

T.C.
GAZIANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
TIBBİ ONKOLOJİ BİLİM DALI

AKCİĞER KANSERİNDE COX-2 EKSPRESYONUNUN
İMMUNOHİSTOKİMYASAL İNCELENMESİ VE PROGNOZLA İLİŞKİSİ

YAN DAL UZMANLIK TEZİ

Dr. H. Mehmet TÜRK

Tez danışmanı
Doç. Dr. Celalettin CAMCI

Gaziantep – 2003

İÇİNDEKİLER

Sayfa

Önsöz.....	II
Kısaltmalar.....	III
Tablo ve şekil listesi.....	IV
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Akciğer Kanserlerinin Epidemiyolojisi.....	3
2.2. Sigara ve Akciğer Kanseri İlişkisi.....	3
2.3. Prognostik Faktörler.....	4
2.4. Akciğer Kanserlerinde Patolojik Tanı.....	5
2.5. KHDAK'nin Histolojik alt tipleri.....	6
2.5.1. Skuamöz Hücreli Karsinom.....	6
2.5.2. Adenokarsinom.....	6
2.5.3. Büyük Hücreli Karsinom.....	6
2.6. Küçük Hücreli Akciğer Kanseri (KHAK).....	6
2.7. Akciğer Kanserinde Evreleme.....	7
2.7.1. Akciğer Kanserinde TNM Sınıflaması.....	7
2.7.2. TNM Sınıflamasına Göre Klinik Evreleme.....	8
2.7.3. Evrelemede Özel Durumlar.....	8
2.8. Siklooksijenaz 2 (Cox-2).....	9
2.8.1. Cox-2 ve Kanser.....	11
2.8.2. Kanser Patogenezinde Cox-2'nin Rolü.....	12
3. MATERYAL VE METOD.....	16
3.1. Hasta Seçimi.....	16
3.2. İmmunohistokimya ve Değerlendirmesi.....	16
3.3. İstatistik.....	17
4. BULGULAR.....	18
5. TARTIŞMA.....	23
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	27
7. ÖZET.....	28
8. İNGİLİZCE ÖZET.....	29
9. KAYNAKLAR.....	30

ÖNSÖZ

Yan dal uzmanlık eğitimim boyunca hem bilimsel yaklaşımları hem de hastalara karşı tutumu ile benim için örnek olan, hiçbir zaman bilimsel desteklerini esirgemeyen sayın hocam Doç. Dr. Celalettin CAMCI'ya, hem iç hastalıkları hem de yan dal uzmanlık eğitimim süresi boyunca bilgi ve tecrübesinden istifade ettiğim hocam Doç. Dr. Süleyman BÜYÜKBERBER'e, hocalarım Prof. Dr. Yalçın KEPEKÇİ'ye, Prof. Dr. Abdurrahman KADAYIFÇI'ya, çalışmalarımızda yardımları ile bize zaman kazandıran Prof. Dr. İbrahim SARI'ya, Uz. Dr. Alper SEVİNÇ başta olmak üzere bütün çalışma arkadaşlarıma ve hiçbir zaman desteğini benden esirgemeyen aileme teşekkürlerimi sunarım.

Dr. H. Mehmet TÜRK

KISALTMALAR

Cox-2	Siklooksijenaz-2
KHDAK	Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri
KHAK	Küçük Hücreli Akciğer Kanseri
PG	Prostaglandin
IL-1	İnterlökin 1
EGF	Epidermal Büyüme Faktörü
TGF-B	Transforme edici Büyüme Faktörü Beta
NSAİİ	Non Steroid Anti İnflamatuar İlaç
MDA	Malondialdehid
VEGF	Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü
FGF	Fibroblast Büyüme Faktörü

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 1. Hasta Karakteristikleri	
Tablo 2. Evrelere göre Cox-2 ekspresyonu gösteren ve Cox-2 eksprese etmeyen hastaların ortalama yaşam süreleri	18
Şekil 1. Prostaglandin Biyosentezi	20
Şekil 2. Cox-1 ile Cox-2 arasındaki yapısal farklılıklar	9
Şekil 3. Hastaların evrelere göre dağılımı	10
Şekil 4. Hastaların histopatolojik alt gruplara göre dağılımı	19
Şekil 5. Histopatolojik alt gruplara göre Cox-2 eksprese eden hastaların oranları	19
Şekil 6. Evrelere göre Cox-2 ekspresyonu gösteren hastaların oranları	21
Şekil 7. Opere edilen ve inoperabl hastaların Cox-2 ekspresyon oranları	21
	22

