

Analisis Ekspresi Cyclin D1 dan COX-2 pada Berbagai Grading Histopatologik Karsinoma Endometrioid Ovarium

Erwin Sunardi, Endang Joewarini, Alphania Rahniayu

Departemen/SMF Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga
RSUD. Dr. Soetomo
Surabaya

Penulis korespondensi: dr. Alphania Rahniayu, SpPA.
Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga
Surabaya, email: azkamom@gmail.com phone +6281234168612

ABSTRAK

Latar belakang

Karsinoma endometrioid ovarium mencakup 10-15% dari seluruh karsinoma ovarium, dan merupakan bentuk terbanyak kedua dari keganasan epitelial ovarium. Sel-sel epitel yang dipengaruhi COX-2 dan penghambatan apoptosis oleh perpanjangan fase G1 dari siklus sel melalui efek pada Cyclin D1 menunjukkan proliferasi lebih tinggi. Penelitian ini dilakukan untuk menganalisis korelasi dan perbedaan ekspresi Cyclin D1 dan COX-2 pada berbagai *grading* karsinoma endometrioid.

Metode

Penelitian ini dilakukan secara observasional analitik dengan pendekatan *cross sectional* pada 23 sampel blok parafin di Instalasi Patologi Anatomi Rumah Sakit Dr. Soetomo. Sediaan mikroskopik diwarnai dengan antibodi Cyclin D1 dan COX-2, dievaluasi dan dinilai dengan sistem skoring, serta dianalisis secara statistik menggunakan uji Kruskal Wallis dan Spearman.

Hasil

Tidak terdapat perbedaan ekspresi Cyclin D1 pada berbagai *grading* histopatologik, tidak terdapat perbedaan ekspresi COX-2 pada berbagai *grading* histopatologik, tidak terdapat hubungan ekspresi Cyclin D1 dan COX-2 pada semua *grading* histopatologik, tetapi terdapat hubungan antara ekspresi Cyclin D1 dan COX-2 pada *grade* 3 karsinoma endometrioid ovarium.

Kesimpulan

Karsinoma endometrioid ovarium *grade* 1, 2, 3 menunjukkan ekspresi D1 dan COX-2 yang tidak berbeda bermakna. Sedangkan pada karsinoma endometrioid *grade* 1, *grade* 2, *grade* 3 menunjukkan tidak ada korelasi antara ekspresi cyclin D1 dan COX-2.

Kata kunci : COX-2, Cyclin D1, endometrioid carcinoma, ovarium.

Analysis of Cyclin D1 and COX-2 Expressions in Various Histopathological Grading of Ovary Endometrioid Carcinoma

ABSTRACT

Background

Ovarian endometrioid carcinoma accounts for 10-15% of ovarian carcinomas, representing the second most common form of ovarian epithelial malignancy. Epithelial cell lines stably transfected to overexpress COX-2 exhibit a higher proliferation rate and an inhibition of apoptosis by prolongation of the G1 phase of the cell cycle through effects on Cyclin D1. The aim of this study is to analyze the correlation and differences between Cyclin D1 and COX-2 expressions in various histopathology grading ovarian endometrioid carcinoma.

Methods

An analytical observational design with cross-sectional approach on sample from 23 paraffin blocks in Anatomical Pathology Laboratory Dr. Soetomo General Hospital. Microscopic slide stained with Cyclin D1 and COX-2 antibody. The immunohistochemistry expression are evaluated and analyzed using Kruskal Wallis and Spearman test.

Results

There were no differences Cyclin D1 expression in each grade, there were no differences COX-2 expression in each grade, there was no correlation between Cyclin D1 and COX-2 expression all histopathologic grading, but have correlation expression in *grade* 3 ovarian endometrioid carcinoma.

Conclusion

This study showed that Cyclin D1 and COX-2 expression have no significant differences in various histopathological grading ovarian endometrioid carcinoma, and no correlation between Cyclin D1 and COX-2 expression all grade ovarian endometrioid carcinoma

Key words: COX-2, Cyclin D1, endometrioid carcinoma.

