, dass Cox-2 nicht nur in Tumorzellen, sondern auch in normalen, gesunden Mammaepithelzellen oder

Carcinoma in situ Zellen exprimiert wird. In den Gruppen der G 1 bis G 3 Tumoren überwog, wie auch schon bei den Stanzpräparaten, deutlich die geringe Cox-2-Expression.

	<b>G 0 (kein invasives Karzinom)</b>	<b>G 1 (gut differenziert)</b>	<b>G 2 (mäßig differenziert)</b>	<b>G 3 (schlecht differenziert)</b>
<b>Keine Expression</b>	1 (20%)	0 (0%)	0 (0%)	4 (17%)
<b>Geringe Expression</b>	4 (80%)	2 (100%)	37 (70%)	15 (62%)
<b>Mäßige Expression</b>	0 (0%)	0 (0%)	16 (30%)	5 (21%)
<b>Starke Expression</b>	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

Tabelle 34: Cox-2-Expression in Relation zum Grading am OP-Präparat

### 3.8 Cyclooxygenase-2-Expression und Prognosefaktoren

#### 3.8.1 Beziehung zwischen der Cyclooxygenase-2 und dem Progesteron- und Östrogenrezeptorstatus

##### 3.8.1.1 Cox-2 und Östrogenrezeptorstatus

Bei den Östrogenrezeptoren überwog in allen Cox-2-Stadien am Stanzpräparat deutlich der positive Rezeptorstatus. In allen Cox-2-Expressionsstufen waren mindestens 60% der Präparate Östrogenrezeptor positiv (Tabelle 35).



Cox-2-Expression der Stanzpräparate	ER positiv		ER negativ	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
Keine Expression	9	75	3	25
Geringe Expression	38	84	7	16
Mäßige Expression	18	60	12	40
Starke Expression	3	60	2	40

Tabelle 35: Cox-2-Expression in Beziehung zum Östrogenrezeptor am Stanzpräparat

Das deutliche Überwiegen des positiven Östrogenrezeptorstatus, unabhängig von der Cox-2-Expression, ist in Abbildung 31 grafisch dargestellt. Falls nicht anders erwähnt gilt folgende Abbildungsbeschriftung: auf der y-Achse ist der Östrogenrezeptorstatus aufgetragen, wobei die grünen Flächen einem positiven Status und die roten Flächen einem negativen Status entsprechen. Auf der x-Achse ist die Cox-2-Expression aufgetragen. Dabei entspricht die linke Spalte keiner, die zweite Spalte von links einer geringen, die dritte Spalte von links einer mäßigen und die rechte Spalte einer starken Cox-2-Expression.

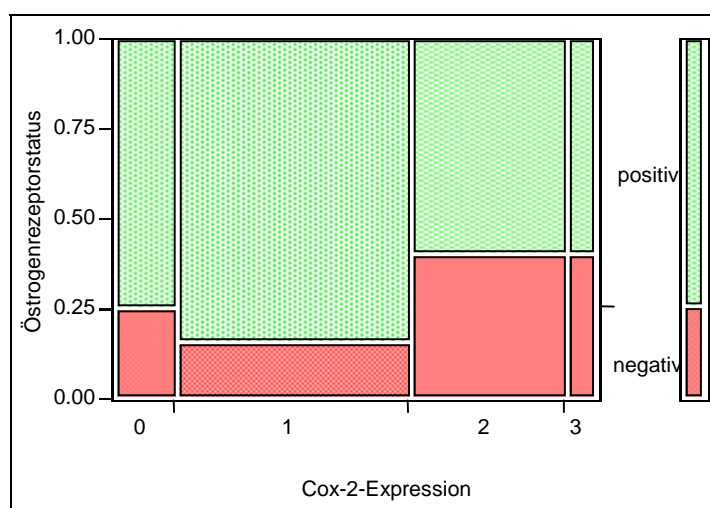


Abbildung 31: Beziehung zwischen Cox-2 und dem Östrogenrezeptorstatus am Stanzpräparat

Bei den OP-Präparaten überwog wiederum, wie schon bei der Stanze beobachtet, der positive Östrogenrezeptorstatus (Tabelle 36 und Abbildung 32).

Cox-2-Expression der OP-Präparate	ER positiv		ER negativ	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
Keine Expression	2	50	2	50
Geringe Expression	41	72	16	28
Mäßige Expression	17	81	4	19
Starke Expression	0	0	0	0

Tabelle 36: Cox-2-Expression in Relation zum Östrogenrezeptor am OP-Präparat

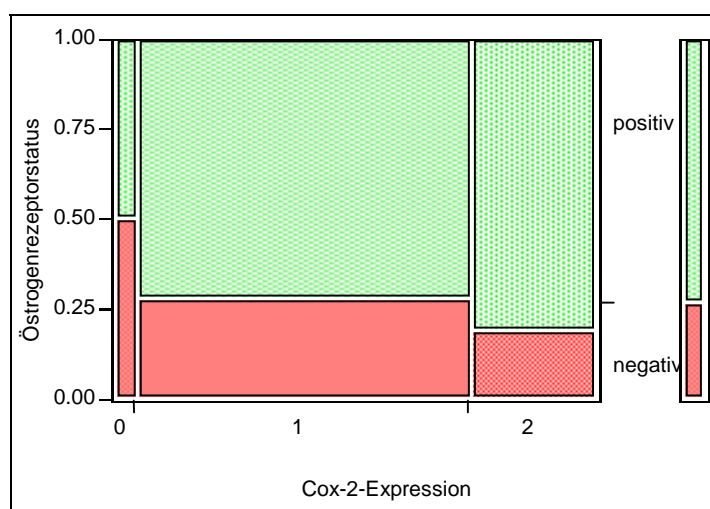


Abbildung 32: Cox-2-Expression in Beziehung zum Östrogenrezeptorstatus am OP-Präparat

### 3.8.1.2 Cox-2-Expression und Progesteronrezeptorstatus

Die Beziehung zwischen Cox-2 und dem Progesteronrezeptorstatus stellte sich wie folgend dar: ein negativer Progesteronrezeptorstatus fand sich überwiegend bei fehlender, mäßiger und starker Cox-2-Expression, ein positiver Progesteronrezeptorstatus bei geringer Cox-2-Expression. Bei starker Cox-2-Expression waren alle Tumoren Rezeptor-negativ (Tabelle 37).

Cox-2-Expression der Stanzpräparate	PgR positiv		PgR negativ	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
Keine Expression	3	25	9	75
Geringe Expression	28	62	17	38
Mäßige Expression	10	33	20	67
Starke Expression	0	0	5	100

Tabelle 37: Cox-2-Expression in Relation zum Progesteronrezeptor am Stanzpräparat

In Abbildung 33 wird deutlich, dass nur bei geringer Cox-2-Expression der positive Progesteronrezeptorstatus überwog. Hierbei ist auf der y-Achse der PgR-Status und auf der x-Achse die Cox-2-Expression aufgetragen.

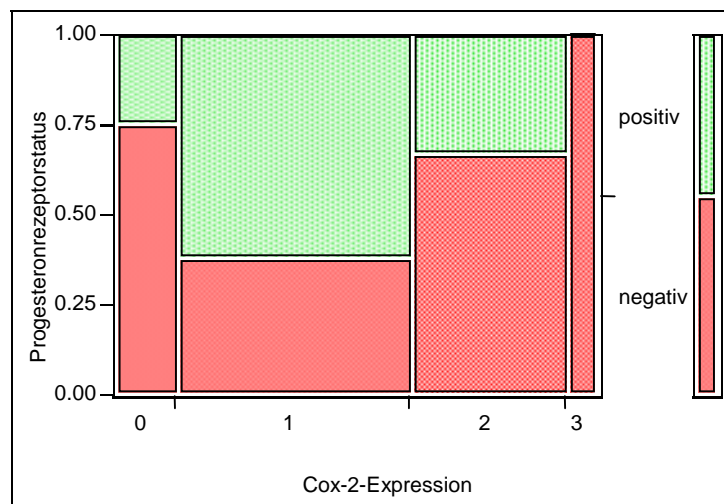


Abbildung 33: Beziehung zwischen Cox-2 und dem PgR-Status am Stanzpräparat

Am OP-Präparat ist der Progesteronrezeptorstatus bei allen Cox-2-Expressions-stärken mit über 60% deutlich mehr negativ, als positiv. Die Ergebnisse sind in Tabelle 38 zusammengefasst.

Cox-2-Expression der OP-Präparate	PgR positiv		PgR negativ	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
Keine Expression	1	33	2	67
Geringe Expression	21	37	36	63
Mäßige Expression	6	29	15	71
Starke Expression	0	0	0	0

Tabelle 38: Cox-2-Expression in Bezug zum Progesteronrezeptorstatus am OP-Präparat

In Abbildung 34 ist das deutliche Überwiegen des negativen Progesteronrezeptorstatus unabhängig davon, ob eine Cox-2-Expression vorliegt oder nicht, und unabhängig von der Cox-2-Expressionsstärke dargestellt.

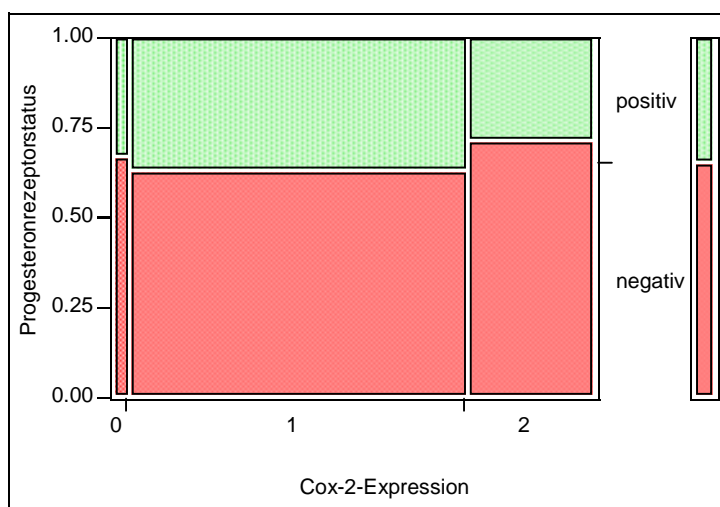


Abbildung 34: Beziehung zwischen der Cox-2-Expression und dem PgR-Status am OP-Präparat

### 3.8.1.3 Cox-2 und Hormonrezeptorstatus

In der Betrachtung des Einflusses der Cox-2 auf den Hormonrezeptorstatus wurden alle Tumoren, die mindestens Östrogen- oder Progesteronrezeptor positiv waren als Hormonrezeptorstatus positiv gewertet. Es zeigte sich hier

deutlich, dass in allen Cox-2-Expressionsstadien die Hormonrezeptorstatus-positiven mit wiederum mindestens 60% überwogen (Tabelle 39).

Cox-2-Expression der Stanzpräparate	HR positiv		HR negativ	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
Keine Expression	9	75	3	25
Geringe Expression	38	84	7	16
Mäßige Expression	18	60	12	40
Starke Expression	3	60	2	40

Tabelle 39: Cox-2-Expression in Relation zum Hormonrezeptorstatus am Stanzpräparat

In Abbildung 35 wird nochmals sehr deutlich, dass die Hormonrezeptor-positiven Präparate in jedem Cox-2-Expressionsstadium überwogen.

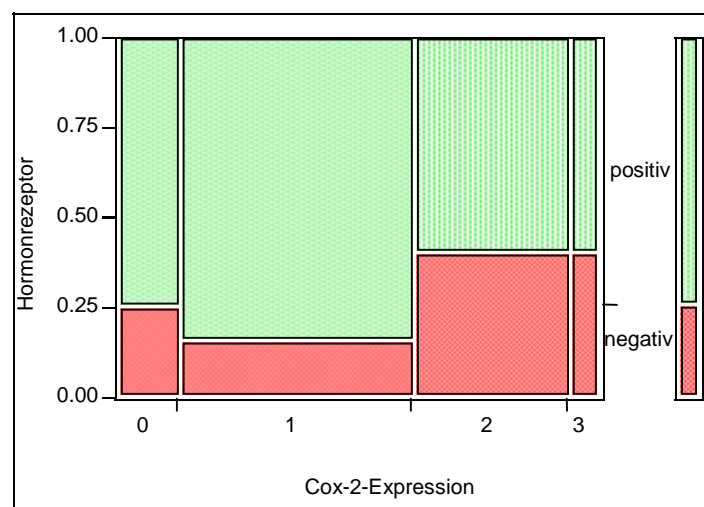


Abbildung 35: Beziehung zwischen Cox-2 und dem Hormonrezeptorstatus am Stanzpräparat

Bei den OP-Präparaten beobachtete man wiederum eine starke Tendenz zu einem positiven Hormonrezeptorstatus. Er ist bei geringer und mäßiger Cox-2-Expression deutlich größer als 70%. Bei fehlender Cox-2-Expression hält sich

## Ergebnisse

die Anzahl der positiven und negativen Hormonrezeptoren mit 50% die Waage (Tabelle 40).

Cox-2-Expression der OP-Präparate	HR positiv		HR negativ	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
Keine Expression	2	50	2	50
Geringe Expression	42	74	15	26
Mäßige Expression	16	76	5	24
Starke Expression	0	0	0	0

Tabelle 40: Cox-2-Expression in Relation zum Hormonrezeptorstatus am OP-Präparat

Die Ergebnisse der Beziehung zwischen Cox-2-Expression und dem Hormonrezeptorstatus am OP-Präparat sind in Abbildung 36 grafisch dargestellt. Dabei wird nochmals deutlich, dass bei fehlender Cox-2-Expression gleichviel Präparate Hormonrezeptor positiv wie negativ waren. Bei einer Cox-2-Expression überwog jedoch stark der Hormonrezeptor-positive Status.