GİRİŞ VE AMAÇ

Akciğer kanseri tüm dünyada ve ülkemizde erkeklerde birinci, kadınlarda ikinci sıklıkta rastlanan, gerek tanı gerekse tedavi yöntemlerindeki ilerlemelere rağmen hala morbidite ve mortalitesi yüksek seyretmeye devam eden bir kanser çeşididir. Klinik ve/veya patolojik sınıflandırma ile aynı evrede gibi görünen hastalarda hastalığın farklı ve bazen çok daha agresif seyretmesi, araştırmacıları akciğer kanserleri için daha farklı prognoz belirleyicileri bulmaya doğru yönlendirmiştir. Akciğer kanserlerinde erken evrelerde cerrahi rezeksiyonla kür sağlamak mümkünken ileri evrelerde mümkün değildir. Böyle hastalar için uygulanmakta olan tedaviler hastalığın progresyonunu yavaşlatmak ve semptomatik palyasyon amacına yöneliktir. Ayrıca erken evrede tanı konan ve cerrahi uygulanan hastalarda bile daha sonra hastalığın nüks etmesi veya metastaz ile tekrar ortaya çıkması söz konusu olabilmektedir. Böyle hastaların cerrahi sonrası hangi parametrelerle takip edilmesi gerektiği netlik kazanmamıştır.

Son iki dekat boyunca gerek immunohistokimya gerekse moleküler düzeyde çok sayıdaki araştırma metodunun tıbbın hizmetine girmesi sonucunda diğer tümör çeşitlerinde olduğu gibi akciğer kanseri üzerinde de çok yoğun moleküler düzeyde incelemeler yapılmaya başlanmıştır. Bazı araştırmaların sonuçlarına göre akciğer kanserinde uzun zamandan beri bilinmekte olan klinik ve patolojik parametrelerin yanı sıra prognozu belirlemede kullanılabilecek bazı yeni moleküler ve/veya immunohistokimyasal parametrelerin varlığından söz edilmektedir.

Toplumdaki yaşlı insanların sayısındaki artış ve artan yaş ile akciğer kanseri insidansındaki artma, akciğer kanseri olan inoperabl yaşlı hastalar için daha az toksik olan yeni tedavi yaklaşımları geliştirme çabalarını zorunlu kılmıştır. Yapılan hayvan çalışmalarında ve insan tümörlerinde siklooksijenaz (Cox) 2 enziminin ekspresyonunun tümör dokusunda arttığı saptanmıştır. Bu durumun hastalığın progresyon ve metastaz yeteneği ile bir ilişkisi olabilir.

Biz de bu çalışmamızda akciğer kanseri tanısı almış olan hastalarda;

1. Histopatolojik alt gruplar arasında Cox-2 ekspresyonunun farklı olup olmadığını,
2. Hastalık evresine göre Cox-2 ekspresyon oranlarının değişip değişmediğini,
3. Evrelere göre Cox-2 ekspresyonu gösteren ve Cox-2 eksprese etmeyen hastaların ortalama yaşam sürelerinin farklı olup olmadığını yani Cox-2 ekspresyonunun prognostik önemini araştırmayı amaçladık.

GENEL BİLGİLER

AKCİĞER KANSERLERİNİN EPİDEMİOLOJİSİ

Akciğer kanserleri tüm dünyada en fazla karşılaşılan kanserlerden biridir. Hastaların çoğu 50-70 yaş grubundadır. Ancak %5'den azı 40 yaş altındadır. İnsidans yaşla artmaktadır, 45 yaşından sonra bu artış daha belirgindir. Tanının konulduğu ortalama yaş 60 civarındadır. Akciğer kanseri kadınlarda daha az görülmektedir. Gelişmiş ülkelerde kadınlarda sigara içimi prevalansı %20-40, erkeklerde %30-40 iken gelişmekte olan ülkelerde kadınlarda %2-10, erkeklerde %40-60'tır. Son yıllarda akciğer kanseri insidansı kadınlarda erkeklere göre daha hızlı artış göstermektedir. Bu durumun sigara içme alışkanlıklarındaki değişikliklerle ilgili olduğu düşünülmektedir.