PENDAHULUAN

Keganasan yang berasal dari sel epitel ovarium mempunyai angka kejadian sekitar 90%,¹ sebab penegakkan diagnosis sering terlambat, sehingga memberikan prognosa klinis buruk bagi kelangsungan hidup pasien karsinoma ovarium <50% dalam 5 tahun terlepas dari kemajuan terbaru bedah *cytoreductive* maupun obat kemo-terapi.² Insiden karsinoma endometrioid ovarium sekitar 15-25% dari semua kanker ovarium. Karsinoma endometrioid ovarium menurut *grading*nya terbagi menjadi 3 dan patogenesis yang mendasari terjadinya karsinoma endometrioid ovarium masih belum jelas, tetapi diduga proses inflamasi berperan dalam tumorigenesis.³

Cyclin D1 bagian dari kompleks molekul yang mengatur transisi fase G1-S siklus sel. Sintesis cyclin D1 distimulasi oleh faktor pertumbuhan, menginduksi sel istirahat untuk masuk ke dalam siklus sel. Amplifikasi area 11q13 terbukti pada tumor-tumor, seperti karsinoma payudara, liver, laring, esofagus, kepala leher, ovarium, paru dan bladder.⁴ Pada penelitian dengan menggunakan analisis *Western* menunjukkan Cyclin D1 tereksresi pada karsinoma ovarium, tetapi tidak tampak pada lesi jinak.⁵ Pada penelitian yang dilakukan oleh Dhar dan kawan-kawan (1999) didapatkan ekspresi Cyclin D1 yang positif pada 72 dari 81 kasus karsinoma ovarium, dengan tingkat ekspresi yang berbeda-beda pada tiap *gradenya*, namun tidak terdapat korelasi antara ekspresi Cyclin D1 dan *grade* tumor.⁶

COX-2 mempunyai implikasi pada tahap awal dari transformasi neoplasma, jarang ditemukan pada jaringan epitel normal ovarium, tetapi tampak pada endometriosis dan kista inklusi yang merupakan lesi premaligna.⁷ Hubungan COX-2 dan karsinogenesis diketahui lebih baik dari pada COX-1, dengan banyaknya laporan pada berbagai jenis kanker seperti kanker gaster, paru, kolon, payudara, dan kepala leher tetapi pada karsinoma ovarium masih sedikit.⁸

Pada sel-sel kanker yang ditandai dengan adanya deregulasi sel siklus melalui perubahan pengendali siklus sel (Cyclin) dan regulator siklus sel (p53) menghasilkan gangguan pada siklus sel.⁹ Saat ini, ada bukti bahwa prostaglandin yang diproduksi oleh COX-2 berperan serta dalam proliferasi sel tumor. NSAID dan penghambat selektif COX-2 meng-

hambat proliferasi jenis sel kanker yang berbeda yang mengekspresikan COX-2. Efek ini dikaitkan dengan penurunan tingkat cyclin D, yang merupakan protein kunci yang terlibat dalam transisi G1-S.⁹

Sampai saat ini penelitian ekspresi cyclin D1 dan COX-22 pada berbagai grading histopatologik karsinoma endometrioid ovarium belum banyak dilakukan, maka pada penelitian ini dilakukan analisis ekspresi Cyclin D1 dan COX-2 pada berbagai *grading* karsinoma endometrioid ovarium.