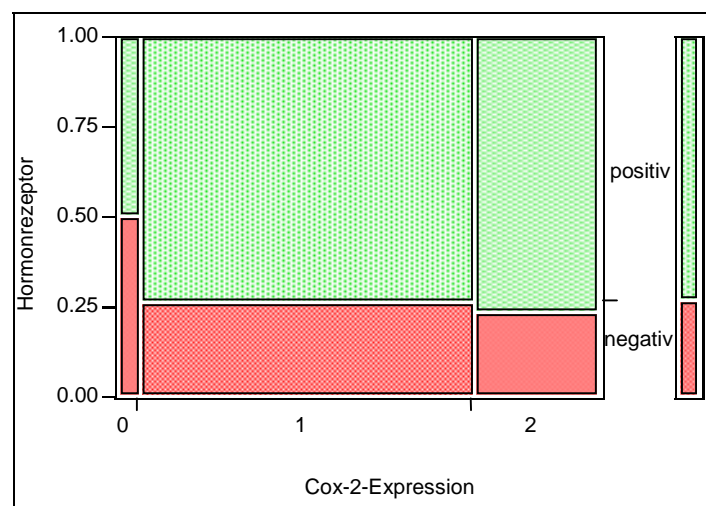


Abbildung 36: Beziehung zwischen Cox-2 und dem Hormonrezeptorstatus am OP-Präparat

### 3.8.2 Beziehung zwischen der Cyclooxygenase-2-Expression und dem Tumorsuppressorgen p53

#### 3.8.2.1 Cox-2-Expression und p53 am Stanz- und OP-Präparat

Die Beziehung zwischen der Cox-2-Expression und p53 am Stanzpräparat und am OP-Präparat wurden zunächst unabhängig von der Therapieform untersucht. Es stellte sich heraus, dass in jedem Cox-2-Expressions-Stadium deutlich mehr Tumoren p53 negativ waren ( $\geq 53\%$ ).

Cox-2-Expression der Stanzpräparate	p53 positiv		p53 negativ	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
Keine Expression	2	17	10	83
Geringe Expression	17	38	28	62
Mäßige Expression	14	47	16	53
Starke Expression	2	40	3	60

Tabelle 41: Cox-2-Expression in Beziehung zu p53 am Stanzpräparat

In der OP-Präparatengruppe verstärkte sich die Tendenz der Stanzpräparate, d.h. es waren mehr Tumoren p53 negativ als positiv (Tabelle 42). Des Weiteren nahm der Anteil der p53 positiven Tumoren mit steigender Cyclooxygenase-2-Expression ab, d.h. je stärker das Cox-2-Expressionsstadium, desto größer der Anteil der p53 negativen Tumoren.

Cox-2-Expression der OP-Präparate	p53 positiv		p53 negativ	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
Keine Expression	1	50	1	50
Geringe Expression	14	27	38	73
Mäßige Expression	3	17	15	83
Starke Expression	0	0	0	0

Tabelle 42: Cox-2-Expression in Beziehung zu p53 am OP-Präparat

In den folgenden Abschnitten 3.8.2.2 und 3.8.2.3 wird das Verhältnis zwischen der Cyclooxygenase-2-Expression und p53 getrennt nach der jeweiligen Therapiegruppe betrachtet.

### 3.8.2.2 Cyclooxygenase-2 und p53 in der Chemotherapiegruppe

Bei der getrennten Betrachtung zeigte sich, dass bei Stanzpräparaten der Chemotherapiegruppe mit steigender Cox-2-Expression der Anteil an p53 positiven Tumoren zunimmt und zwar je höher das Cox-2-Expressionsstadium, desto höher der Anteil an p53 positiven Tumoren (Tabelle 43).

Cox-2-Expression der Stanzpräparate	p53 positiv		p53 negativ	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
Keine Expression	1	11	8	89
Geringe Expression	13	45	16	55
Mäßige Expression	12	60	8	40
Starke Expression	2	67	1	33

Tabelle 43: Cox-2-Expression in Relation zu p53 an den Stanzpräparaten in der Chemotherapiegruppe

Nach der Therapie zeigte sich ein genau umgekehrtes Verhältnis als bei der Stanze. Je höher das Cox-2-Expressionsstadium, desto höher der Anteil der p53 negativen Tumore. Der Anteil der p53 positiven Tumoren hat im Vergleich zur Stanze stark abgenommen. Die OP-Präparate der Chemotherapiegruppe verhalten sich genauso wie die OP-Präparate, die man nicht in ihre jeweilige Therapiegruppe einteilte.



Cox-2-Expression der OP-Präparate	p53 positiv		p53 negativ	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
Keine Expression	1	100	0	0
Geringe Expression	10	32	21	68
Mäßige Expression	1	8	11	92
Starke Expression	0	0	0	0

Tabelle 44: Cox-2-Expression in Beziehung zu p53 am OP-Präparat in der Chemotherapiegruppe

### 3.8.2.3 Cyclooxygenase-2 und p53 in der Hormontherapiegruppe

Die Stanzpräparate, die zur Gruppe der Hormontherapie gehören, zeigten ein umgekehrtes Verhalten im Vergleich zu den Stanzpräparaten der Chemotherapiegruppe. Je größer das Cox-2-Expressionsstadium war, desto höher war der Anteil an p53 negativen Tumoren (Tabelle 45). Dieses Verhalten entspricht jedoch den OP-Präparaten der Chemotherapiegruppe und der allgemeinen Gruppe.

Cox-2-Expression der Stanzpräparate	p53 positiv		p53 negativ	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
Keine Expression	1	33	2	66
Geringe Expression	4	25	12	75
Mäßige Expression	2	20	8	80
Starke Expression	0	0	2	100

Tabelle 45: Cox-2-Expression in Beziehung zu p53 am Stanzpräparat in der Hormontherapiegruppe

Nach der Hormontherapie verhielten sich die Tumoren genau umgekehrt. Je höher das Cox-2-Expressionsstadium, desto höher der Anteil der p53 positiven Tumoren. Der Anteil der p53 positiven Tumoren blieb jedoch immer kleiner gleich 33% (Tabelle 46).

Cox-2-Expression der OP-Präparate	p53 positiv		p53 negativ	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
Keine Expression	0	0	1	100
Geringe Expression	4	19	17	81
Mäßige Expression	2	33	4	67
Starke Expression	0	0	0	0

Tabelle 46: Cox-2-Expression in Relation zu p53 am OP-Präparat in der Hormontherapiegruppe

### 3.8.3 Einfluss der Cox-2-Expression auf den Faktor bcl-2

#### 3.8.3.1 Cox-2-Expression und bcl-2 an Stanze und OP-Präparat

In der Gegenüberstellung der Cox-2-Expression und des bcl-2-Status am Stanzpräparat, unabhängig von der Therapie, zeigte sich, dass in allen Expressionsgruppen mehr als 63% der Tumorzellen bcl-2 positiv waren (Tabelle 47).

Cox-2-Expression der Stanzpräparate	bcl-2 positiv		bcl-2 negativ	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
Keine Expression	8	67	4	33
Geringe Expression	35	78	10	22
Mäßige Expression	19	63	11	37
Starke Expression	4	80	1	20

Tabelle 47: Cox-2-Expression in Beziehung zu bcl-2 am Stanzpräparat

Bei der OP-Gruppe (Tabelle 48) überwogen deutlich die bcl-2 positiven Tumoren ( $\geq 50\%$ ).

Cox-2-Expression der OP-Präparate	bcl-2 positiv		bcl-2 negativ	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
Keine Expression	1	50	1	50
Geringe Expression	36	73	13	27
Mäßige Expression	13	72	5	28
Starke Expression	0	0	0	0

Tabelle 48: Cox-2-Expression in Beziehung zu bcl-2 am OP-Präparat

Des Weiteren wurde das Verhältnis von Cox-2 zu bcl-2 getrennt nach der jeweiligen Therapiegruppe betrachtet.

### 3.8.3.2 Cyclooxygenase-2 und bcl-2 in der Chemotherapiegruppe

Bei den Stanzpräparaten der Chemotherapiegruppe (Tabelle 49) zeigte sich wiederum deutlich der große Anteil von bcl-2 positiven Tumoren ( $\geq 55\%$ ).

Cox-2-Expression der Stanzpräparate	bcl-2 positiv		bcl-2 negativ	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
Keine Expression	6	67	3	33
Geringe Expression	22	76	7	24
Mäßige Expression	11	55	9	45
Starke Expression	2	67	1	33

Tabelle 49: Cox-2-Expression in Beziehung zu bcl-2 am Stanzpräparat in der Chemotherapiegruppe

Die OP-Präparate dieser Gruppe (Tabelle 50) zeigten sogar zu über 60% einen positiven bcl-2-Status an. Das einzige Präparat, das hierbei keine Cox-2-Expression aufwies, war auch bcl-2 positiv.

Cox-2-Expression der OP-Präparate	bcl-2 positiv		bcl-2 negativ	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
Keine Expression	1	100	0	0
Geringe Expression	18	60	12	40
Mäßige Expression	10	77	3	23
Starke Expression	0	0	0	0

Tabelle 50: Cox-2-Expression in Beziehung zu bcl-2 am OP-Präparat in der Chemotherapiegruppe

### 3.8.3.3 Cyclooxygenase-2 und bcl-2 in der Hormontherapiegruppe

Auch in der Hormontherapiegruppe überwogen die bcl-2 positiven Präparate in jeder Cox-2-Expressionsgruppe deutlich mit mehr als 67% (Tabelle 51).

Cox-2-Expression der Stanzpräparate	bcl-2 positiv		bcl-2 negativ	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
Keine Expression	2	67	1	33
Geringe Expression	13	81	3	19
Mäßige Expression	8	80	2	20
Starke Expression	1	100	0	0

Tabelle 51: Cox-2-Expression in Beziehung zu bcl-2 am Stanzpräparat in der Hormontherapiegruppe

In der OP-Präparategruppe (Tabelle 52) waren in der Gruppe geringe und mäßige Cox-2-Expression über 60% bcl-2 positiv.

Cox-2-Expression der OP-Präparate	bcl-2 positiv		bcl-2 negativ	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
Keine Expression	0	0	1	100
Geringe Expression	18	95	1	5
Mäßige Expression	3	60	2	40
Starke Expression	0	0	0	0

Tabelle 52: Cox-2-Expression in Beziehung zu bcl-2 am OP-Präparat in der Hormontherapiegruppe

### 3.8.4 Zusammenhang zwischen der Cyclooxygenase-2-Expression und dem Faktor c-erbB-2

#### 3.8.4.1 Expression von Cox-2 und c-erbB-2 am Stanz- und OP-Präparat

In jedem Cox-2-Expressionsstadium der Stanzpräparate (Tabelle 53) dominierten die c-erbB-2 negativen Tumoren sehr stark ( $\geq 60\%$ ). Die Zahl der c-erbB-2 positiven Karzinome nahm jedoch mit stärkerer Cox-2-Expression zu.

Cox-2-Expression der Stanzpräparate	c-erbB-2 positiv		c-erbB-2 negativ	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
Keine Expression	1	9	10	91
Geringe Expression	9	20	35	80
Mäßige Expression	10	33	20	67
Starke Expression	2	40	3	60

Tabelle 53: Cox-2-Expression in Beziehung zu c-erbB-2 am Stanzpräparat

Die Tumoren nach der Therapie (Tabelle 54) waren überwiegend c-erbB-2 negativ ( $\geq 78\%$ ). Die beiden Präparate mit fehlender Cox-2-Expression waren c-erbB-2 negativ. Die c-erbB-2 positiven Tumoren nahmen ebenfalls, wie schon

bei den Stanzpräparaten, mit steigender Cox-2-Expression zu, jedoch in vergleichsweise geringerem Ausmaß.

Cox-2-Expression der OP-Präparate	c-erbB-2 positiv		c-erbB-2 negativ	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
Keine Expression	0	0	2	100
Geringe Expression	10	20	41	80
Mäßige Expression	4	22	14	78
Starke Expression	0	0	0	0

Tabelle 54: Cox-2-Expression in Beziehung zu c-erbB-2 am OP-Präparat

### 3.8.4.2 Cyclooxygenase-2 und c-erbB-2 in der Chemotherapiegruppe

In der Chemotherapiegruppe der Stanzpräparate (Tabelle 55) sind, wie schon bei der Auswertung der Stanzpräparate unabhängig von der Therapie, pro Cox-2-Expressionsscore mehr als 55% der Präparate c-erbB-2 negativ.

Cox-2-Expression der Stanzpräparate	c-erbB-2 positiv		c-erbB-2 negativ	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
Keine Expression	1	12	7	88
Geringe Expression	7	24	22	76
Mäßige Expression	9	45	11	55
Starke Expression	1	33	2	67

Tabelle 55: Cox-2-Expression in Beziehung zu c-erbB-2 am Stanzpräparat in der Chemotherapiegruppe

Nach der Chemotherapie (Tabelle 56) sind sogar über 66% der Präparate c-erbB-2 negativ. Das einzige Präparat mit fehlender Cox-2-Expression war auch c-erbB-2 negativ. In dieser Gruppe nahm der Anteil der c-erbB-2 positiven Tumoren mit steigender Cox-2-Expression zu.

Cox-2-Expression der OP-Präparate	c-erbB-2 positiv		c-erbB-2 negativ	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
Keine Expression	0	0	1	100
Geringe Expression	8	26	23	74
Mäßige Expression	4	33	8	67
Starke Expression	0	0	0	0

Tabelle 56: Cox-2-Expression in Beziehung zu c-erbB-2 am OP-Präparat in der Chemotherapiegruppe

### 3.8.4.3 Cyclooxygenase-2 und c-erbB-2 in der Hormontherapiegruppe

Die Stanzpräparate der Tumoren, die einer Hormontherapie zugeteilt wurden (Tabelle 57), wiesen zu einem großen Anteil c-erbB-2 negative Zellen auf ( $\geq 50\%$ ).

Cox-2-Expression der Stanzpräparate	c-erbB-2 positiv		c-erbB-2 negativ	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
Keine Expression	0	0	3	100
Geringe Expression	2	13	13	87
Mäßige Expression	1	10	9	90
Starke Expression	1	50	1	50

Tabelle 57: Cox-2-Expression in Beziehung zu c-erbB-2 am Stanzpräparat in der Hormontherapiegruppe

Nach der Hormontherapie (Tabelle 58) wiesen fast alle Tumoren einen c-erbB-2 negativen Status auf. So waren nur 7% aller Tumoren dieser Gruppe c-erbB-2 positiv, dagegen waren es bei den Stanzpräparaten noch 13% gewesen.