Histolojik tip gözönüne alındığında adenokarsinomlar hem kadın hemde erkeklerde daha genç yaşlarda görülmektedir. Kadınlarda daha çok adenokarsinoma ve küçük hücreli karsinom görülürken, erkeklerde skuamöz kanserler daha sık görülmektedir (1).

SİGARA VE AKCİĞER KANSERİ İLİŞKİSİ

Sigara içenlerde akciğer kanseri görülme riski, içmeyenlerden 24-36 kat fazladır. Pasif sigara içiminde ise risk %3,5'tir. Sigara içenlerde akciğer kanseri gelişme riskini etkileyen faktörler sigara içme süresi, içilen sigara sayısı, içilen sigara tipi ve sigaraya başlama yaşıdır (2). Sigara dumanında 4000'den fazla kimyasal bileşen vardır. Hem sigarada, hem de dumanında radyoaktif maddeler bulunur. Bunlar radon ve bozunma ürünleri, kurşun (Pb^{210}), bizmut (Bi^{210}) ve polonyum (Po^{210})'dur. Bu radyoizotoplar, sigara dumanının karsinojenitesine katkıda bulunabilirler.

Sigara içilmesi ile bronş epitelindeki progressif displastik değişiklikler mukozal hiperplaziden başlayarak metaplazi, atipi, karsinoma in situ ve invaziv karsinoma dönüşmektedir. Bu değişikliklerin trakeobronşial mukozanın birçok yerinde olduğu gösterilmiştir. Sigaranın bırakılmasıyla, bu değişiklikler normale

döner ve 20 yıldan az sigara içenlerde sigarayı bıraktıktan 10-15 yıl sonra akciğer kanseri riski, sigara içmeyenlerdekine eşit olmaktadır

Her iki cinste de adenokarsinomlar sigara içmeyenlerde çok daha sıktır; fakat sigaradan bağımsız olarak skuamöz hücreli karsinom erkeklerde, adenokarsinom ise kadınlarda daha sıktır. Sigara ile en fazla ilişkili histolojik tipler skuamöz hücreli karsinom ve özellikle kadınlarda olmak üzere küçük hücreli karsinomdur (3).

Meslek ve Çevresel Faktörler

Amerika da akciğer kanserlerinin %5-15'inin mesleki maruziyete bağlı olarak geliştiği belirtilmektedir. Arsenik, asbest, bisklorometiler, nikel ve nikel bileşikleri, polisiklik aromatik hidrokarbonlar, radyasyon, krom, vinil klorid gibi maddelerle temas, ayrıca hava kirliliği, skar ve fibrozisin de karsinogenezisi hazırladığı düşünülmektedir.

PROGNOSTİK FAKTÖRLER

Evre veya hastalığın yaygınlığı prognozu belirleyen en önemli göstergedir (4). Küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK), bütün akciğer kanserlerinin yaklaşık % 80' ini oluşturmaktadır. KHDAK'i olan hastaların yaklaşık %30'unu Evre I ve II hastalar oluşturmaktadır. Bu hastalar için en iyi yaklaşım cerrahi tedavidir. Hastalığın tam rezeksiyonuna rağmen 5 yıllık sağkalım Evre I için % 57-67, Evre II için % 39- 55 olup relaps hastaların çoğunda cerrahiden sonraki ilk 2 yıl içerisinde gelişmektedir (4).

Hastaların % 25-30'u tanı sırasında lokal ileri evrededir. (Evre III A ve III B). Bu evredeki tümörlerin cerrahi rezeksiyonu bazı vakalarda mümkün olabilirse de, bu grup hastaların tedavilerinin aslı palyatif veya radikal radyoterapidir. Evre III A için 5 yıllık survival % 9-25, Evre III B için % 3-7'dir. Son çalışmalar bu grup hastalarda kemoterapinin ilave edilmesinin sağkalımı arttırdığını göstermiştir (5). Evre IV hastaların sonuçları oldukça kötü olup 5 yıllık sağkalım % 1'in altındadır. Gerçekten sistemik tedavi için uygun hastalarda kemoterapi sağkalımı ancak 6-12 hafta uzatabilmektedir. 1 yıllık sağkalım destek tedavisi ile %5-15, kemoterapi alanlarda ise %30-40'dır. (4,6). Patolojik evreleme ile bildirilen sağkalım süreleri, klinik evrelemedeki sağkalım sürelerine göre daha yüksektir. Bu durum patolojik

kriterlere göre daha doğru bir evreleme yapılması ve özellikle Evre III A'da cerrahi tedavi için uygun hastaların seçilmesi ile ilişkilidir. Tanısal girişimler, cerrahi, radyoterapi ve kemoterapideki ilerlemelere rağmen tüm KHDAK'li hastalarda yaşam süreleri kötü olup 5 yıllık sağkalım %8-14'dür.