METODE PENELITIAN

Rancangan penelitian menggunakan analitik observasional dengan pendekatan *cross sectional*. Populasi penelitian adalah semua blok parafin kasus karsinoma endometrioid ovarium di Laboratorium Patologi Anatomik RSUD Dr. Soetomo Surabaya selama periode 1 Januari 2013 sampai dengan 30 Juni 2016. Pada periode ini terdapat 1.416 kasus tumor ovarium dengan 786 kasus karsinoma ovarium. 148 kasus didiagnosis karsinoma endometrioid ovarium terdiri dari 93 kasus *second opinion*, 22 kasus bersamaan dengan karsinoma lain, 23 kasus memenuhi kriteria inklusi. Sebagai kriteria inklusi adalah blok parafin dari spesimen operasi masih memiliki sel tumor yang representatif untuk keperluan pemeriksaan imunohistokimia, dan hasil pemeriksaan histopatologik sesuai dengan karsinoma endometrioid ovarium di mana diagnosisanya ditegakkan oleh dokter spesialis patologi anatomik di Departemen Patologi Anatomik Rumah Sakit Dr. Soetomo Surabaya. Sampel penelitian diambil secara total sampling sebanyak 23 sampel terbagi menjadi 7 sampel pada *grade* 1, 7 sampel pada *grade* 2 dan 9 sampel pada *grade* 3. Ekspresi Cyclin D1 dan COX-2 diperiksa secara imunohistokimia dengan *monoclonal rabbit antibody* Cyclin D1 (*Diagnostic Biosystem*), dengan dilusi 1:75 dan *monoclonal rabbit antibody* COX-2 (*Diagnostic Biosystem*), dengan dilusi 1:75 (*overnight*). Ekspresi Cyclin D1 dikatakan positif jika terpulas pada inti dan ekspresi COX-2 dikatakan positif jika terpulas pada sitoplasma. Sel tumor yang terpulas positif dihitung secara visual dengan mikroskop cahaya binokuler olympus CX41, selanjutnya diukur menggunakan sistem skoring. Data yang terkumpul dianalisis secara statistik. Perbedaan ekspresi Cyclin D1 pada berbagai *grading* dan COX-2

PENELITIAN

Analisis Ekspresi Cyclin D1 dan COX-2 pada Berbagai Grading
Erwin Sunardi dkk

P-ISSN 0215-7284

e-ISSN 25279106

Terakreditasi KEMENRISTEKDIKTI/Sinta-3

pada berbagai *grading* dianalisis dengan uji Kruskal Wallis *test* ($p < 0,05$) dan hubungan Cyclin D1 dan COX-2 dengan uji statistik Spearman ($p < 0,05$).

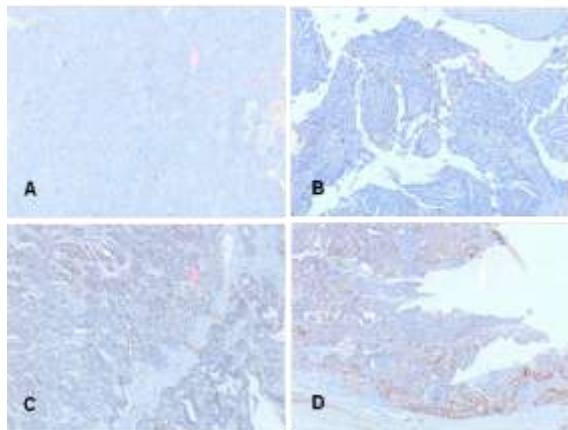
HASIL

Hasil penelitian diperoleh data rerata usia penderita dalam penelitian ini $55,35 \pm 8,10$. Penderita termuda 42 tahun dan tertua 70 tahun. Usia penderita karsinoma endometrioid ovarium paling banyak berada pada rentang usia 50-59 tahun yaitu sebanyak 39,1%.

Tabel 1. Distribusi usia penderita karsinoma endometrioid ovarium.

Usia	Grading histopatologik			Total
	1	2	3	
40-49 tahun	5	1	0	6 (26,1%)
50-59 tahun	1	4	4	9 (39,1%)
60-69 tahun	1	2	4	7 (30,4%)
≥ 70 tahun	0	0	1	1 (4,4%)
Total	7	7	9	23 (100%)

Pada pewarnaan imunohistokimia Cyclin D1 didapatkan hasil bervariasi mulai dari skor 0 hingga skor 3+. Hasil pulasan dapat dilihat pada Gambar 1.