Cox-2-Expression der OP-Präparate	c-erbB-2 positiv		c-erbB-2 negativ	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
Keine Expression	0	0	1	100
Geringe Expression	2	10	18	90
Mäßige Expression	0	0	6	100
Starke Expression	0	0	0	0

Tabelle 58: Cox-2-Expression in Beziehung zu c-erbB-2 am OP-Präparat in der Hormontherapiegruppe

### 3.8.5 Beziehung zwischen der Cox-2-Expression und dem Faktor Mib-1

#### 3.8.5.1 Cox-2-Expression und Mib-1 an der Stanze und am OP-Präparat

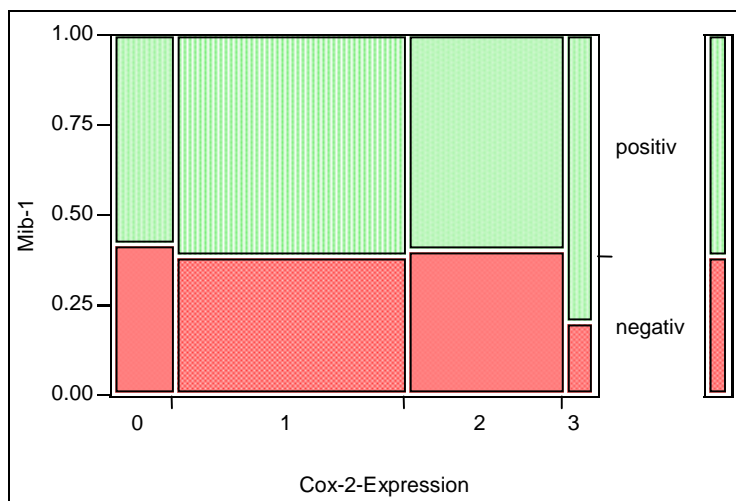
Über 63% der Stanzpräparate waren Mib-1 positiv (Tabelle 59). Dabei waren vor allem bei höheren Cox-2-Expressionsstadien mehr Präparate Mib-1 positiv.

Cox-2-Expression der Stanzpräparate	Mib-1 positiv		Mib-1 negativ	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
Keine Expression	7	58	5	42
Geringe Expression	27	61	17	39
Mäßige Expression	18	60	12	40
Starke Expression	4	80	1	20

Tabelle 59: Cox-2-Expression in Beziehung zu Mib-1 am Stanzpräparat

Die Dominanz der Mib-1 positiven Präparate (grüne Flächen) in jedem Cox-2-Expressionsstadium wird in Abbildung 37 verdeutlicht. Hierbei ist auf der y-Achse der Mib-1-Status und auf der x-Achse die Cox-2-Expression aufgetragen. Die grünen Flächen stellen die Mib-1 positiven Präparate, die roten Flächen die Mib-1 negativen Präparate dar.





**Abbildung 37: Cox-2-Expression und Mib-1 an den Stanzpräparaten**

Nach der neoadjuvanten Therapie (Tabelle 60) waren die meisten Tumoren Mib-1 negativ (78%). Vor allem bei steigendem Cox-2-Expressionsstadium stieg der Anteil der Mib-1 negativen Tumoren stark an.

Cox-2-Expression der OP-Präparate	Mib-1 positiv		Mib-1 negativ	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
<b>Keine Expression</b>	1	50	1	50
<b>Geringe Expression</b>	12	24	39	76
<b>Mäßige Expression</b>	3	16	16	84
<b>Starke Expression</b>	0	0	0	0

**Tabelle 60: Cox-2-Expression in Beziehung zu Mib-1 am OP-Präparat**

Die Umkehrung des Verhältnisses von Mib-1 positivem und Mib-1 negativem Status nach der neoadjuvanten Therapie wird durch die Abbildung 38, in der sich der überwiegend Mib-1 negativen Status (rote Flächen) zeigt, dargestellt. Im Gegensatz dazu wurde in Abbildung 37 der überwiegend Mib-1 positive Status vor der Therapie aufgezeigt.

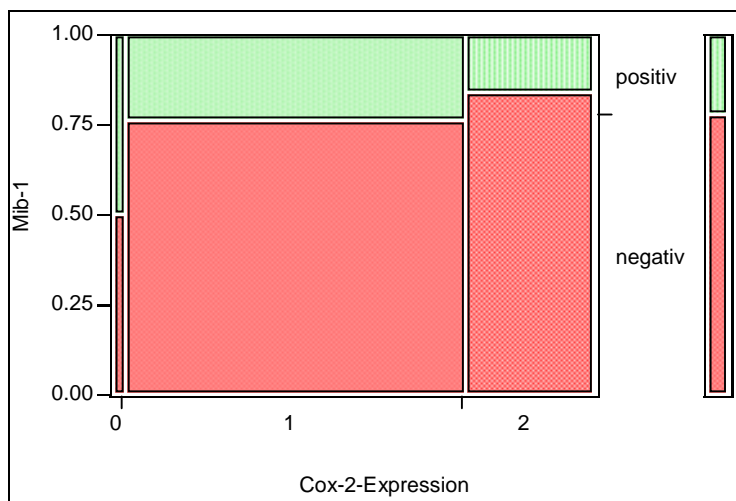


Abbildung 38: Einfluss der Cox-2-Expression auf Mib-1 am OP-Präparat

### 3.8.5.2 Cyclooxygenase-2 und Mib-1 in der Chemotherapiegruppe

In der Gruppe der Chemotherapie der Stanzpräparate (Tabelle 61) überwog deutlich der Mib-1 positive Anteil der Tumoren mit 66%. Alle Tumoren mit starker Cox-2-Expression waren Mib-1 positiv.

Cox-2-Expression der Stanzpräparate	Mib-1 positiv		Mib-1 negativ	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
Keine Expression	6	67	3	33
Geringe Expression	18	62	11	38
Mäßige Expression	13	65	7	35
Starke Expression	3	100	0	0

Tabelle 61: Cox-2-Expression in Beziehung zu Mib-1 am Stanzpräparat in der Chemotherapiegruppe

Nach der Chemotherapie (Tabelle 62) waren 69% der Tumoren Mib-1 negativ. Mit höherer Cox-2-Positivität nahmen diese zu. Das einzige Präparat mit negativer Cox-2-Expression war Mib-1 positiv.

Cox-2-Expression der OP-Präparate	Mib-1 positiv		Mib-1 negativ	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
Keine Expression	1	100	0	0
Geringe Expression	10	32	21	68
Mäßige Expression	3	23	10	77
Starke Expression	0	0	0	0

Tabelle 62: Cox-2-Expression in Beziehung zu Mib-1 am OP-Präparat in der Chemotherapiegruppe

### 3.8.5.3 Cyclooxygenase-2 und Mib-1 in der Hormontherapiegruppe

In der Hormontherapiegruppe der Stanzpräparate (Tabelle 63) war der Anteil der Mib-1 positiven 53%, der der Mib-1 negativen Tumore 47%. Dabei waren bei fehlender Cox-2-Expression mehr Tumoren Mib-1 negativ, dafür bei mäßiger und starker Expression gleich viele positiv und negativ.

Cox-2-Expression der Stanzpräparate	Mib-1 positiv		Mib-1 negativ	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %
Keine Expression	1	33	2	67
Geringe Expression	9	60	6	40
Mäßige Expression	5	50	5	50
Starke Expression	1	50	1	50

Tabelle 63: Cox-2-Expression in Beziehung zu Mib-1 am Stanzpräparat in der Hormontherapiegruppe

Nach der Hormontherapie (Tabelle 64) waren 93% der behandelten Tumoren Mib-1 negativ. Mib-1 positive Tumoren gab es nur bei geringer Cox-2-Expression.

Cox-2-Expression der OP-Präparate	Mib-1 positiv		Mib-1 negativ	
	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit %	Anzahl (n)	Rel.Häufigkeit t %
Keine Expression	0	0	1	100
Geringe Expression	2	10	18	90
Mäßige Expression	0	0	6	100
Starke Expression	0	0	0	0

Tabelle 64: Cox-2-Expression in Beziehung zu Mib-1 am OP-Präparat in der Hormontherapiegruppe

### 3.9 Zusammenhang zwischen der Cox-2-Expression und dem pathologischen Antwortverhalten

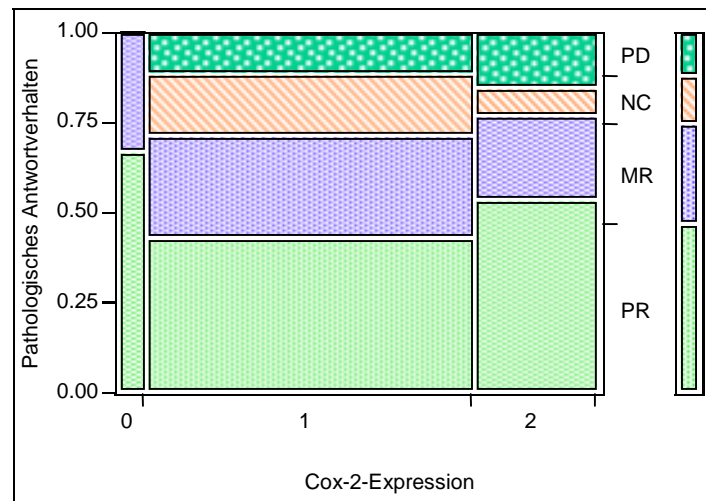
Bei der Gegenüberstellung der Cox-2-Expression und dem pathologischen Antwortverhalten beim Chemotherapiekollektiv (Tabelle 65), ist auffallend, dass bei partieller oder geringer Remission (PR oder MR) Präparate ohne Cox-2-Expression vorlagen, bei einem Tumorstillstand oder einer Progression (NC oder PD) jedoch immer Cox-2 exprimiert wurde.

	pCR	PR	MR	NC	PD
Keine Expression	0 (0%)	2 (67%)	1 (33%)	0 (0%)	0 (0%)
Geringe Expression	0 (0%)	15 (43%)	10 (29%)	6 (17%)	4 (11%)
Mäßige Expression	0 (0%)	7 (54%)	3 (23%)	1 (8%)	2 (15%)
Starke Expression	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

Tabelle 65: pathologisches Antwortverhalten in Relation zur Cox-2-Expression in der Chemotherapiegruppe

In Abbildung 39 ist über die y-Achse das pathologische Antwortverhalten aufgezeichnet. Dabei entspricht eine partielle Remission (PR) den grünen Flächen, eine geringe Remission (MR) den blauen Flächen, ein Tumorstillstand (NC) den orangefarbenen Flächen und eine Tumorprogression (PD) den dunkelgrünen Flächen mit weißen Punkten. Über der x-Achse ist die Cox-2-

Expression aufgetragen. Hier entspricht die linke Spalte einer fehlenden Cox-2-Expression (0), die mittlere Spalte einer geringen Cox-2-Expression (1) und die rechte Spalte einer mäßigen Cox-2-Expression (2). Es wird gezeigt, dass in jedem Cox-2-Expressionsstadium die partielle Remission (grüne Flächen) den größten Anteil ausmachte. Gefolgt wurde diese von der geringen Remission (blaue Flächen). Tumorstillstand (orangefarbene Flächen) und Tumorprogression (dunkelgrüne Flächen mit weißen Punkten) fanden sich nur bei geringer oder mäßiger Cox-2-Expression. Da jedoch bei fehlender Cox-2-Expression nur drei Präparate vorlagen, ist die Tendenz, dass sich Tumorstillstand und Tumorprogression in dieser Expressionsgruppe nicht finden, eher Zufall.



**Abbildung 39: Zusammenhang zwischen der Cox-2-Expression und dem pathologischen Antwortverhalten im Chemotherapiekollektiv**

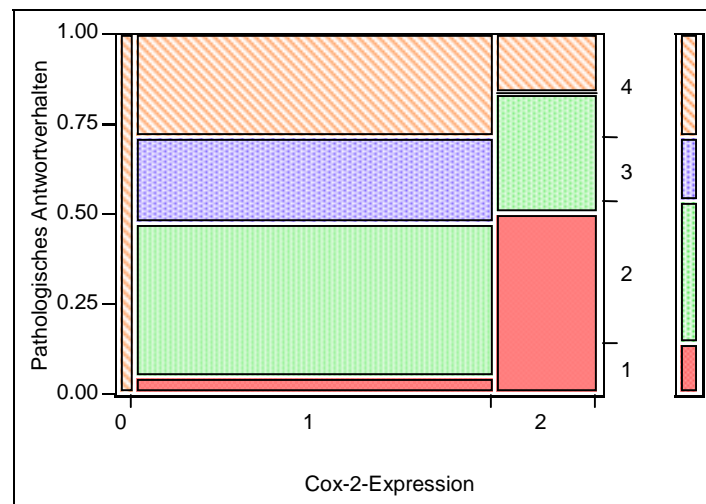
Im Kollektiv der Hormontherapie (Tabelle 66) sieht man dagegen, dass Patientinnen mit einem pathologischen Antwortverhalten PR, MR und NC immer eine Cox-2-Expression aufwiesen. Bei den Präparaten von Patientinnen mit einem pathologischen Antwortverhalten PD überwog die geringe Expression von Cox-2, doch es gab auch Präparate mit fehlender, sowie einer mäßigen Expression.

## Ergebnisse

	pCR	PR	MR	NC	PD
<b>Keine Expression</b>	0 (0%)	0(0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (100%)
<b>Geringe Expression</b>	0 (0%)	1 (5%)	9 (43%)	5 (24%)	6 (29%)
<b>Mäßige Expression</b>	0 (0%)	3 (50%)	2 (33%)	0 (0%)	1 (17%)
<b>Starke Expression</b>	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

**Tabelle 66: pathologisches Antwortverhalten in Relation zur Cox-2-Expression in der Hormontherapiegruppe**

In Abbildung 40 zeigt sich, dass der größte Anteil der Präparate bei geringer Cox-2-Expression (mittlere Spalte) eine geringe Remission (grüne Flächen) aufwies, dagegen bei mäßiger Expression (rechte Spalte) wiederum die partielle Remission (rote Fläche) überwog. Bei negativer Cox-2-Expression (linke Spalte) gab es nur ein Präparat dieses hatte jedoch eine Tumorprogression (orangefarbene Fläche).



**Abbildung 40: Zusammenhang zwischen der Cox-2-Expression und dem pathologischen Antwortverhalten im Hormontherapiekollektiv**

## 4 Diskussion

### 4.1 Färbeverhalten des Cox-2-Antikörpers

Der verwendete Antikörper färbte neben Tumorgewebe auch gesunde Brustdrüsenzellen an. Dieses Färbeverhalten wurde auch von Denkert et al, Half et al, Spizzo et al, Soslow et al und Tan et al [51, 54, 55, 58, 61] beschrieben. Keine Anfärbung von gesunden Brustdrüsenzellen fanden dagegen Parrett et al, Davies et al und Takeshita et al [47, 53, 71].