İleri evrelerdeki hastalarda özellikle %10'dan fazla kilo kaybı, performansın düşük oluşu kötü prognozu gösterir. Kadınlarda kanserin daha iyi bir seyir göstermesi nedeni ile cinsiyet prognostik önem taşıyabilir (7). Rezektabl tümörlü hastalarda ileri yaş, postoperatif yüksek mortalite oranları nedeni ile genellikle olumsuz bir prognostik faktör olarak tanımlanır (8). İleri evre (evre III B ve IV) KHDAK'nde hastaların kemoterapi rejimleri için yaş ve ırk önemli bir faktör değildir. Bununla beraber sosyoekonomik faktörler hastalığın seyrini etkileyebilir.

Skvamöz hücreli karsinomlar lokal, bölgesel büyüme eğiliminde iken adenokarsinomlar daha fazla uzak metastaz yaparlar. Ancak yine de histolojik tipin prognoza etkisi gösterilememiştir (9).

Beş yıllık sağkalım oranı diploid tümörlerde (%61), anöploid tümörlerden (%35) daha yüksek bulunmuştur (10,11). KHDAK'li hastaların %49-60'ında kromozom 3p delesyonu gözlenmiştir. Bu delesyon sağkalımı, evre ve histolojik tipten bağımsız olarak olumsuz yönde etkilemektedir (12).

K-ras mutasyonunun varlığı, kuvvetli bir prognostik faktördür erken nüks ve kısa sağkalım süresi ile ilişkilidir. HER-2/neu, c-erbB-2 olarak da bilinir ve bir membran büyüme reseptörüdür. KHDAK'li olgularda yapılan immünohistokimyasal çalışmada HER-2 ekspresyonu, Evre I tümörlerin %18'inde, Evre IV tümörlerin %60'ında saptanmıştır (13). Bu durum KHDAK'nde HER-2 gen ekspresyon artışının KHDAK'inde hem ileri evre hem de kısa yaşam süresi ile ilişkili olduğunu düşündürmüştür.

bcl-2 programlanmış hücre ölümünü (apoptozis) inhibe eden bir proto-onkogendir. KHDAK'de bcl-2 ekspresyonu ile sağkalım arasında doğrudan bir ilişki bulunmaktadır. bcl-2 pozitif hastalarda 5 yıllık yaşam oranı daha fazladır (14).

AKCİĞER KANSERLERİNDE PATOLOJİK TANI

Akciğer kanserlerinde insidanstaki artış ve hastaların genellikle inopere evrede yakalanmış olmaları nedeniyle birinci hedef erken evrede tanı koymaktır. Genellikle balgam, bronkoskopik aspirasyon, lavaj, fırçalama ve bronkoskopik

mukoza biyopsisi, transbronşial biopsi yada eğer varsa periferik lenf nodu eksizyonu ile tanı konmaktadır. Bu konvansiyonal yöntemlerin duyarlılığı tümörün lokalizasyonuna büyüklüğüne ve histolojik tipine bağlıdır.

Akciğer kanserlerinin farklı biyolojik davranış ve prognozla karakterli olan farklı histolojik tipleri tümüyle "küçük hücreli" ve "küçük hücreli dışı" olmak üzere iki ana grup altında toplanmaktadır.