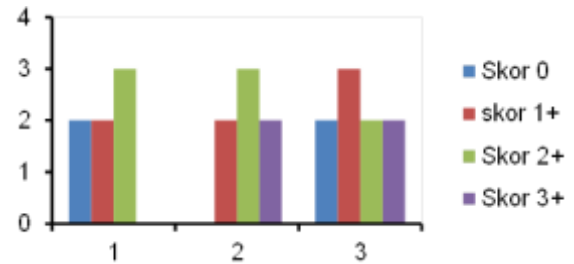


Gambar 1. Ekspresi Cyclin D1 pada karsinoma endometrioid ovarium (Imunohistokimia 100x). A. Skor 0, B. Skor 1+, C. Skor 2+, D. Skor 3+

Pada penelitian ini dilakukan penghitungan ekspresi Cyclin D1 pada masing-masing kelompok sampel berdasarkan persentase sel yang tercat positif didapatkan hasil *grade* 1 memiliki median 1,0 dengan simpangan interkuartil 1,0 skor terendah 0 dan tertinggi 2, *grade* 2 memiliki median 2,0 dengan simpangan interkuartil 1,0 skor terendah 0 dan tertinggi 3, pada *grade* 3 memiliki median 1,0 dengan

simpangan interkuartil 1,0 skor terendah 0 dan tertinggi 3 (Gambar 2 dan Tabel 2)

Analisis uji statistik Kruskal Wallis menunjukkan tidak ada perbedaan ekspresi Cyclin D1 pada berbagai *grading* karsinoma endometrioid ovarium ($p > 0,05$).

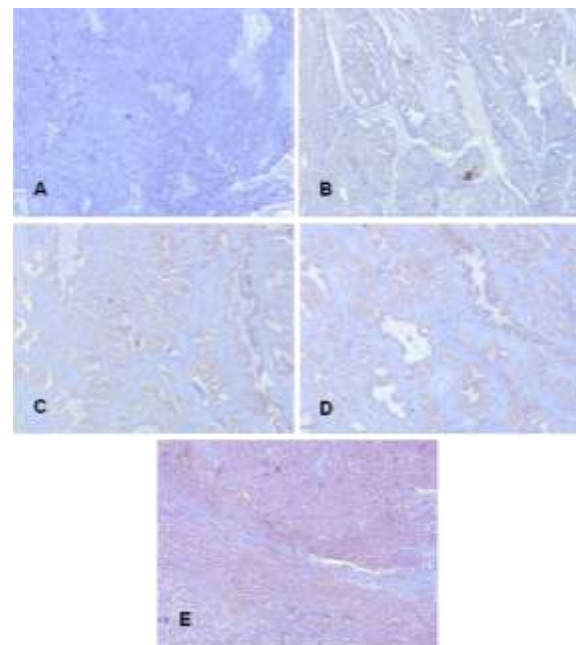


Gambar 2. Distribusi ekspresi Cyclin D1 pada berbagai *grading* histopatologik

Tabel 2. Distribusi hasil analisis ekspresi Cyclin D1 berdasarkan *grading* histopatologik.

Grading	n	Ekspresi Cyclin D1				p
		Median	IQD	Min	Maks	
1	7	1,0	1,0	0	2	0,430
2	7	2,0	1,0	0	3	
3	9	1,0	1,0	0	3	

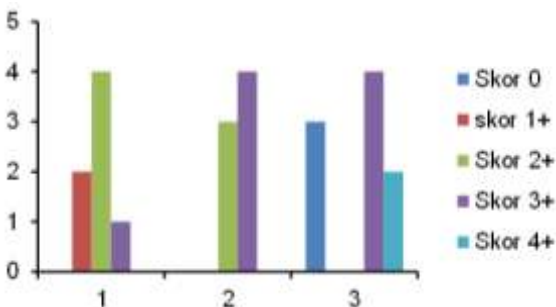
Pada pewarnaan dengan COX-2 didapatkan hasil bervariasi mulai dari skor 0 hingga skor 4+.



Gambar 3. ekspresi COX-2 pada sitoplasma karsinoma endometrioid ovarium (Imunohisto-kimia, 100x). A. Skor 0, B. Skor 1+, C. Skor 2+, D. Skor 3+, E. Skor 4+

Pada penelitian ini dilakukan penghitungan ekspresi COX-2 pada masing-masing kelompok sampel berdasarkan persentase sel yang tercat. Didapatkan hasil *grade 1* memiliki nilai median 2,0 dengan simpangan interkuartil 0,5 skor terendah 1 dan tertinggi 3, *grade 2* memiliki median 3,0 dengan simpangan interkuartil 0,5 skor terendah 2 dan tertinggi 3, *grade 3* memiliki median 3,0 dengan simpangan interkuartil 2,0 skor terendah 0 dan tertinggi 4. (Gambar 4 dan Tabel 3).