	<b>Granulär</b>	<b>Cytoplasmatisch</b>	<b>Nukleär</b>
Costa et al [52]		+	
Davies et al [53]	+	+	+
Denkert et al [54]	+	+	+
Ferrandina et al [72]		+	+
Half et al [55]	+	+	
Kelly et al [73]	+	+	
Ristimäki et al [57]		+	
Soslow et al [51]	+	+	
Takeshita et al [71]	+	+	+
Tan et al [61]	+	+	
Wülfing et al [60]		+	
Leibbrand et al	+	+	+

**Tabelle 67: Vergleich der Tumorfärbeverhalten verschiedener Arbeiten**

Die Färbung der Präparate stellte sich granulär, cytoplasmatisch und nukleär dar (Tabelle 67). Eine granuläre Färbung fand sich auch bei Davies et al, Denkert et al, Half et al, Soslow et al, Kelly et al, Takeshita et al und Tan et al [51, 53-55, 61, 71, 73]. Eine cytoplasmatische Färbung wurde bei Ferrandina et al, Tan et al, Takeshita et al, Kelly et al, Ristimäki et al, Wülfing et al, Soslow et al, Half et al, Denkert et al, Davies et al und Costa et al festgestellt [51-55, 57, 60, 61, 71-73]. Eine nukleäre Färbung wurde bei Davies et al, Denkert et al, Takeshita et al und Ferrandina et al beschrieben [53, 54, 71, 74].

Dies zeigt, dass Davies et al, Denkert et al und Takeshita et al genau dasselbe Färbemuster nachweisen konnten, wie in dieser Arbeit beschrieben wurde [53, 54, 71] (Tabelle 67).

	Adipo- zyten	Neutrophile Granulo- zyten	Makro- phagen	Fibro- zyten	Nerven- zellen	Endo- thel	Glatte Muskel- zellen
Costa et al [52]				-		-	
Davies et al [53]				-		+	
Ferrandina et al [75]			+	+		+	
Half et al [55]				+			
Hull et al [76]			+				
Hwang et al [49]				+		+	+
Kelly et al [73]				+			
Ristimäki et al [57]				-			
Soslow et al [51]					+	+	
Takeshita et al [71]			+	+		+	
Wülfing et al [60]				-			

**Tabelle 68: Vergleich der Färbung von Zellbestandteilen durch Cox-2-Antikörper verschiedener Autoren**



Des Weiteren lagerte sich der verwendete Cox-2-Antikörper in den Präparaten an Adipozyten, in neutrophilen Granulozyten, an Makrophagen, in regelhaftem Epithel, an Fibrozyten sowie an Nervenzellen ab. In Tabelle 68 wurde das Verhalten des Cox-2-Antikörpers anderer Arbeiten zusammengefasst. In keiner dieser Arbeiten wurde eine Färbung von Adipozyten und neutrophilen Granulozyten beschrieben.

Der verwendete Cox-2-Antikörper färbte auch duktale Carcinomata in situ an. Dieser Nachweis wurde auch bei Soslow et al und Half et al beschrieben [51, 55]. Soslow et al fanden gleichzeitig heraus, dass nicht nur DCIS, sondern auch die Vorstufen von Lungen- und Kolonkarzinomen stärker angefärbt wurden als ihre invasiven Karzinome. Dies lässt ihn vermuten, dass die Cox-2 Überexpression ein relativ frühes Phänomen im Prozess der malignen Transformation sein muss. Durch Cox-2-Aktivität entstandene Metabolite könnten die Apoptoseresistenz erhöhen [77, 78], die Angiogenese fördern [79] und die Immunüberwachung beeinträchtigen [80].

Es ist auffallend, dass die meisten Arbeiten ein unterschiedliches Färbeverhalten des Cox-2-Antikörpers beschreiben. Garewal et al untersuchten das immunhistochemische Färbeverhalten von drei unterschiedlichen, käuflichen Cox-2-Antikörpern an menschlichem Kolongewebe [81]. Dabei fanden sie heraus, dass das Färbemuster von diffus cytoplasmatisch bis zu vereinzelter perinucleärer Färbung reichte. Dies zeigt, dass die immunhistochemische Cox-2-Färbung stark vom verwendeten Antikörper und darüber hinaus auch vom Färbeprotokoll abhängt. Der in der vorliegenden Arbeit verwendete Cox-2-Antikörper von Alexis Biochemicals fand bei keiner anderen Studie Anwendung. Die Ursache für die große Heterogenität der Anfärbbarkeit der verschiedenen Antikörper sollte in weiteren Studien untersucht werden, um zuverlässige und vergleichbare Ergebnisse zu erzielen. Des Weiteren ist zu überlegen, bei weiterer Forschung einen oft verwendeten Cox-2-Antikörper zu benutzen, um die immunhistochemischen Färbeergebnisse besser vergleichbar zu machen.

## **4.2 Die Cox-2-Expression am Stanzpräparat, sowie die Cox-2-Expressionsänderung unter primär systemischer Therapie**

Am Stanzpräparat exprimierten insgesamt 87% aller Tumoren Cox-2. Solch eine hohe Cox-2-Expressionsrate konnten auch andere Forschergruppen nachweisen [49, 53, 57, 61, 73, 82, 83]. Dass viele andere Studien jedoch weit geringere Cox-2-Expressionsraten aufweisen konnten, könnte an deren kleinem Patientinnenkollektiv liegen [51, 52, 55, 58, 71]. Außerdem muss man beachten, dass bei der vorliegenden Untersuchung jegliche Cox-2-Expression gewertet wurde, da die Cox-2 physiologischerweise nicht oder nur in sehr geringen Mengen in den menschlichen Zellen vorkommt. Sie wird vor allem durch Schmerz- und Entzündungsprozesse in den Zellen hervorgerufen. Ristimäki et al sowie Wülfing et al werteten dagegen nur mäßige und starke Cox-2-Expression als Cox-2-Überexpression [57, 60]. Daher wurden nur knapp 50% ihrer Tumoren als Cox-2 positiv eingestuft [57, 60]. In der vorliegenden Arbeit waren 85% der Tumoren aus der Chemotherapiegruppe und 90% der Tumoren aus der Hormontherapiegruppe Cox-2 positiv. Dabei waren alle Cox-2-Expressionslevel vertreten. Die getrennte Auswertung der Cox-2 positiven Tumoren erfolgte zur besseren Bewertung der Therapieoptionen. Nach der Therapie stieg der Anteil der Cox-2 exprimierenden Tumoren durchschnittlich auf 94% an. Er betrug in der Chemotherapiegruppe 94%, in der Hormontherapiegruppe 97%. Dabei wurde eine starke Cox-2-Expression nicht mehr nachgewiesen. Nach einer Chemotherapie stieg der Anteil der Cox-2 produzierenden Tumoren jedoch stärker an (+8%) als nach einer Hormontherapie (+6%). Dies spricht dafür, dass durch die Hormontherapie die Aromataseaktivität gedrosselt wird und somit auch über die geringere Östradiolproduktion weniger Cox-2 exprimiert wird. Zusätzlich muss jedoch bedacht werden, dass die Cox-2-Expression auch durch Wachstumsfaktoren, Tumornekrosefaktor  $\alpha$ , TGF  $\beta$  und Cytokine [38], sowie einige Onkogene, wie Her-2/neu, v-src, v-Ha-ras und Wnt [39-43] induziert wird. Somit könnte der Einfluss dieser Faktoren größer auf die Cox-2-Expression sein als der Einfluss des Östradiols. Dafür spricht der geringe Unterschied zwischen der Hormon- und Chemotherapiegruppe bezüglich der Cox-2-Expression sowie die gleichen Cox-2-Expressionsänderung unter der jeweiligen Therapie. In beiden Therapiegruppen fand sich am häufigsten das Gleichbleiben einer geringen

Cox-2-Expression, gefolgt von einer Veränderung einer mäßigen Expression zu einer geringen Cox-2-Expression nach Therapie. Beides stützt die These, dass keine Therapie einen besseren Einfluss auf die Cox-2-Expression hat.

Ferrandina et al untersuchten das Ansprechen auf eine neoadjuvante Therapie beim Zervixkarzinom [72, 75]. Dabei stellten sie fest, dass Cox-2 signifikant höher bei Patientinnen war, die nicht auf die Therapie ansprachen. Die Cyclooxygenase-2-Levels sind nach ihren Untersuchungen stark mit der Tumorempfindlichkeit gegenüber einer neoadjuvanten Therapie assoziiert. Somit könnte durch die Bestimmung von Cox-2 beim Zervixkarzinom auf das Ansprechen der primär systemischen Therapie geschlossen werden [72, 75]. Ob diese Ergebnisse auf das Mammakarzinom übertragbar sind, ist nach den vorliegenden Untersuchungen fraglich. Half et al untersuchten den Unterschied der Cox-2-Expression beim Mammakarzinom mit und ohne neoadjuvanter Therapie [55]. Ihre Ergebnisse zeigten keinen Unterschied in der Cox-2-Expression durch die neoadjuvante Therapie [55] und decken sich somit mit unseren Befunden.

### **4.3 Cox-2-Expression und Alter**

#### **4.3.1 Altersverteilung**

Je älter die Patientinnen waren, desto größer war der Anteil der Tumoren, die keine oder eine geringe Cox-2-Expression bei den Stanzpräparaten hatten. Der Anteil der mäßig Cox-2 exprimierenden Karzinome nahm mit dem Alter ab. Bei den OP-Präparaten sowie bei den stark Cox-2 exprimierenden Tumoren bei den Stanzpräparaten zeigten sich jedoch keine Tendenz bezüglich des Alters. Keinen Zusammenhang zwischen dem Alter und der Cox-2-Expression bestätigten auch andere Arbeiten [52, 54, 55, 71, 84]. O`Connor et al konnten lediglich nachweisen, dass Frauen, die jünger als 40 Jahre waren, Tumoren mit höherer Cox-2-Expression hatten, als Frauen über 40 Jahre [84].

#### **4.3.2 Prä- und Postmenopausenstatus**

Wie auch bei Half et al und Ristimäki et al konnte in diesem Patientinnenkollektiv keine Verbindung zwischen der Cox-2-Expression und

dem Prä- und Postmenopausenstatus festgestellt werden [55, 57]. Spizzo et al dagegen fanden heraus, dass die Cox-2-Überexpression mit dem Menopausenstatus signifikant korreliert [58]. Da im Postmenopausenstatus die Östrogenkonzentration stark abfällt, wird auch der Kreislauf zwischen Östrogen und Cox-2-Expression reduziert. Vor allem stehen weniger Androgene für eine Aromatisierung zu Östrogen zur Verfügung. So könnte sich erklären, dass im Postmenopausenstatus keine erhöhte Cox-2-Expression vorliegt.

## **4.4 Cox-2-Expression und T-Stadium, Tumorgröße, N-Stadium**

### **4.4.1 T-Stadium**

Bei den vorliegenden Ergebnissen zeigte sich, dass die mäßige Cox-2-Expression von T 1 zu T 4 stetig, jedoch nicht gleichmäßig abnahm, dagegen die geringe Cox-2-Expression zunahm. Dies zeigt eine starke Tendenz auf, welche wir jedoch nicht statistisch belegen konnten. Half et al und O'Connor et al [55, 84] konnten jedoch auch keinen Zusammenhang herstellen. Dagegen stellten Wülfing et al eine Beziehung zwischen der Cox-2-Expression und einem höheren pT-Stadium fest [60]. In der vorliegenden Arbeit wurde davon ausgegangen, dass jegliche Cox-2-Expression eine Überexpression von Cox-2 bedeutet. Bei der Voraussetzung, dass bei größeren Tumoren mehr Cox-2 produziert wird, müsste mit steigendem pT-Stadium die negative Cox-2-Expression abnehmen. Die geringe bis starke Cox-2-Expression dagegen müsste zunehmen. Dass dies nicht der Fall ist, stärkt die Theorie, dass die Cyclooxygenase-2-Expression ein frühes Ereignis in der Tumorgenese ist. Dafür spricht auch die Expression von Cox-2 vor allem bei DCIS [51, 55, 59]. Dies könnte auch die fehlende Cox-2-Expression im T1-Stadium erklären.

### **4.4.2 Tumorgröße**

An den OP-Präparaten der vorliegenden Studie nahm die Cox-2-Expression mit Zunahme der Tumorgröße ab. Half et al, Sowlow et al und Watanabe et al schlussfolgerten aus ihren Untersuchungen, dass die Cox-2-Expression ein frühes Ereignis in der Tumorgenese sein muss [51, 55, 59]. Da jedoch ein Tumor mit dem Fortschreiten der Tumorgenese wächst, könnte dies erklären,

warum in der vorliegenden Arbeit die Cox-2-Expression mit der Zunahme der Tumorgröße abnahm. In anderen Arbeiten wurde dagegen nachgewiesen, dass die Cox-2-Expression mit der Tumorgröße zunahm [54, 57]. Die meisten Arbeiten fanden keinen Zusammenhang zwischen der Cox-2-Expression und der Tumorgröße [53, 58, 73, 84, 85].

### **4.4.3 N-Stadium**

In dieser Arbeit konnte die Tendenz aufgezeigt werden, dass bei höhergradigem Lymphknotenstatus der Anteil der Tumoren mit fehlender und geringer Cox-2-Expression steigt, wogegen der Anteil der Tumoren, die Cox-2 mäßig exprimieren, mit steigendem N-Stadium abnimmt. Dies lässt vermuten, dass Tumoren mit hohem lymphogenen Metastasierungspotential die Cox-2-Expression supprimieren. Die meisten Arbeiten konnten keine Verbindung zwischen der Cox-2-Expression und dem N-Stadium feststellen [53, 58, 71, 73, 84]. Da das N-Stadium bewiesenermaßen ein negativer Prognosefaktor ist, würde der sinkende Anteil einer Cox-2-Expression mit steigendem N-Status eher dagegen sprechen, dass Cox-2 ein negativer Prognosefaktor ist. Das N-Stadium allein jedoch kann diese Frage nicht beantworten.

## **4.5 Die Cox-2-Expression und die histologische Gruppe**

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigten keinen Zusammenhang zwischen der Cox-2-Expression und der histologischen Gruppe. Dies stimmt mit dem Ergebnis vieler Arbeiten überein [52, 53, 59, 60, 73, 84, 85]. Dagegen bestand bei Denkert et al, Ristimäki et al, Spizzo et al und Takeshita et al eine Beziehung zwischen der Cox-2-Expression und den histologischen Tumortypen [54, 57, 58, 71]. Herausstechend bei den vorliegenden Ergebnissen war, dass aufgeteilt in Stanz- und OP-Präparategruppe, mindestens 80% der Tumoren Cox-2 exprimierten. Dabei exprimierten anteilig mehr invasive duktales Karzinome Cox-2 als die Vorstufe das duktales Carcinoma in situ. Dies widerspricht den Ergebnissen von Half et al, Soslow et al und Watanabe et al [51, 55, 59], bei denen die Cox-2-Expression in DCIS deutlich überwog und worauf sie ihre Theorie bauten, dass die Cox-2-Expression ein früher Prozess in der

Tumorgenese sei. Watanabe et al deuteten dieses Ergebnis als direkten Zusammenhang zwischen der Cox-2-Expression und dem Grad der Tumordifferenzierung [59].