KHDAK'nin Histolojik alt tipleri:

a) Skuamöz Hücreli Karsinom

Trakea ve bronş ağacının santral ya da proksimalinde oluşma ve yavaş gelişme eğiliminde olan bir tümördür. Tümörde skuamöz metaplazi, displazi ve in-situ karsinom bölgeleri bulunabilir. Tümör insidansında eski yıllara göre bir azalma görülmektedir. Tümörlerin %16'sı periferik yerleşimlidir, %20'si kavitasyona eğilimli ve 1/3'i kötü diferansiye olup diğer tiplerden daha fazla uzak yayılım yapar.

b) Adenokarsinom

Önceleri kadınlarda ve daha genç yaş gruplarında görüldüğü ve sigara ile bağlantısı olmadığı kabul edildiği halde, bugün sigara ile ilgisi olduğu kabul edilmektedir. Genellikle 2/3'si periferik lokalizasyonlu olup distal hava yolları ve alveol epitellerinden ya da skar alanlarından gelişmekte, 1/3'i büyük bronşların yüzey epiteli ya da submukozal bezlerden gelişip santralde yerleşmektedir.

c) Büyük Hücreli Karsinom

Periferik yerleşme eğiliminde büyük, agresif tümörler olup 5 yıl yaşam %5'in altındadır. Hematoksilin eozin ve müsin boyaları ile glandüler ve skuamöz diferansiasyonu olmayan, total diferansiasyon kaybı gösteren tümörlerdir.

Küçük Hücreli Akciğer Kanseri (KHAK)

KHAK'i %90 santral, %10 periferik yerleşim gösterir. KHAK, lenfatik ve vasküler invazyon ile submukozal yayılıma bağlı endobronşial kitle oluşturmayabilir. Mediasten invazyonu nedeniyle lenfoma ile karışabilir. Tanı anında %70 metastatik olduğu saptanmaktadır. Hematojen yolla en fazla beyin, kemik iliği ve karaciğere metastaz yapar.

Akciğer tümörlerinde heterojenite çok önemli tanısal bir sorun oluşturmaktadır. Tümörlerin ancak %37'sinin tek tip hücreden oluştuğu, diğerlerinin ise iki yada daha fazla hücre tipine sahip olduğu bildirilmektedir (15).

Patolojik olarak akciğer kanseri tanısı konduktan sonra, hastalığın hangi evrede olduğu, küratif olarak tedavi edilip edilemeyeceği araştırılır.

AKCIĞER KANSERİNDE EVRELEME

Evreleme sisteminin en önemli fonksiyonu kanserli hastaları anatomik alt gruplara ayırarak prognoz ve tedavi şekillerinin belirlenmesini sağlamaktır. Genellikle aynı evrede bulunan hastaların benzer tedavi seçeneği ve sağkalım süresi olduğu düşünülmektedir.

Akciğer Kanserinde TNM Sınıflaması;

PRİMER TÜMÖR (T)

TX: Primer tümörün belirlenememesi veya balgam ya da bronş lavajında malign hücrelerin tespit edilip görüntüleme teknikleri ya da bronkoskopi ile tümörün gösterilememesi.

T1: En geniş çapı ≤ 3 cm, akciğer veya visseral plevra ile çevrili, bronkoskopik olarak lob bronşundan daha proksimale (ana bronşa) invazyon göstermeyen tümör

T2: Tümörün aşağıdaki özelliklerinden en az birine sahip olması

- En geniş çapı >3 cm,
- Ana bronş invaze ancak ana karinaya uzaklık ≥ 2 cm,
- Visseral plevra invazyonu,
- Hiler bölgeye ulaşan ancak tüm akciğeri kapsamayan atelektazi ya da obstrüktif pnömoni.

T3: Tümörün herhangi bir büyüklükte olup göğüs duvarı (superior sulkus tümörleri dahil), diyafragma, mediastinal plevra, pariyetal perikard gibi yapılardan herhangi birine doğrudan invazyon göstermesi veya karinaya 2 cm den daha yakın ancak karinayı tutmayan ana bronştaki tümör veya bütün bir akciğeri kapsayan atelektazi veya obstrüktif pnömoni ile birlikte olan tümör.

T4: Tümörün herhangi bir büyüklükte olup, mediasten, kalp, büyük damarlar, trakea, özofagus, vertebral kolon, karina gibi yapılardan herhangi birini invaze etmesi veya malign plevral veya perikardiyal sıvı ile birlikte olan tümör veya tümörle aynı lob içinde satelit lezyon.

BÖLGESEL LENF BEZİ (N)

N0: Bölgesel lenf bezi metastazı yok.

N1: Aynı taraf peribronşial ve/veya aynı taraf hiler lenf bezlerine metastaz ve primer tümörün direkt yayılması ile intrapulmoner lenf bezlerinin tutulması.