Pada hasil analisis Kruskal Wallis test tidak terdapat perbedaan ekspresi COX-2 pada berbagai *grading* karsinoma endometrioid ovarium ($p > 0,05$) (Tabel 3).



Gambar 4. Distribusi ekspresi COX-2 pada berbagai *grading* histopatologik.

Tabel 3. Distribusi hasil analisis ekspresi COX-2 berdasarkan *grading* histopatologik.

Grading	n	Ekspresi COX-2				p
		Median	IQD	Min	Maks	
1	7	2,0	0,5	1	3	0,303
2	7	3,0	0,5	2	3	
3	9	3,0	2,0	0	4	

Hubungan antara ekspresi Cyclin D1 dan COX-2 pada berbagai *grading* histopatologik karsinoma endometrioid ovarium dievaluasi dengan menggunakan statistik dengan uji korelasi *Spearman*. Hasil analisis menunjukkan koefisien korelasi (rs) sebesar -0,453 dan $p=0,307$ ($\alpha < 0,05$) pada *grade 1*, menunjukkan tidak adanya hubungan antara ekspresi Cyclin D1 dan COX-2. Koefisien korelasi (rs) sebesar 0,076 dan $p=0,872$ ($\alpha < 0,05$) pada *grade 2* menunjukkan tidak adanya hubungan antara ekspresi Cyclin D1 dan COX-2. Koefisien korelasi (rs) sebesar 0,679 dan $p=0,044$ ($\alpha < 0,05$) pada kelompok *grade 3* menunjukkan adanya hubungan antara ekspresi Cyclin D1 dan COX-2. Koefisien korelasi (rs) sebesar 0,401 dan $p=0,058$ ($\alpha < 0,05$) pada semua kelompok *grading* menunjukkan tidak adanya hubungan

antara ekspresi Cyclin D1 dan COX-2 pada berbagai *grading* histopatologik karsinoma endometrioid ovarium (Tabel 4).

Tabel 4. Hubungan ekspresi Cyclin D1 dan COX-2.

Grading	n	Korelasi Cyclin D1 – COX-2	
		rs	p
1	7	-0,453	0,307
2	7	0,076	0,872
3	9	0,679	0,044*
Semua <i>grade</i>	23	0,401	0,058

Keterangan: *signifikan pada $\alpha=0,05$ (Korelasi Spearman).

DISKUSI

Karsinoma endometrioid ovarium merupakan salah satu karsinoma yang paling banyak menyebabkan kematian sebab penderita sering datang pada stadium lanjut. Karsinoma ini dipilih karena merupakan keganasan epitel ovarium tersering kedua pada organ reproduksi wanita dan lebih dari 42% kasus berhubungan dengan endometriosis serta 15-20% kasus berhubungan dengan karsinoma endometrioid endometrium.¹⁰

Kriteria *World Health Organization* (WHO) 2014 untuk karsinoma ovarium ada perubahan pada karsinoma serosa dibagi menjadi *low grade* dan *high grade*, namun untuk sistem *grading* karsinoma endometrioid tidak terdapat perubahan yaitu tetap dibagi tiga *grade* berdasarkan gambaran morfologi.¹¹

Usia penderita paling banyak didapatkan pada rentang usia 50-59 tahun sebanyak 9 kasus (39,1%), pada rentang usia 60-69 tahun sebanyak 7 kasus (30,4%), kemudian pada rentang usia <40-49 tahun didapatkan 6 kasus (26,1%) serta 1 kasus pada usia 70 tahun (4,4%). Hal ini sesuai dengan literatur yang menyebutkan bahwa karsinoma endometrioid ovarium paling sering terdapat pada usia dekade lima dan enam serta lebih dari 42% berhubungan dengan endometriosis pada ovarium yang sama atau tempat lain di pelvis.¹⁰ Studi retrospektif terbaru menganalisis 533 wanita dengan karsinoma ovarium di antaranya terdapat 98 (18,4%) kasus karsinoma endometrioid ovarium, usia median 50 tahun, usia terendah 28 dan tertinggi 78 tahun.¹²