#### **4.6 Die Cox-2-Expression und das Grading**

Die Cox-2-Expression und das Grading standen in den beobachteten Präparaten in keinem Zusammenhang. Einzig das Überwiegen der geringen Cox-2-Expression in den Gradingstadien G1 bis G3 bei den Stanz- sowie den OP-Präparaten fiel auf. Auch bei Watanabe et al überwogen in den Gradingstadien G1 bis G3 die geringe Cox-2-Expression, doch konnten sie wie bei der vorliegenden Studie keinen Zusammenhang zwischen der Cox-2-Expression und dem Grading finden [59]. Keine Verbindung zwischen der Cox-2-Expression und dem Grading sahen auch viele andere Forschergruppen [52, 53, 55, 58, 59, 73, 84, 85]. Dagegen konnten Denkert et al , Ristimäki et al (in der Subgruppe der duktaalen Karzinome), Takeshita et al (G1 und G2 versus G3) und Wülfing et al einen signifikanten Zusammenhang zwischen der Cox-2-Expression und schlecht differenzierten Tumoren aufzeigen [54, 57, 60, 71]. Dieses Ergebnis bestärkte ihre Vermutung, dass die Cyclooxygenase-2 ein schlechter Prognosefaktor beim Mammakarzinom sein muss. Einen signifikanten Zusammenhang zwischen der Cox-2-Expression und gut differenzierten Tumoren (DCIS) sahen Tan et al [61]. Ihre Erklärung ist, dass Cox-2 vor allem in einem frühen Stadium der Tumorgenese gebildet wird und somit die Cox-2-Expression in gut differenzierten Tumoren höher sein muss, als in schlecht differenzierten Tumoren.

#### **4.7 Die Cox-2-Expression in Beziehung zu den Prognosefaktoren des Mammakarzinoms**

##### **4.7.1 Östrogenrezeptorstatus und Cox-2-Expression**

Das Überwiegen des positiven Östrogenrezeptorstatus bei den Stanzpräparaten bei allen Cox-2-Expressionsstadien sowie bei geringer bis starker Cox-2-Expression bei den OP-Präparaten, erklärt sich durch die

Stimulation der Cox-2-Expression durch Östrogen. Dass bei den OP-Präparaten bei fehlender Cox-2-Expression zu 50% Östrogenrezeptoren gebildet wurden könnte für eine therapiebedingte Selektion sprechen. Dies müsste jedoch mit einem größeren Patientinnenkollektiv untersucht werden. Bei Denkert et al und Wülfing et al korrelierte die Cox-2-Expression mit einem negativen Östrogenrezeptorstatus [54, 60]. Die meisten Studien sahen keinen Zusammenhang zwischen der Cox-2-Expression und dem Östrogenrezeptorstatus [52, 53, 58, 59, 71, 73, 84-86].

### **4.7.2 Progesteronrezeptorstatus und Cox-2-Expression**

Der negative Progesteronrezeptorstatus überwog in den dargestellten Ergebnissen bei den Stanz- sowie bei den OP-Präparaten. Einzig bei geringer Cox-2-Expression überwog der positive Progesteronrezeptorstatus bei den Stanzpräparaten. Ein Zusammenhang konnte in der vorliegenden Studie aber genauso wenig wie bei Davies et al, Kelly et al, O`Connor et al, Spizzo et al und Takeshita et al herausgearbeitet werden [53, 58, 71, 73, 84]. Nakopoulou et al dagegen stellten eine Verbindung zwischen der Cox-2-Expression und einem positiven Progesteronrezeptorstatus her [83]. So konnten auch Singh-Ranger et al nachweisen, dass Cox-2 mRNA mit einem positiven Progesteronrezeptorstatus korreliert [86]. Wülfing et al dagegen sahen eine Interaktion zwischen der Cox-2-Expression und einem negativen Progesteronrezeptorstatus, weshalb sie ihre These unterstützt sahen, dass Cox-2 ein negativer Prognosefaktor sei [60].

### **4.7.3 Hormonrezeptorstatus und Cox-2-Expression**

Der positive Hormonrezeptorstatus in allen Stanzpräparaten sowie bei den OP-Präparaten bei geringer bis starker Cox-2-Expression erklärt sich durch die Stimulierung der Cox-2-Expression durch Östrogen. Die Hormonrezeptor-negativen OP-Präparate bei fehlender Cox-2-Expression weisen auf eine Selektion durch die neoadjuvante Therapie hin. Ein Zusammenhang konnte jedoch genauso wenig wie bei Half et al dargestellt werden [55]. Ristimäki et al konnten dagegen eine Verbindung zwischen der Cox-2-Expression und einem negativen Hormonrezeptorstatus aufstellen [57]. Dieser Zusammenhang würde

darauf schließen lassen, dass die Cyclooxygenase-2 ein negativer Prognosefaktor für das Mammakarzinom ist. Die überwiegende Mehrzahl der Untersuchungen zur Korrelation von Cox-2 und Hormonrezeptoren konnten keine Abhängigkeit darstellen.

### **4.7.4 Tumorsuppressorgen p53 und Cox-2-Expression**

In der vorliegenden Untersuchung nahm der Anteil der p53 negativen Präparate mit stärkerer Cox-2-Expression zu. Dies ist eine Tendenz eines umgekehrten Zusammenhangs. Nakapoulou et al wiesen eine umgekehrte Beziehung der Cox-2-Expression mit der p53-Expression nach [83]. Eine Überexpression von p53 wird mit einem verminderten Ansprechen auf Therapien in Verbindung gebracht [87, 88]. Der steigende Anteil p53 positiver Präparate bei höhergradiger Cox-2-Expression in der Hormontherapiegruppe der vorliegenden Untersuchung nach neoadjuvanter Therapie im Gegensatz zur Chemotherapiegruppe könnte dafür sprechen, dass p53 positive Tumoren besser auf Chemo- als auf Hormontherapie ansprechen. Je höher das Cox-2-Expressionsstadium ist, desto mehr wird der p53-Tumorsuppressorgenstatus durch die Therapie verändert. Einen Zusammenhang konnte in dieser Studie genauso wie Costa et al nicht nachgewiesen werden [52]. Bei Ristimäki et al dagegen trat die Cox-2-Expression bei einer hohen p53-Expression auf [57].

### **4.7.5 Faktor bcl-2 und Cox-2-Expression**

Der in der vorliegenden Arbeit beobachtete Anstieg bcl-2 positiver Tumoren bei Cox-2-Expression deckt sich mit den Ergebnissen von Liu et al und Sheng et al [89, 90]. Nach ihren Untersuchungen steigt in Cox-2 induziertem Tumorgewebe bcl-2 an, da die Überproduktion von Cox-2 bei vorhandener Arachidonsäure die Prostaglandinsynthese erhöht [89, 90]. Vor allem das Prostaglandin E<sub>2</sub> induziert dabei bcl-2. Da dadurch die Apoptose gesenkt wird, schreitet die Tumorgenese fort. Nach Lipponen et al dagegen wird der bcl-2 Status beim Mammakarzinom mit einer günstigen Prognose assoziiert [91].

Nach Coultas et al und Kleibl et al können erhöhte bcl-2-Levels die Zelle vor diversen Zelltodstimuli, z.B. Anticancer drugs und Bestrahlung, schützen [92,



93]. Nach neoadjuvanter Chemotherapie stieg bei mäßiger Cox-2-Expression der Anteil der bcl-2 positiven Tumoren, dagegen sank der Anteil bei geringer Cox-2-Expression, was für einen gewissen Schutz der Zelle durch bcl-2 sprechen würde. Nach einer Hormontherapie stieg der Anteil der bcl-2-negativen Karzinome bei mäßiger Cox-2-Expression. Zudem war der Tumor bei negativer Cox-2-Expression bcl-2 negativ. Dies spricht dafür, dass bei einer Hemmung der Aromatase durch die Aromataseinhibitoren auch die Prostaglandinsynthese gehemmt wird, und damit weniger oder kein bcl-2 mehr produziert wird.

### **4.7.6 Faktor c-erbB-2 und Cox-2-Expression**

In allen Cox-2-Expressionsstadien überwog deutlich der negative c-erbB-2-Status. Auffallend war, dass bei den Stanzpräparaten, sowie nach einer neoadjuvanten Chemotherapie, der positive c-erbB-2-Status mit stärkerer Cox-2-Expression anstieg. Eine Abhängigkeit konnte aber nicht gezeigt werden, was zahlreichen anderen Studien entspricht [52-55, 58, 59, 85]. Dagegen beschreiben einige Untersucher einen Zusammenhang zwischen der Cox-2-Expression und Her-2/neu positiven Tumoren [25, 57, 60, 94]. Nach Nakopoulou et al korrelierte Cox-2 umgekehrt mit c-erbB-2 in den Stromazellen des Tumors [83]. In Studien an Kolonkarzinomen wurde gezeigt, dass Her2/neu in die Regulation der Cox-2 Überexpression involviert ist [95]. Somit wäre der Anstieg des positiven c-erbB-2-Status bei stärkerer Cox-2-Expression erklärbar. Da c-erbB-2 ein Prognosefaktor für kürzeres Überleben, schlechtere Kurzzeitprognose sowie hohe Metastasierungsrate ist, könnte ein Anstieg des positiven c-erbB-2-Status bei höherer Cox-2-Expression bedeuten, dass die Cox-2-Expression ein negativer Prognosefaktor ist. Ob dieser der c-erbB-2-Expression überlegen oder gleichwertig ist, muss in weiteren Studien analysiert werden.

### **4.7.7 Faktor Mib-1 und Cox-2-Expression**

Nach Dowsett et al müsste der starke Abfall der Mib-1 positiven Tumoren in der vorliegenden Arbeit nach endokriner Therapie für den starken Effekt dieser

neoadjuvanten Therapie stehen [96]. Der starke Abfall der Mib-1 spricht nach Chang et al für die objektive Tumorresponse [97]. Da die einzigen zwei Mib-1 positiven Präparate nach neoadjuvanter Hormontherapie eine geringe Cox-2-Expression zeigten, könnte dies darauf hinweisen, dass die Cox-2 doch kein negativer Prognosefaktor ist, da vor der neoadjuvanten endokrinen Therapie noch Mib-1 positive Tumore mit geringer, mäßiger und starker Cox-2-Expression vorhanden waren. Zwischen Mib-1 und der Cyclooxygenase-2 konnte in dieser wie in vielen anderen Studien keine gesicherte Assoziation sondern nur Tendenzen aufgezeigt werden [52-54]. Der höhere Anteil Mib-1 negativer Tumoren nach Therapieende entspricht der Erwartung, dass gerade rasch proliferierende Zellklone durch die Therapie eliminiert werden konnten. Dagegen zeigte sich bei Ristimäki et al und Wülfing et al eine deutliche Beziehung zwischen Cox-2 und dem Proliferationsmarker Mib-1 [57, 60].

### **4.8 Cox-2-Expression und pathologisches Antwortverhalten**

Das pathologische Antwortverhalten gibt über den Erfolg einer Therapie Auskunft. So zeigte sich im Chemotherapiekollektiv, dass bei partieller oder geringer Remission Präparate ohne Cox-2-Expression vorlagen, bei einem Tumorstillstand oder einer Progression jedoch immer Cox-2 exprimiert wurde. Im Kollektiv der Hormontherapie sah man dagegen, dass Patientinnen mit einer partiellen und geringen Remission sowie einem Tumorstillstand immer eine Cox-2-Expression aufwiesen. Bei den Präparaten von Patientinnen mit einem Tumorwachstum überwog die geringe Expression, doch zeigte sich auch eine negative sowie eine mäßige Expression. Diese Ergebnisse zeigen einen Zusammenhang zwischen der Cox-2-Expression und dem pathologischen Antwortverhalten in der Hormontherapiegruppe auf. Brodie et al dagegen fanden keine Verbindung zwischen dem pathologischen Antwortverhalten und der Cox-2-Expression [22]. Genauso konnten sie keine Assoziation bezüglich des pathologischen Antwortverhaltens und der Art der Therapie, also einer Chemo- oder Hormontherapie, ausmachen [22]. Da Brodie et al sowie Brueggemeier et al einen positiven Zusammenhang zwischen der Cox-2-Expression und der Aromataseexpression beim Mammakarzinom fanden, müssten Tumoren, die auf eine Hormontherapie ansprechen, ein gutes

pathologisches Antwortverhalten aufzeigen [22, 98]. Mit dem Sinken der Aromataseexpression müsste auch die Cox-2-Expression sinken. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen jedoch, dass bei der partiellen Remission kein einziger Tumor eine negative Cox-2-Expression aufwies sondern die mäßige Cox-2-Expression überwog. Das einzige Präparat mit fehlender Cox-2-Expression hat einen Tumorprogress. Bei einer minimalen Response sowie bei einem Tumorstillstand überwog die geringe Cox-2-Expression. Dieses Ergebnis könnte daran liegen, dass einmal das Kollektiv von 28 Tumoren in der Hormontherapiegruppe nicht aussagekräftig ist. Zum anderen gibt es in dem Hormontherapiekollektiv keine pathologische Komplettremission sowie nur 4 Tumoren mit einer partiellen Remission. Es muss auch daran gedacht werden, dass nicht jeder Aromataseinhibitor gleich effektiv sein könnte, also die Aromatase nicht bei jedem Aromataseinhibitor gleich gedrosselt wird. Somit relativiert sich die Annahme, dass bei Voraussetzung eines stark positiven Zusammenhangs der Aromatase und der Cox-2 in der Tumorzelle durch eine Hormontherapie eine pathologische Remission des Tumors erreicht werden müsste. Es könnte jedoch auch die These aufgestellt werden, dass die Cox-2-Expression nicht so stark durch Östradiol wie durch Wachstumsfaktoren, Onkogene oder Tumornekrosefaktoren beeinflusst wird. Somit würde eine Aromataseinhibition die Östradiolproduktion zwar hemmen, jedoch durch Wachstumsfaktoren, Onkogene oder Tumornekrosefaktoren die Cox-2-Expression weiter stark aktiviert werden.