N2: Aynı taraf mediastinal ve/veya subkarinal lenf bezlerine metastaz.

N3: Karşı taraf mediastinal, hiler; aynı veya karşı taraf supraklavikular veya skalen lenf bezi metastazı.

UZAK METASTAZ (M)

M0: Uzak metastaz yok.

M1: Uzak metastaz var.

TNM sınıflamasına göre klinik evreleme:

EVRE IA T1 N0 M0

EVRE IB T2 N0 M0

EVRE IIA T1 N1 M0

EVRE IIB T2 N1 M0, T3 N0 M0

EVRE IIIA T3 N1 M0, T1-3 N2 M0

EVRE IIIB T4 N0 M0, T4 N1 M0, T4 N2 M0, T4 N3 M0, T1 N3 M0, T2 N3 M0, T3 N3 M0

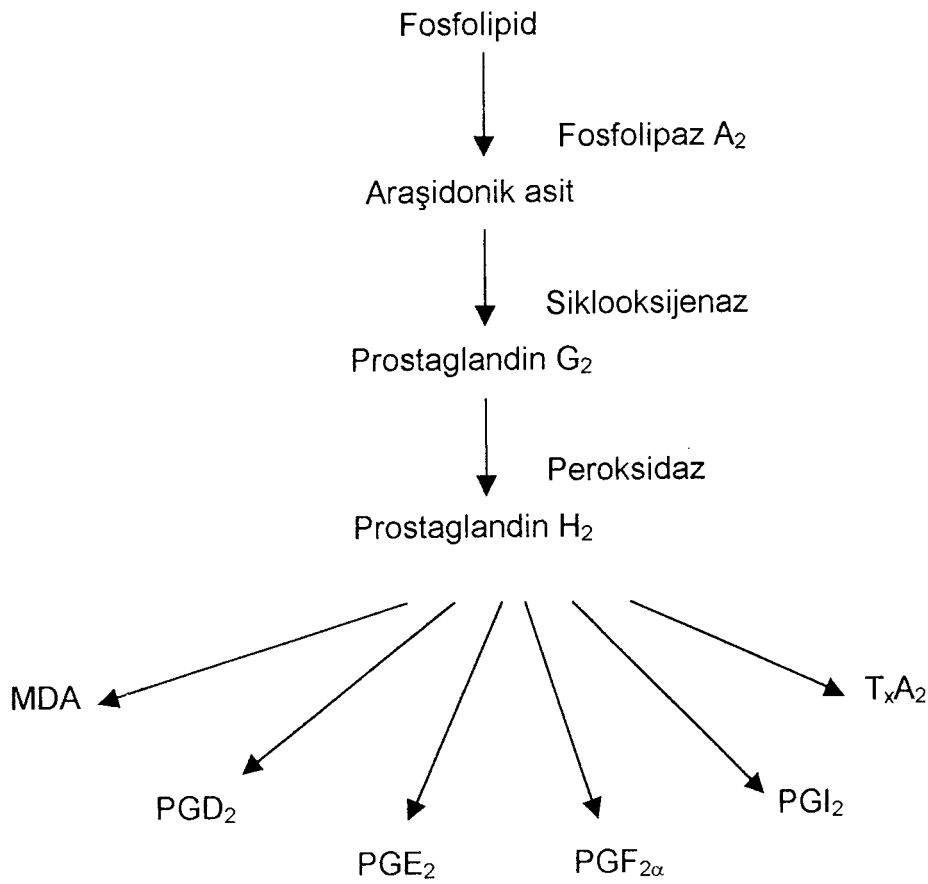
EVRE IV Herhangi bir T, Herhangi bir N, M1

Evrelemede Özel Durumlar

- Rekürren laringeal sinir invazyonu T4 kabul edilir
- Pulmoner arter ve venin perikard içinde invazyonu T4 olarak değerlendirilirken perikard dışında invazyonu T3 kapsamında ele alınır.
- Superior sulkus tümörleri T3 (sempatik ganglionların invazyonundan kaynaklanan "Horner" sendromu dahil) kapsamında değerlendirilirken, brakiyal pleksusun geniş bir şekilde tutulmasından kaynaklanan gerçek "Pancoast" sendromu (Horner sendromu, C8-T1 düzeyinde ağrı ile kol, el ve parmak kaslarında atrofi) T4 olarak evrelendirilir.
- Diyafragma veya toraks duvarının doğrudan invazyonu T3 iken, tümörle komşuluk olmadan ortaya çıkan tutuluşlar M1 olarak değerlendirilir.