Hasil analisis Kruskal Wallis test didapatkan nilai $p=0,430$ ($p < 0,05$) sehingga hipotesis penelitian tidak terbukti, yaitu tidak terdapat perbedaan ekspresi Cyclin D1 antara ketiga kelompok *grading* histopatologik karsinoma endometrioid ovarium. Hal ini didukung oleh penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa

mekanisme ekspresi Cyclin D1 pada karsinoma ovarium masih belum jelas, amplifikasi CCND1 pada karsinoma ovarium masih sangat sedikit.^{13,14} Pada banyak kanker, ekspresi Cyclin D1 berhubungan dengan karakteristik tumor dan hasil akhir klinik. Lokasi protein Cyclin D1 mungkin memiliki implikasi pada diagnosis dan prognosis.⁶ Hilangnya kontrol terhadap Cyclin D1 adalah tahap awal dalam proses onkogenesis. Sinyal ekstraseluler akan menginduksi ekspresi Cyclin D1 Dalam sel dan memasuki siklus sel, inti mengikat dan mengaktifkan *Cyclin dependent Kinase* (CDK4 dan CDK6).^{15,16}

Penelitian lain menunjukkan bahwa over-ekspresi Cyclin D1 tidak cukup sendiri untuk mengubah sel primer, sehingga dibutuhkan bekerja sama dengan onkogen lain untuk menginduksi transformasi.¹⁷ Pada penelitian terdahulu menyatakan bahwa lokasi ekspresi Cyclin D1 pada inti dapat dicapai melalui ekspresi cdk inhibitor p21. Hal tersebut diduga bahwa cdk inhibitor termasuk p21 mungkin memiliki peran tambahan sebagai protein adaptor yang terlibat pada pembentukan dan lokasi intraseluler dari kompleks kinase.¹⁸ Adanya jalur berbeda yang mempengaruhi ekspresi Cyclin D1 inilah yang menyebabkan tidak adanya hubungan antara ekspresi Cyclin D1 pada berbagai *grading* karsinoma endometrioid ovarium. Penelitian terdahulu menyatakan bahwa ekspresi Cyclin D1 yang positif pada 72 dari 81 kasus karsinoma ovarium, dengan tingkat ekspresi yang berbeda-beda pada tiap *gradenya* namun tidak terdapat korelasi antara ekspresi Cyclin D1 dengan *grading* tumor.

Hasil analisis Kruskal Wallis *test* didapatkan nilai $p=0,303$ ($p<0,05$), sehingga hipotesis penelitian tidak terbukti, yaitu tidak terdapat perbedaan ekspresi COX-2 antara ketiga kelompok *grading* histopatologik karsinoma endometrioid ovarium.

Cyclooxygenase (COX) adalah keluarga myeloperoksidase yang berlokasi di sisi luminal dari retikulum endoplasma dan membran inti, yang mengkatalisasi prostaglandin dari asam arakhidonat. Keragaman reseptor PGE2 dan jalur sinyal yang berbeda menunjukkan bahwa efek protumorigenik PGE2 tergantung pada tipe sel dan tipe reseptor yang tereksresi.²² Mekanisme seluler yang bertanggung jawab pada perburukan prognosis dengan peningkatan ekspresi COX-2 pada karsinoma endometrioid ovarium masih belum jelas, sejauh ini beberapa fungsi yang

dipengaruhi COX-2 telah dijelaskan pada beberapa jenis karsinoma di antaranya peningkatan proliferasi sel, penghambatan apoptosis, dan stimulasi angiogenesis.¹⁹ Meskipun mekanisme peningkatan regulasi COX-2 tidak diketahui, bukti terbaru diduga bahwa ekspresi COX-2 dapat merupakan hasil dari disregulasi pada langkah kunci jalur signaling EGFR yaitu RAS dan MAPK.²⁰