## 5 Zusammenfassung

Die Untersuchung der Expression der Cyclooxygenase-2 bei Mammakarzinompatientinnen unter primär systemischer Therapie mit Aromataseinhibitoren und Chemotherapie eröffnet einen weiteren Bereich der Cox-2-Forschung. In der vorliegenden Arbeit wurde die Cox-2-Expression immunhistochemisch nachgewiesen. Erstmals wurde die Anfärbung von Adipozyten und neutrophilen Granulozyten beobachtet.

Unter neoadjuvanter Therapie trat in beiden Behandlungsgruppen (Chemotherapie und Hormontherapie) ein Anstieg der Cox-2-Expression auf, welcher jedoch nach einer Chemotherapie ausgeprägter war. Somit zeigte sich hier der Effekt der Hormontherapie, die durch die Aromataseinhibition die Cox-2-Expression drosselt. Der Effekt der primär systemischen Therapie, vor allem der Unterschied zwischen der Chemo- und der Hormontherapie, ist jedoch nicht so groß wie erwartet.

Zwischen der Cox-2-Expression und der Altersverteilung, dem Menopausenstatus, dem T-Stadium sowie dem N-Stadium konnte keine Beziehung hergestellt werden. Die Tumorgöße nach neoadjuvanter Therapie hatte jedoch einen Einfluß auf die Cox-2-Expression. So nahm die Cox-2-Expression mit Zunahme der Tumorgöße ab. Dieses Verhalten könnte darauf hinweisen, dass die Cox-2-Expression vor allem in der frühen Tumorgenese eine bedeutende Rolle spielt. Gegen die Theorie, dass die Cox-2-Expression ein frühes Ereignis der Tumorgenese ist, sprechen in der vorliegenden Arbeit jedoch Ergebnisse, bei denen anteilig mehr invasive Karzinome als DCIS Cox-2 exprimierten. Der genaue Wirkmechanismus der Cox-2-Expression bei der Tumorgenese ist jedoch noch nicht geklärt.

Es konnten zwischen der Cox-2-Expression und den ER- und PgR-Rezeptoren, p53, bcl-2, c-erbB-2 und Mib-1 teilweise Tendenzen aufgezeigt werden. Definitive Aussagen über entsprechende Korrelationen lassen sich jedoch nicht machen.

Zwischen der Cox-2-Expression und dem pathologischen Antwortverhalten in der Hormontherapiegruppe besteht eine Assoziation. Dabei wurde bei partieller und geringer Tumorremission sowie bei einem Tumorstillstand immer Cox-2 exprimiert. Nur bei einem Karzinom war die Cox-2-Expression negativ. Die

könnte daraufhin weisen, dass die Cox-2-Expression nur bedingt durch Östradiol reguliert, aber in einem hohen Maß durch Wachstumsfaktoren, Onkogene oder Tumornekrosefaktoren beeinflusst wird. Somit würde eine Aromataseinhibition die Östradiolproduktion zwar hemmen, die Cox-2-Expression aber nur bedingt reduzieren.

Insgesamt gesehen ist der Einfluss der neoadjuvanten Therapie auf die Cox-2-Expression geringer als erwartet. In der vorliegenden Studie konnte weder die Cyclooxygenase-2 als negativer Prognosefaktor bestätigt werden noch ein Einfluss einer primär systemischen Chemo- oder Hormontherapie auf die Cox-2-Expression gefunden werden. Daher wäre eine nähere Betrachtung des unterschiedlichen Einflusses von einerseits Östradiol und andererseits Wachstumsfaktoren, Tumornekrosefaktor  $\alpha$ , TGF  $\beta$  und Cytokine, Onkogene, wie v-src, v-Ha-ras und Wnt auf die Cyclooxygenase-2-Expression eventuell auch mit einer anderen Untersuchungsmethode interessant.

## 6 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Prostaglandinsynthese via Arachidonsäure aus Davies et al [24]	3
Abbildung 2: Modell der pathophysiologischen Regulation der Aromatase und Cyclooxygenase-2 in Brustkrebszellen unter Berücksichtigung der Einflussmöglichkeit der Aromataseinhibitoren (rote Pfeile)	5
Abbildung 3: ABC-Methode nach DAKO, Immunhistochemische Färbemethode 2003	18
Abbildung 4: Keine Cox-2-Expression	22
Abbildung 5: Geringe Cox-2-Expression	22
Abbildung 6: Mäßige Cox-2-Expression	22
Abbildung 7: Starke Cox-2-Expression	22
Abbildung 8: Nukleäre Färbung	23
Abbildung 9: Cytoplasmatische Färbung	23
Abbildung 10: Nukleäre und cytoplasmatische Färbung	23
Abbildung 11: Gesunde Brustdrüsenzellen	24
Abbildung 12: Gesunde Brustdrüsenzellen	24
Abbildung 13: Adipozyten	24
Abbildung 14: Neutrophile Granulozyten	24
Abbildung 15: Makrophagen	24
Abbildung 16: Epithelzellen	24
Abbildung 17: Stromafärbung	25
Abbildung 18: Gefärbter Nerv und stark gefärbter Tumor	25
Abbildung 19: Gefärbtes DCIS	25
Abbildung 20: DCIS mit granulärer Färbung	25
Abbildung 21: Cox-2-Expression am Stanzpräparat	27
Abbildung 22: Cox-2-Expression am OP-Präparat	28
Abbildung 23: Altersverteilung der Cox-2-Expression im Stanzpräparat	31
Abbildung 24: Altersverteilung der Cox-2-Expression im OP-Präparat	31
Abbildung 25: Beziehung zwischen T-Stadium und Cox-2-Expression postoperativ	34

Abbildung 26: Beziehung von Tumorgröße und Cox-2-Expression am Stanzpräparat	34
Abbildung 27: Beziehung von Tumorgröße und Cox-2-Expression am OP-Präparat	35
Abbildung 28: Zusammenhang zwischen dem Lymphknotenstadium und der Cox-2-Expression postoperativ	36
Abbildung 29: Beziehung zwischen der histologischen Gruppe und der Cox-2-Expression am Stanzpräparat	38
Abbildung 30: Beziehung zwischen der histologischen Gruppe und der Cox-2-Expression am OP-Präparat	39
Abbildung 31: Beziehung zwischen Cox-2 und dem Östrogenrezeptorstatus am Stanzpräparat	45
Abbildung 32: Cox-2-Expression in Beziehung zum Östrogenrezeptorstatus am OP-Präparat	46
Abbildung 33: Beziehung zwischen Cox-2 und dem PgR-Status am Stanzpräparat	47
Abbildung 34: Beziehung zwischen der Cox-2-Expression und dem PgR-Status am OP-Präparat	48
Abbildung 35: Beziehung zwischen Cox-2 und dem Hormonrezeptorstatus am Stanzpräparat	49
Abbildung 36: Beziehung zwischen Cox-2 und dem Hormonrezeptorstatus am OP-Präparat	50
Abbildung 37: Cox-2-Expression und Mib-1 an den Stanzpräparaten	61
Abbildung 38: Einfluss der Cox-2-Expression auf Mib-1 am OP-Präparat	62
Abbildung 39: Zusammenhang zwischen der Cox-2-Expression und dem pathologischen Antwortverhalten im Chemotherapiekollektiv	65
Abbildung 40: Zusammenhang zwischen der Cox-2-Expression und dem pathologischen Antwortverhalten im Hormontherapiekollektiv	66

## 7 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Therapieschema der systemischen Therapie im Mammakarzinomkollektiv	7
Tabelle 2:	Tumorstadien im Mammakarzinomkollektiv vor neoadjuvanter Therapie	8
Tabelle 3:	Lymphknotenstatus im Mammakarzinomkollektiv vor neoadjuvanter Therapie	8
Tabelle 4:	Tumorstadium nach neoadjuvanter Therapie im Mammakarzinomkollektiv	9
Tabelle 5:	Histologische Subtypen der untersuchten Mammakarzinome	10
Tabelle 6:	Verteilung des Grading am Patientinnenkollektiv	11
Tabelle 7:	Cut-Off-Werte für die immunhistochemische Auswertung	11
Tabelle 8:	Östrogen- und Progesteronrezeptorstatus der untersuchten Mammakarzinome	12
Tabelle 9:	Hormonrezeptorstatus der untersuchten Mammakarzinome	12
Tabelle 10:	p53 Status der untersuchten Mammakarzinome	13
Tabelle 11:	bcl-2 Status der untersuchten Mammakarzinome	13
Tabelle 12:	Her2/neu Status der untersuchten Mammakarzinome	14
Tabelle 13:	Mib-1 Status der untersuchten Mammakarzinome	14
Tabelle 14:	Objektive Kriterien zur Beurteilung des Tumorwachstums (UICC-Kriterien)	15
Tabelle 15:	Pathologisches Antwortverhalten der untersuchten Mammakarzinome	15
Tabelle 16:	Pathologisches Antwortverhalten in der Chemotherapiegruppe der untersuchten Mammakarzinome	16
Tabelle 17:	Pathologisches Antwortverhalten in der Hormontherapiegruppe der untersuchten Mammakarzinome	16
Tabelle 18:	Immunreaktiver Score nach Remmele und Stegner [68]	20
Tabelle 19:	Cox-2-Expression am Stanzpräparat	26
Tabelle 20:	Cox-2-Expression am OP-Präparat	27
Tabelle 21:	Cox-2-Expressionsänderung unter Chemotherapie	29
Tabelle 22:	Cox-2-Expressionsänderung unter Hormontherapie	30
		84



## Tabellenverzeichnis

---

Tabelle 23:	Cox-2-Expression bezüglich des Menopausenstatus am Stanzpräparat	32
Tabelle 24:	Cox-2-Expression bezüglich des Menopausenstatus am OP-Präparat	33
Tabelle 25:	Beziehung zwischen T-Stadium und Cox-2-Expression postoperativ	33
Tabelle 26:	Zusammenhang zwischen dem Lymphknotenstadium und der Cox-2-Expression postoperativ	36
Tabelle 27:	Beziehung zwischen der histologischen Gruppe und der Cox-2-Expression am Stanzpräparat	37
Tabelle 28:	Cox-2-Expression in den histologischen Gruppen am OP-Präparat	39
Tabelle 29:	Cox-2-Expression in den histologischen Gruppen am Stanzpräparat bei der Chemotherapiegruppe	40
Tabelle 30:	Cox-2-Expression in den histologischen Gruppen am OP-Präparat in der Chemotherapiegruppe	41
Tabelle 31:	Cox-2-Expression in den histologischen Gruppen am Stanzpräparat in der Hormontherapiegruppe	42
Tabelle 32:	Cox-2-Expression in den histologischen Gruppen am OP-Präparat in der Hormontherapiegruppe	42
Tabelle 33:	Cox-2-Expression in Bezug auf das Grading am Stanzpräparat	43
Tabelle 34:	Cox-2-Expression in Relation zum Grading am OP-Präparat	44
Tabelle 35:	Cox-2-Expression in Beziehung zum Östrogenrezeptor am Stanzpräparat	45
Tabelle 36:	Cox-2-Expression in Relation zum Östrogenrezeptor am OP-Präparat	46
Tabelle 37:	Cox-2-Expression in Relation zum Progesteronrezeptor am Stanzpräparat	47
Tabelle 38:	Cox-2-Expression in Bezug zum Progesteronrezeptorstatus am OP-Präparat	48
Tabelle 39:	Cox-2-Expression in Relation zum Hormonrezeptorstatus am Stanzpräparat	49

## Tabellenverzeichnis

---

Tabelle 40:	Cox-2-Expression in Relation zum Hormonrezeptorstatus am OP-Präparat	50
Tabelle 41:	Cox-2-Expression in Beziehung zu p53 am Stanzpräparat	51
Tabelle 42:	Cox-2-Expression in Beziehung zu p53 am OP-Präparat	51
Tabelle 43:	Cox-2-Expression in Relation zu p53 an den Stanzpräparaten in der Chemotherapiegruppe	52
Tabelle 44:	Cox-2-Expression in Beziehung zu p53 am OP-Präparat in der Chemotherapiegruppe	53
Tabelle 45:	Cox-2-Expression in Beziehung zu p53 am Stanzpräparat in der Hormontherapiegruppe	53
Tabelle 46:	Cox-2-Expression in Relation zu p53 am OP-Präparat in der Hormontherapiegruppe	54
Tabelle 47:	Cox-2-Expression in Beziehung zu bcl-2 am Stanzpräparat	54
Tabelle 48:	Cox-2-Expression in Beziehung zu bcl-2 am OP-Präparat	55
Tabelle 49:	Cox-2-Expression in Beziehung zu bcl-2 am Stanzpräparat in der Chemotherapiegruppe	55
Tabelle 50:	Cox-2-Expression in Beziehung zu bcl-2 am OP-Präparat in der Chemotherapiegruppe	56
Tabelle 51:	Cox-2-Expression in Beziehung zu bcl-2 am Stanzpräparat in der Hormontherapiegruppe	56
Tabelle 52:	Cox-2-Expression in Beziehung zu bcl-2 am OP-Präparat in der Hormontherapiegruppe	57
Tabelle 53:	Cox-2-Expression in Beziehung zu c-erbB-2 am Stanzpräparat	57
Tabelle 54:	Cox-2-Expression in Beziehung zu c-erbB-2 am OP-Präparat	58
Tabelle 55:	Cox-2-Expression in Beziehung zu c-erbB-2 am Stanzpräparat in der Chemotherapiegruppe	58
Tabelle 56:	Cox-2-Expression in Beziehung zu c-erbB-2 am OP-Präparat in der Chemotherapiegruppe	59
Tabelle 57:	Cox-2-Expression in Beziehung zu c-erbB-2 am Stanzpräparat in der Hormontherapiegruppe	59
Tabelle 58:	Cox-2-Expression in Beziehung zu c-erbB-2 am OP-Präparat in der Hormontherapiegruppe	60
		86

## Tabellenverzeichnis

---

Tabelle 59:	Cox-2-Expression in Beziehung zu Mib-1 am Stanzpräparat	60
Tabelle 60:	Cox-2-Expression in Beziehung zu Mib-1 am OP-Präparat	61
Tabelle 61:	Cox-2-Expression in Beziehung zu Mib-1 am Stanzpräparat in der Chemotherapiegruppe	62
Tabelle 62:	Cox-2-Expression in Beziehung zu Mib-1 am OP-Präparat in der Chemotherapiegruppe	63
Tabelle 63:	Cox-2-Expression in Beziehung zu Mib-1 am Stanzpräparat in der Hormontherapiegruppe	63
Tabelle 64:	Cox-2-Expression in Beziehung zu Mib-1 am OP-Präparat in der Hormontherapiegruppe	64
Tabelle 65:	pathologisches Antwortverhalten in Relation zur Cox-2- Expression in der Chemotherapiegruppe	64
Tabelle 66:	pathologisches Antwortverhalten in Relation zur Cox-2- Expression in der Hormontherapiegruppe	66
Tabelle 67:	Vergleich der Tumorfärbverhalten verschiedener Arbeiten	67
Tabelle 68:	Vergleich der Färbung von Zellbestandteilen durch Cox-2- Antikörper verschiedener Autoren	68