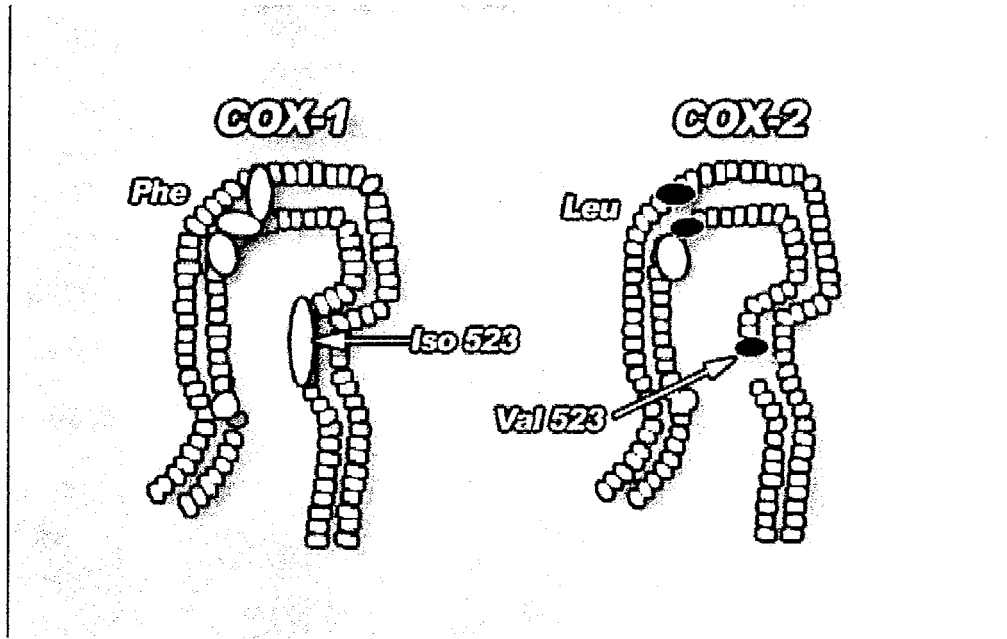
- Visseral plevranın doğrudan invazyonu T2, perietal plevranın (malign sıvı olmadan) invazyonu ise T3 olarak evrelendirilir. Eğer tümörle doğrudan komşuluk olmadan visseral veya parietal plevra tutuluşu varsa (malign sıvı olsun veya olmasın) T4 olarak değerlendirilir.
- Frenik sinir invazyonu T3 kapsamına girer.
- Mediastinal organlar tutulmadan sınırlı düzeyde sadece mediastinal yağ dokusu invazyonu T3 olarak tanımlanır.
- Azigos veni invazyonu T3 olarak değerlendirilir.
- Primer tümör lobunda olmayan aynı taraf intrapulmoner metastaz M1 olarak sınıflandırılmaktadır

SİKLOOKSİJENAZ 2 (Cox-2)



Şekil 1. Prostaglandin Biyosentezi

Cox-1 ve Cox-2 Araşidonik asit'ten Prostaglandin G₂ (PGG₂) ve PGH₂ sentezler (16). PGH₂'de daha sonra spesifik izomeraz enzimleriyle prostaglandinler, tromboksan (Tx) ve prosto siklin gibi eikosanoidlere dönüştürülür (Şekil 1). Siklooksijenaz enziminin Cox-1 ve Cox-2 olmak üzere iki izoformu vardır. Cox-1 ve Cox-2 amino asit düzeyinde %60'ın üzerinde bir benzerliğe sahipken fizyolojik fonksiyonları farklıdır (Şekil 2). Cox-1 dokuların çoğunda değişen oranlarda exprese edilir ve genellikle doku homeostazisinde rol oynar. Cox-2 ise belirgin farklı dağılım paternine sahiptir, inflamatuvar medyatörler ve mitojenler gibi maddelerle kolaylıkla indüklenebilir (16).