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa peningkatan ekspresi COX-2 tidak memperlihatkan adanya perbedaan yang bermakna pada berbagai *grading* histopatologik karsinoma ovarium.²⁰ Pada penelitian lain menyebutkan bahwa untuk ekspresi COX-2 yang tinggi berhubungan bermakna pada karsinoma yang non musinus, dengan proporsi lebih besar pada faktor lain seperti kelompok usia tua, tumor *grade* 3, dan stadium lanjut tetapi tidak mempunyai hubungan yang bermakna secara statistik. Serta ekspresi COX-2 yang tinggi pada karsinoma ovarium berhubungan dengan respon kemoterapi yang lebih baik.⁸

Secara statistik pada penelitian ini terbukti tidak didapatkan adanya hubungan antara Cyclin D1 dan COX-2 pada semua *grade*. Hal ini bisa disebabkan karena banyaknya faktor-faktor diluar penelitian yang mempengaruhinya. Mekanisme yang mendasari adanya hubungan Cyclin D1 dan COX-2 pada karsinoma endometrioid ovarium masih belum jelas.²³ Walaupun pada percobaan dengan menggunakan penghambat COX-2 pada hewan coba memberikan hasil adanya penurunan pertumbuhan tumor²² Pada hasil analisis tiap kelompok *grading*, didapatkan hasil pada kelompok *grade* 1 dan 2 tidak terdapat hubungan, sedangkan pada kelompok *grade* 3 didapatkan hasil adanya hubungan antara ekspresi Cyclin D1 dan COX-2 dengan (p)=0,044, $p=0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa pada *grade* 3 semakin meningkat ekspresi Cyclin D1 maka semakin meningkat pula ekspresi COX-2, hal tersebut diduga bahwa pada tumor yang *high grade* peran Cyclin D1 terjadi pada tahap akhir dari ekspresi COX-2. Hasil penelitian ini didukung oleh Penelitian yang dilakukan Krecicki dan kawan kawan (2004) menyatakan ekspresi Cyclin D1 secara statistik lebih sering pada tumor dengan stadium lanjut.

Dari penelitian-penelitian sebelumnya diketahui pula bahwa ekspresi Cyclin D1 dan COX-2 lebih sering meningkat pada karsinoma

ovarium grade 3.

KESIMPULAN

Karsinoma endometrioid ovarium grade 1, 2, 3 menunjukkan ekspresi D1 dan COX-2 yang tidak berbeda bermakna dan pada karsinoma endometrioid grade 1, grade 2, grade 3 menunjukkan tidak ada korelasi antara ekspresi cyclin D1 dan COX-2.

DAFTAR PUSTAKA

1. Cho KR, Shih LM. Ovarian Cancer. *Annu Rev Pathol.* 2009; 4: 287-313.
2. Saad AF, Wei Hu, Anil K Sood. *Microenvironment and pathogenesis of epithelial ovarian cancers.* Springer. *Horn Cancer.* 2010; 1: 277-90.
3. Mok SC, Kwong J, Welch WR, Samimi G, Ozbun L, Bonome T, *et al.* Etiology and pathogenesis of epithelial ovarian cancer, disease marker. Harvard: IOS Press. 2007; 23: 367-76.
4. Sporny S, Klencka DS, Ratynska M, Cyclin D1 expression in primarythyroid carcinomas. *Neuroendocrinol Lett.* 2005; 26: 815-8.
5. Barbieri F, Cagnoli M, Ragni N, Pedulla F, Foglia G, Alama A. Expression of cyclin D1 correlates with malignancy in human ovarian tumours. *Br J Cancer.* 1997; 75: 1263-8.
6. Dhar KK, Branigan K, Parkes J, Howells REJ, Hand P, Musgrove C, *et al.* Expression and subcellular localization of cyclin D1 protein in epithelial ovarian tumor cells. *British J Cancers.* 1999; 91: 1174-81.
7. Lai CR, Hsu CY, Chen YJ, Yen MS, Chao KC, Yau L, Fen A. Ovarian cancers arising from endometriosis: A microenvironmental biomarker study including ER, HNF1β, p53, PTEN, BAF250a, and COX-2. *JCMA.* 2013;76: 629-34.
8. Khunnarong J, Tangjitgamol S, Manusirivithaya S, Pataradool K, Thavaramara T, Leelahakorn S. Expression of cyclooxygenase -1 and 2 in epithelial ovarian cancer: A clinicopathologic study. *World J Oncol.* 2010; 1: 19-27.
9. Stewart ZA, Westfall MD, Pietenpol JA. Cell cycle dysregulation and anticancer therapy. *Trends Pharmacol Sci.* 2003; 24: 6462-72.
10. Kurman J, Carcangiu L, Herrington S, Young H. WHO: Classification of Tumours of Female Reproductive Organs. Lyon: IARC Press; 2014; p31, 124-8.