## 8 Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
BET	Brusterhaltende Therapie
CLIS	Carcinoma lobulare in situ
cm	Zentimeter
Cox	Cyclooxygenase
Cox-2	Cyclooxygenase-2
DCIS	Duktales Carcinoma in situ
d.h.	das heißt
ER	Östrogenrezeptor
HR	Hormonrezeptor
IRS	Immunreaktiver Score
min	Minute
MR	Minor response (geringer Tumorrückgang)
MRM	Modifizierte radikale Mastektomie
NC	No change (Tumorstillstand)
NSAID	Non steroidal anti-inflammatory drugs
OP-Präparat	Operationspräparat
pCR	Pathologische Komplettremission
PD	Progressive disease (Tumorstadium)
PG	Prostaglandin
PGHS	Prostaglandin-H-Synthetase
PgR	Progesteronrezeptor
PR	Partial response (partieller Tumorrückgang)
Tab.	Tabelle
UICC	Union internationale contre le cancer
WHO	World Health Organization

## 9 Literaturverzeichnis

1. Schmidt-Matthiesen H, Bastert G, Wallwiener D: **Gynäkologische Onkologie**: Schattauer; 2002.
2. Kuhn W, Possinger K, Schünemann H, Willich N, Sattler D: **Gynäkologische Malignome**: W.Zuckerschwerdtverlag; 2003.
3. Robert-Koch-Institut (ed.): **Krebs in Deutschland**. Saarbrücken: Arbeitsgemeinschaft Bevölkerungsbezogener Krebsregister in Deutschland; 4. Auflage, 2004.
4. Fisher B, Bryant J, Wolmark N, Mamounas E, Brown A, Fisher ER, Wickerham DL, Begovic M, DeCillis A, Robidoux A *et al*: **Effect of preoperative chemotherapy on the outcome of women with operable breast cancer**. *J Clin Oncol* 1998, **16**(8):2672-2685.
5. Bear H, Anderson S, Smith R, Robidoux A, Kahlenberg M, Margolese R: **A randomized trial comparing preoperative doxorubicin/cyclophosphamide (AC) to preoperative AC followed by preoperative docetaxel (T) and to preoperative AC followed by postoperative T in patients with operable carcinoma of the breast: results of NSABP**. In: *SABCS: 2004*; 2004.
6. Scholl S, Fouquet A, Asselain B: **Primary versus adjuvant chemotherapy in premenopausal patients with tumors considered too large for breast conserving surgery: preliminary results of a randomised trial**. *Eur J Cancer* 1994, **30A**:645-652.
7. Miller WR, Dixon JM, Cameron DA, Anderson TJ: **Biological and clinical effects of aromatase inhibitors in neoadjuvant therapy**. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2001, **79**(1-5):103-107.
8. Howell A RJ: **The primary use of endocrine therapy**. In Dowsett M, Howell A (eds): **Primary Medical Therapy for Breast Cancer: Clinical and Biological Aspects**. *ESO Scientific Updates* 1999, **Vol. 4**:23-37.
9. von Minckwitz G: **Docetaxel/anthracycline combinations for breast cancer treatment**. *Expert Opin Pharmacother* 2007, **8**(4):485-495.
10. Miller WR, Anderson TJ, Jack WJ: **Relationship between tumour aromatase activity, tumour characteristics and response to therapy**. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1990, **37**(6):1055-1059.
11. Bolufer P, Ricart E, Lluch A, Vazquez C, Rodriguez A, Ruiz A, Llopis F, Garcia-Conde J, Romero R: **Aromatase activity and estradiol in human breast cancer: its relationship to estradiol and epidermal growth factor receptors and to tumor-node-metastasis staging**. *J Clin Oncol* 1992, **10**(3):438-446.
12. Simpson ER, Mahendroo MS, Means GD, Kilgore MW, Hinshelwood MM, Graham-Lorence S, Amarneh B, Ito Y, Fisher CR, Michael MD *et al*: **Aromatase cytochrome P450, the enzyme responsible for estrogen biosynthesis**. *Endocr Rev* 1994, **15**(3):342-355.

13. Richards JA, Petrel TA, Brueggemeier RW: **Signaling pathways regulating aromatase and cyclooxygenases in normal and malignant breast cells.** *J Steroid Biochem Mol Biol* 2002, **80**(2):203-212.
14. Brodie A, Long B: **Aromatase inhibition and inactivation.** *Clin Cancer Res* 2001, **7**(12 Suppl):4343s-4349s; discussion 4411s-4412s.
15. James VH, McNeill JM, Lai LC, Newton CJ, Ghilchik MW, Reed MJ: **Aromatase activity in normal breast and breast tumor tissues: in vivo and in vitro studies.** *Steroids* 1987, **50**(1-3):269-279.
16. Killinger DW, Perel E, Daniilescu D, Kharlip L, Blackstein ME: **Aromatase activity in the breast and other peripheral tissues and its therapeutic regulation.** *Steroids* 1987, **50**(4-6):523-536.
17. Perel E, Blackstein ME, Killinger DW: **Aromatase in human breast carcinoma.** *Cancer Res* 1982, **42**(8 Suppl):3369s-3372s.
18. Koos RD, Banks PK, Inkster SE, Yue W, Brodie AM: **Detection of aromatase and keratinocyte growth factor expression in breast tumors using reverse transcription-polymerase chain reaction.** *J Steroid Biochem Mol Biol* 1993, **45**(4):217-225.
19. Lu Q, Nakmura J, Savinov A, Yue W, Weisz J, Dabbs DJ, Wolz G, Brodie A: **Expression of aromatase protein and messenger ribonucleic acid in tumor epithelial cells and evidence of functional significance of locally produced estrogen in human breast cancers.** *Endocrinology* 1996, **137**(7):3061-3068.
20. Miller WR, Hawkins RA, Forrest AP: **Significance of aromatase activity in human breast cancer.** *Cancer Res* 1982, **42**(8 Suppl):3365s-3368s.
21. Price T, Aitken J, Head J, Mahendroo M, Means G, Simpson E: **Determination of aromatase cytochrome P450 messenger ribonucleic acid in human breast tissue by competitive polymerase chain reaction amplification.** *J Clin Endocrinol Metab* 1992, **74**(6):1247-1252.
22. Brodie AM, Lu Q, Long BJ, Fulton A, Chen T, Macpherson N, DeJong PC, Blankenstein MA, Nortier JW, Slee PH *et al*: **Aromatase and COX-2 expression in human breast cancers.** *J Steroid Biochem Mol Biol* 2001, **79**(1-5):41-47.
23. Lipton A, Santner SJ, Santen RJ, Harvey HA, Feil PD, White-Hershey D, Bartholomew MJ, Antle CE: **Aromatase activity in primary and metastatic human breast cancer.** *Cancer* 1987, **59**(4):779-782.
24. Davies G, Martin LA, Sacks N, Dowsett M: **Cyclooxygenase-2 (COX-2), aromatase and breast cancer: a possible role for COX-2 inhibitors in breast cancer chemoprevention.** *Ann Oncol* 2002, **13**(5):669-678.
25. Howe LR, Subbaramaiah K, Brown AM, Dannenberg AJ: **Cyclooxygenase-2: a target for the prevention and treatment of breast cancer.** *Endocr Relat Cancer* 2001, **8**(2):97-114.

26. DeWitt DL, Smith WL: **Primary structure of prostaglandin G/H synthase from sheep vesicular gland determined from the complementary DNA sequence.** *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988, **85**(5):1412-1416.
27. Yokoyama C, Takai T, Tanabe T: **Primary structure of sheep prostaglandin endoperoxide synthase deduced from cDNA sequence.** *FEBS Lett* 1988, **231**(2):347-351.
28. Yokoyama C, Tanabe T: **Cloning of human gene encoding prostaglandin endoperoxide synthase and primary structure of the enzyme.** *Biochem Biophys Res Commun* 1989, **165**(2):888-894.
29. Feng L, Sun W, Xia Y, Tang WW, Chanmugam P, Soyoola E, Wilson CB, Hwang D: **Cloning two isoforms of rat cyclooxygenase: differential regulation of their expression.** *Arch Biochem Biophys* 1993, **307**(2):361-368.
30. Kujubu DA, Fletcher BS, Varnum BC, Lim RW, Herschman HR: **TIS10, a phorbol ester tumor promoter-inducible mRNA from Swiss 3T3 cells, encodes a novel prostaglandin synthase/cyclooxygenase homologue.** *J Biol Chem* 1991, **266**(20):12866-12872.
31. Xie WL, Chipman JG, Robertson DL, Erikson RL, Simmons DL: **Expression of a mitogen-responsive gene encoding prostaglandin synthase is regulated by mRNA splicing.** *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991, **88**(7):2692-2696.
32. Hla T, Neilson K: **Human cyclooxygenase-2 cDNA.** *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992, **89**(16):7384-7388.
33. Jones DA, Carlton DP, McIntyre TM, Zimmerman GA, Prescott SM: **Molecular cloning of human prostaglandin endoperoxide synthase type II and demonstration of expression in response to cytokines.** *J Biol Chem* 1993, **268**(12):9049-9054.
34. Dinchuk JE, Car BD, Focht RJ, Johnston JJ, Jaffee BD, Covington MB, Contel NR, Eng VM, Collins RJ, Czerniak PM *et al*: **Renal abnormalities and an altered inflammatory response in mice lacking cyclooxygenase II.** *Nature* 1995, **378**(6555):406-409.
35. Lim H, Gupta RA, Ma WG, Paria BC, Moller DE, Morrow JD, DuBois RN, Trzaskos JM, Dey SK: **Cyclo-oxygenase-2-derived prostacyclin mediates embryo implantation in the mouse via PPARdelta.** *Genes Dev* 1999, **13**(12):1561-1574.
36. Lim H, Paria BC, Das SK, Dinchuk JE, Langenbach R, Trzaskos JM, Dey SK: **Multiple female reproductive failures in cyclooxygenase 2-deficient mice.** *Cell* 1997, **91**(2):197-208.
37. Morham SG, Langenbach R, Loftin CD, Tiano HF, Vouloumanos N, Jennette JC, Mahler JF, Kluckman KD, Ledford A, Lee CA *et al*: **Prostaglandin synthase 2 gene disruption causes severe renal pathology in the mouse.** *Cell* 1995, **83**(3):473-482.
38. Herschman HR: **Prostaglandin synthase 2.** *Biochim Biophys Acta* 1996, **1299**(1):125-140.

39. Xie W, Herschman HR: **Transcriptional regulation of prostaglandin synthase 2 gene expression by platelet-derived growth factor and serum.** *J Biol Chem* 1996, **271**(49):31742-31748.
40. Subbaramaiah K, Telang N, Ramonetti JT, Araki R, DeVito B, Weksler BB, Dannenberg AJ: **Transcription of cyclooxygenase-2 is enhanced in transformed mammary epithelial cells.** *Cancer Res* 1996, **56**(19):4424-4429.
41. Sheng H, Williams CS, Shao J, Liang P, DuBois RN, Beauchamp RD: **Induction of cyclooxygenase-2 by activated Ha-ras oncogene in Rat-1 fibroblasts and the role of mitogen-activated protein kinase pathway.** *J Biol Chem* 1998, **273**(34):22120-22127.
42. Howe LR, Subbaramaiah K, Chung WJ, Dannenberg AJ, Brown AM: **Transcriptional activation of cyclooxygenase-2 in Wnt-1-transformed mouse mammary epithelial cells.** *Cancer Res* 1999, **59**(7):1572-1577.
43. Haertel-Wiesmann M, Liang Y, Fantl WJ, Williams LT: **Regulation of cyclooxygenase-2 and periostin by Wnt-3 in mouse mammary epithelial cells.** *J Biol Chem* 2000, **275**(41):32046-32051.
44. Thun MJ, Namboodiri MM, Heath CW, Jr.: **Aspirin use and reduced risk of fatal colon cancer.** *N Engl J Med* 1991, **325**(23):1593-1596.
45. Kune GA, Kune S, Watson LF: **Colorectal cancer risk, chronic illnesses, operations, and medications: case control results from the Melbourne Colorectal Cancer Study.** *Cancer Res* 1988, **48**(15):4399-4404.
46. Rosenberg L, Palmer JR, Zauber AG, Warshauer ME, Stolley PD, Shapiro S: **A hypothesis: nonsteroidal anti-inflammatory drugs reduce the incidence of large-bowel cancer.** *J Natl Cancer Inst* 1991, **83**(5):355-358.
47. Parrett M, Harris R, Joarder F: **Cyclooxygenase-2 gene expression in human breast cancer.** *Int J Oncol* 1997, **10**:503-507.
48. Brueggemeier RW, Quinn AL, Parrett ML, Joarder FS, Harris RE, Robertson FM: **Correlation of aromatase and cyclooxygenase gene expression in human breast cancer specimens.** *Cancer Lett* 1999, **140**(1-2):27-35.
49. Hwang D, Scollard D, Byrne J, Levine E: **Expression of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 in human breast cancer.** *J Natl Cancer Inst* 1998, **90**(6):455-460.
50. Liu XH, Rose DP: **Differential expression and regulation of cyclooxygenase-1 and -2 in two human breast cancer cell lines.** *Cancer Res* 1996, **56**(22):5125-5127.
51. Soslow RA, Dannenberg AJ, Rush D, Woerner BM, Khan KN, Masferrer J, Koki AT: **COX-2 is expressed in human pulmonary, colonic, and mammary tumors.** *Cancer* 2000, **89**(12):2637-2645.



52. Costa C, Soares R, Reis-Filho JS, Leitao D, Amendoeira I, Schmitt FC: **Cyclo-oxygenase 2 expression is associated with angiogenesis and lymph node metastasis in human breast cancer.** *J Clin Pathol* 2002, **55**(6):429-434.
53. Davies G, Salter J, Hills M, Martin LA, Sacks N, Dowsett M: **Correlation between cyclooxygenase-2 expression and angiogenesis in human breast cancer.** *Clin Cancer Res* 2003, **9**(7):2651-2656.
54. Denkert C, Winzer KJ, Muller BM, Weichert W, Pest S, Kobel M, Kristiansen G, Reles A, Siegert A, Guski H *et al*: **Elevated expression of cyclooxygenase-2 is a negative prognostic factor for disease free survival and overall survival in patients with breast carcinoma.** *Cancer* 2003, **97**(12):2978-2987.
55. Half E, Tang XM, Gwyn K, Sahin A, Wathen K, Sinicrope FA: **Cyclooxygenase-2 expression in human breast cancers and adjacent ductal carcinoma in situ.** *Cancer Res* 2002, **62**(6):1676-1681.
56. Lim SC: **Role of COX-2, VEGF and cyclin D1 in mammary infiltrating duct carcinoma.** *Oncol Rep* 2003, **10**(5):1241-1249.
57. 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 Res* 2002, **62**(3):632-635.
58. Spizzo G, Gastl G, Wolf D, Gunsilius E, Steurer M, Fong D, Amberger A, Margreiter R, Obrist P: **Correlation of COX-2 and Ep-CAM overexpression in human invasive breast cancer and its impact on survival.** *Br J Cancer* 2003, **88**(4):574-578.
59. Watanabe O, Shimizu T, Imamura H, Kinoshita J, Utada Y, Okabe T, Kimura K, Hirano A, Yoshimatsu K, Aiba M *et al*: **Expression of cyclooxygenase-2 in malignant and benign breast tumors.** *Anticancer Res* 2003, **23**(4):3215-3221.
60. Wulfing P, Diallo R, Muller C, Wulfing C, Poremba C, Heinecke A, Rody A, Greb RR, Bocker W, Kiesel L: **Analysis of cyclooxygenase-2 expression in human breast cancer: high throughput tissue microarray analysis.** *J Cancer Res Clin Oncol* 2003, **129**(7):375-382.
61. Tan KB, Yong WP, Putti TC: **Cyclooxygenase-2 expression: a potential prognostic and predictive marker for high-grade ductal carcinoma in situ of the breast.** *Histopathology* 2004, **44**(1):24-28.
62. Zhao Y, Agarwal VR, Mendelson CR, Simpson ER: **Estrogen biosynthesis proximal to a breast tumor is stimulated by PGE2 via cyclic AMP, leading to activation of promoter II of the CYP19 (aromatase) gene.** *Endocrinology* 1996, **137**(12):5739-5742.
63. Wittekind Ch, Meyer H-J, Bootz F: **TNM Klassifikation maligner Tumoren.** Berlin, Heidelberg, New York: Springer; 1997.
64. WHO: **International Histological Classification of Tumors No.2: Histological Typing of breast, 2nd Edition Geneva.** 1981.

65. Elston CW, Ellis IO: **Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up.** *Histopathology* 1991, **19**(5):403-410.
66. Colleoni M, Orvieto E, Nole F, Orlando L, Minchella I, Viale G, Peruzzotti G, Robertson C, Noberasco C, Galimberti V *et al*: **Prediction of response to primary chemotherapy for operable breast cancer.** *Eur J Cancer* 1999, **35**(4):574-579.
67. Faneyte IF, Schrama JG, Peterse JL, Remijnse PL, Rodenhuis S, van de Vijver MJ: **Breast cancer response to neoadjuvant chemotherapy: predictive markers and relation with outcome.** *Br J Cancer* 2003, **88**(3):406-412.
68. Remmele W, Stegner HE: **[Recommendation for uniform definition of an immunoreactive score (IRS) for immunohistochemical estrogen receptor detection (ER-ICA) in breast cancer tissue].** *Pathologe* 1987, **8**(3):138-140.
69. Vogel CL, Cobleigh MA, Tripathy D, Gutheil JC, Harris LN, Fehrenbacher L, Slamon DJ, Murphy M, Novotny WF, Burchmore M *et al*: **Efficacy and safety of trastuzumab as a single agent in first-line treatment of HER2-overexpressing metastatic breast cancer.** *J Clin Oncol* 2002, **20**(3):719-726.
70. Hsu SM, Raine L, Fanger H: **Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures.** *J Histochem Cytochem* 1981, **29**(4):577-580.
71. Takeshita E, Osanai T, Higuchi T, Togba Soumaoro L, Sugihara K: **Elevated cyclooxygenase-2 expression is associated with histological grade in invasive ductal breast carcinoma.** *J Med Dent Sci* 2005, **52**:189-193.
72. Ferrandina G, Lauriola L, Distefano MG, Zannoni GF, Gessi M, Legge F, Maggiano N, Mancuso S, Capelli A, Scambia G *et al*: **Increased cyclooxygenase-2 expression is associated with chemotherapy resistance and poor survival in cervical cancer patients.** *J Clin Oncol* 2002, **20**(4):973-981.
73. Kelly LM, Hill AD, Kennedy S, Connolly EM, Ramanath R, Teh S, Dijkstra B, Purcell R, McDermott EW, O'Higgins N: **Lack of prognostic effect of Cox-2 expression in primary breast cancer on short-term follow-up.** *Eur J Surg Oncol* 2003, **29**(9):707-710.
74. Ferrandina G, Lauriola L, Zannoni GF, Fagotti A, Fanfani F, Legge F, Maggiano N, Gessi M, Mancuso S, Ranelletti FO *et al*: **Increased cyclooxygenase-2 (COX-2) expression is associated with chemotherapy resistance and outcome in ovarian cancer patients.** *Ann Oncol* 2002, **13**(8):1205-1211.

75. Ferrandina G, Lauriola L, Zannoni GF, Distefano MG, Legge F, Salutari V, Gessi M, Maggiano N, Scambia G, Ranelletti FO: **Expression of cyclooxygenase-2 (COX-2) in tumour and stroma compartments in cervical cancer: clinical implications.** *Br J Cancer* 2002, **87**(10):1145-1152.
76. Hull MA, Booth JK, Tisbury A, Scott N, Bonifer C, Markham AF, Coletta PL: **Cyclooxygenase 2 is up-regulated and localized to macrophages in the intestine of Min mice.** *Br J Cancer* 1999, **79**(9-10):1399-1405.
77. Tsujii M, DuBois RN: **Alterations in cellular adhesion and apoptosis in epithelial cells overexpressing prostaglandin endoperoxide synthase 2.** *Cell* 1995, **83**(3):493-501.
78. Sawaoka H, Kawano S, Tsuji S, Tsujii M, Murata H, Hori M: **Effects of NSAIDs on proliferation of gastric cancer cells in vitro: possible implication of cyclooxygenase-2 in cancer development.** *J Clin Gastroenterol* 1998, **27 Suppl 1**:S47-52.
79. Form DM, Auerbach R: **PGE2 and angiogenesis.** *Proc Soc Exp Biol Med* 1983, **172**(2):214-218.
80. Marnett LJ: **Aspirin and the potential role of prostaglandins in colon cancer.** *Cancer Res* 1992, **52**(20):5575-5589.
81. Garewal H, Ramsey L, Fass R, Hart NK, Payne CM, Bernstein H, Bernstein C: **Perils of immunohistochemistry: variability in staining specificity of commercially available COX-2 antibodies on human colon tissue.** *Dig Dis Sci* 2003, **48**(1):197-202.
82. Fox SB, Leek RD, Weekes MP, Whitehouse RM, Gatter KC, Harris AL: **Quantitation and prognostic value of breast cancer angiogenesis: comparison of microvessel density, Chalkley count, and computer image analysis.** *J Pathol* 1995, **177**(3):275-283.
83. Nakopoulou L, Mylona E, Papadaki I, Kapranou A, Giannopoulou I, Markaki S, Keramopoulos A: **Overexpression of cyclooxygenase-2 is associated with a favorable prognostic phenotype in breast carcinoma.** *Pathobiology* 2005, **72**(5):241-249.
84. O'Connor JK, Avent J, Lee RJ, Fischbach J, Gaffney DK: **Cyclooxygenase-2 expression correlates with diminished survival in invasive breast cancer treated with mastectomy and radiotherapy.** *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004, **58**(4):1034-1040.
85. Witton CJ, Hawe SJ, Cooke TG, Bartlett JM: **Cyclooxygenase 2 (COX2) expression is associated with poor outcome in ER-negative, but not ER-positive, breast cancer.** *Histopathology* 2004, **45**(1):47-54.
86. Singh-Ranger G, Kirkpatrick KL, Clark GM, Mokbel K: **Cyclooxygenase-2 (COX-2) mRNA expression correlates with progesterone receptor positivity in human breast cancer.** *Curr Med Res Opin* 2003, **19**(2):131-134.

- 
87. Langendijk JA, Thunnissen FB, Lamers RJ, de Jong JM, ten Velde GP, Wouters EF: **The prognostic significance of accumulation of p53 protein in stage III non-small cell lung cancer treated by radiotherapy.** *Radiother Oncol* 1995, **36**(3):218-224.
  88. Shin DM, Lee JS, Lippman SM, Lee JJ, Tu ZN, Choi G, Heyne K, Shin HJ, Ro JY, Goepfert H *et al*: **p53 expressions: predicting recurrence and second primary tumors in head and neck squamous cell carcinoma.** *J Natl Cancer Inst* 1996, **88**(8):519-529.
  89. Liu CH, Chang SH, Narko K, Trifan OC, Wu MT, Smith E, Haudenschild C, Lane TF, Hla T: **Overexpression of cyclooxygenase-2 is sufficient to induce tumorigenesis in transgenic mice.** *J Biol Chem* 2001, **276**(21):18563-18569.
  90. Sheng H, Shao J, Morrow JD, Beauchamp RD, DuBois RN: **Modulation of apoptosis and Bcl-2 expression by prostaglandin E2 in human colon cancer cells.** *Cancer Res* 1998, **58**(2):362-366.
  91. Lipponen P, Pietilainen T, Kosma VM, Aaltomaa S, Eskelinen M, Syrjanen K: **Apoptosis suppressing protein bcl-2 is expressed in well-differentiated breast carcinomas with favourable prognosis.** *J Pathol* 1995, **177**(1):49-55.
  92. Kleibl Z, Raisova M, Novotny J, Pohlreich P, Matous B: **[Apoptosis and its importance in the development and therapy of tumors (review)].** *Sb Lek* 2002, **103**(1):1-13.
  93. Coultas L, Strasser A: **The role of the Bcl-2 protein family in cancer.** *Semin Cancer Biol* 2003, **13**(2):115-123.
  94. Subbaramaiah K, Norton L, Gerald W, Dannenberg AJ: **Cyclooxygenase-2 is overexpressed in HER-2/neu-positive breast cancer: evidence for involvement of AP-1 and PEA3.** *J Biol Chem* 2002, **277**(21):18649-18657.
  95. Vadlamudi R, Mandal M, Adam L, Steinbach G, Mendelsohn J, Kumar R: **Regulation of cyclooxygenase-2 pathway by HER2 receptor.** *Oncogene* 1999, **18**(2):305-314.
  96. Dowsett M: **Preoperative models to evaluate endocrine strategies for breast cancer.** *Clin Cancer Res* 2003, **9**(1 Pt 2):502S-510S.
  97. Chang J, Powles TJ, Allred DC, Ashley SE, Clark GM, Makris A, Assersohn L, Gregory RK, Osborne CK, Dowsett M: **Biologic markers as predictors of clinical outcome from systemic therapy for primary operable breast cancer.** *J Clin Oncol* 1999, **17**(10):3058-3063.
  98. Brueggemeier RW, Richards JA, Petrel TA: **Aromatase and cyclooxygenases: enzymes in breast cancer.** *J Steroid Biochem Mol Biol* 2003, **86**(3-5):501-507.

## **10 Danksagung**

Diese Arbeit entstand unter der Leitung von Herrn PD Dr. med. Nikos Fersis, leitender Oberarzt und stellvertretender Klinikdirektor der Universitätsfrauenklinik Heidelberg und Frau Dr. med. Brigitte Smyczek-Gargya, Oberärztin an der Universitätsfrauenklinik Tübingen. Für die Bereitstellung des Themas, die Unterstützung, die kompetenten Ratschläge und die Geduld möchte ich beiden herzlich danken.

Großer Dank gilt auch Herrn Dr. med. Ulrich Vogel, Oberarzt am Institut für Pathologie der Universität Tübingen, für die große Unterstützung bei der immunhistochemischen Auswertung, bei der er mir mit seiner großen Kompetenz und Geduld sehr geholfen hat.

Besonderer Dank gilt auch Frau Dr. rer. nat. Tina Herberts vom Institut für Medizinische Biometrie der Universität Tübingen, die sich mit der statistischen Auswertung sehr viel Mühe gegeben hat.

Ich möchte mich auch besonders bei Frau Annemarie Adam, Frau Frederike Müller und Frau Brigitte Rehmann, Medizinisch-technische Assistentinnen des Immunhistochemischen Labors des Institutes für Pathologie der Universität Tübingen, für die Durchführung der immunhistochemischen Färbungen bedanken.

Im Weiteren spreche ich Frau Anja Schönfelder meinen großen Dank für die Bereitstellung ihrer Patientinnendaten aus.

Insbesondere möchte ich mich auch bei meiner Familie, Christian und meinen Freunden bedanken, die mir in der Zeit der Doktorarbeitserstellung eine sehr große Hilfe waren.

## 11 Curriculum vitae

Name: Kathrin Veronika Leibbrand

Geburtsdatum: 26. September 1981

Geburtsort: Überlingen/ Bodenseekreis

Eltern: Ulrich Erwin Leibbrand, Grundschulkonrektor  
Eva-Maria Riede-Leibbrand, geborene Riede,  
Sonderschulkonrektorin

Geschwister: Lisa Stefanie, 9. August 1983  
Felix Johannes, 13. November 1984

Schulbildung: 1988-1992 Grundschule am Härle, Pfullendorf  
1992-2001 Stauferymnasium Pfullendorf  
Abitur 2001 mit Preis im Fach Französisch für  
Engagement in der Deutsch-Französischen  
Freundschaft

Universitätsausbildung: WS 2001/2002 Beginn des Medizinstudiums  
an der Universität Tübingen  
September 2003 Absolvierung der Ärztlichen  
Vorprüfung  
September 2004 Beginn der Arbeit zur  
Dissertation  
Praktisches Jahr: Wahlfach Gynäkologie und  
Geburtshilfe Kreiskrankenhaus Böblingen,  
Deutschland; Innere Medizin Kantonsspital  
Schwyz, Schweiz; Chirurgie Hôpital Pitié-  
Salpêtrière Paris, Frankreich

Abschluss: Staatsexamen am 30.05.2008