11. Soyama H, Miyamoto M, Takano M, iwahashi H, Kato K, Sakamoto T, *et al.* A Pathological study using 2014 WHO criteria reveals poor prognosis of grade 3 ovarian endometrioid carcinomas. *In Vivo.* 2018; 32: 597-602.
12. Levitan D. Endometrioid Ovarian Cancer Presents Earlier, Offers Better Survival Than Serous Carcinoma. *Cancer Network Oncol.* 2017.
13. Courjal F, Louason G, Speiser P, Katsaros D, Zeillinger R, Theillet C. Cyclin gene amplification and overexpression in breast and ovarian cancers: evidence for the selection of cyclin D1 in breast and cyclin E in ovarian tumours. *Int J Cancer.* 1996; 69: 247-53.
14. Masciullo V, Scambia G, Marone M, Giannitelli C, Ferrandina G, Bellacosa A, *et al.* Altered expression of cyclin D1 and CDK4 genes in ovarian carcinomas. *Int J Cancer.* 1997; 74: 390-5.
15. Musgrove EA, Caldron E, Barraclough, Stone A, Sutherland RL. Cyclin D1 as a Therapeutic target in Cancer. *Nat Rev Cancer.* 2011; 11: 558-72.
16. Weinberg RA. The retinoblastoma protein and cell cycle control. *Cell.* 1995; 81: 323-30.
17. Lee RJ, Albanese C, Fu M, D'Amico M, Lin B, Watanabe G, *et al.* Cyclin D1 is required for transformation by activated neu and is induced through an E2F-dependent signaling pathway. *Mol Cell Biol.* 2000; 20: 672-83.
18. LaBaer J, Garrett MD, Stevenson LF, Slingerland JM, Sandhu C, Chou HS, *et al.* New functional activities for the p21 family of CDKinhibitors. *Genes Dev.* 1997;11:847-62.
19. Denkert C, Kobel M, Pest S, Koch I, Berger S, Schwabe M, *et al.* Expression of cyclooxygenase 2 is an independent prognostic factor in human ovarian carcinoma. *Am J Pathol.* 2002; 160: 893-903.
20. Ferrandina G, Lauriola L, Zannoni GF, Fagotti A, Fanfani F, Legge F, *et al.* Increased Cyclooxygenase-2 (COX-2) expression is associated with chemotherapy resistance and outcome in ovarian cancer patients. *Ann Oncol.* 2002; 13: 1205-11.
21. Krecicki T., Smigel R., Frazek M., Kowalczyk, M., Sasiadek, MM. Studies of the cycle cell regulatory protein P16, Cyclin D1 and retinoblastoma protein in laryngeal

- carcinoma tissue. *J Laryngol Oncol.* 2004; 118: 676-80.
22. Sobolewski C, Carella C, Dicato M, Ghibelli L, Diederich M. The role of cyclooxygenase-2 in cell proliferation and cell death in human malignancies. *Int J Cell Biol.* 2010;2010: 215158.doi:10.1155/2010/215158.
23. Li W, Hui J, Zhang J, Xian Y, Wan L. Effects of cyclooxygenase inhibitors in combination with taxol on expression of cyclin D1 and Ki-67 in a xenograft model of ovarian carcinoma. *Int J Mol Sci.* 13: 9741-53.