Şekil 2. Cox-1 ile Cox-2 arasındaki yapısal farklılıklar

Prostanoidler hemostazis, trombosit agregasyonu, böbrek ve gastrik fonksiyonlar, reproduksiyon, ağrı ve ateş gibi birçok normal fizyolojik sürece katkıda bulunur. Cox-1 ve Cox 2 benzer enzimatik aktiviteye sahip olmalarına rağmen Cox-1 ve Cox-2 genleri farklı özelliklere sahiptir. Cox-1 gastrointestinal kanalda sitoprotektif prostaglandinleri sentezler. Bu nedenle Cox-1 inhibisyonu ciddi gastrointestinal ülserasyonlara ve kanamalara neden olabilir (17). Cox-2 bazı normal fizyolojik durumlarda da eksprese edilir. Cox-2 post natal böbrek gelişiminde (18), kadınlarda ovulasyon, fertilizasyon, implantasyon ve desidualizasyon gibi reproduktif süreçlerde önemlidir. Ek olarak implantasyon sırasında trofoblastik hücrelerde bol miktarda eksprese edilir (19).

IL-1, epidermal growth faktör (EGF) ve transforming growth faktör β (TGF- β) gibi büyüme faktörleri, androjenler, inducible nitrik oksit sentaz (iNOS) ve benzopyren'ler Cox-2 genini indükleyebilir. Ancak EGF, TGF- β ve bunların reseptörleri kanser gelişmesinde daha önemli Cox-2 indükleyiciler olarak ortaya çıkarlar. Antioksidanlar ise Cox-2 ekspresyonunu azaltırlar. Cox-2 ekspresyonu alınan yağlardanda etkilenebilir, diyetteki balık yağı Cox-2 ekspresyonunu azaltır (20,21).

COX-2 VE KANSER

5 yıllık prospektif bir çalışmada 32,505 kadında non-steroid antiinflamatuvar ilaç (NSAİİ) kullanımı ve meme kanseri arasındaki ilişki incelenmiş, NSAİİ kullanmayanlarda 323 meme kanseri görülürken, ibuprofen veya aspirin alanlarda 183 meme kanseri olgusuna rastlanmıştır (22). Başka iki ayrı çalışmada da NSAİİ'lerin meme kanserine karşı koruyucu olduğunu gösterilmiştir (23,24). Benzer şekilde aspirin ve diğer NSAİİ'lerin özefagus ve gastrik kanser riskini azalttığı (25) yine kolon kanseri gelişimini önleyebileceği bildirilmiştir (26). Sulindak ile tedavi edilen familial adenomatöz polipozisli hastalarda intestinal adenomlarda gerileme saptanmıştır (27). NSAİİ'lerle tedavi edilen Romatoid artritli hastalarda kolon kanseri oranının düşük olduğu bildirilmiştir (28).

Cox-2 aşırı ekspresyonunun saptandığı tümörler; meme, serviks, prostat, mesane kanseri, hepatosellüler karsinom, pankreatik kanser, cilt, akciğer, baş-boyun kanserleri, gastrik, özefagus, ve kolorektal kanserlerdir. Karsinojenlerle oluşturulan neoplazilerde de Cox-2 eksprese edilir. Örneğin bir karsinojen olan azoksimethan ratlarda Cox-2 eksprese eden kolonik tümörleri indükler. Aspirin ve celecoxib gibi NSAİİ'lar ise cox-2'yi inhibe ederek karsinojenlerle oluşturulan kolon kanseri gelişimini engeller (29,30). Yine flurbiprofen ve aspirin karsinojenlerle oluşturulan meme tümörögenезisini azaltma yeteneğine sahiptir (31) Cox-2 insanlardaki tümörlerin birçoğunda çok iyi eksprese edilerek tümör hücresinin bölünmesini ve anjiogenezisi stimule ederken diğer yandan programlı hücre ölümünü (apoptozis) inhibe eder (32,33). NSAİİ'ların önemli antikanser etkilerinin ortaya çıkması onların Cox-2'yi inhibe etmelerinin sonucudur. NSAİİ'lar Cox-2 yi inhibe ederek bozulmuş olan apoptozisi düzeltir ve tümör mitogenezisi ile anjiogenezisi azaltarak proliferasyonu baskırlar.

Artmış Cox-2 ekspresyonu tümörün diferansiyasyonu veya grade'i ile ilişkilidir. Örneğin akciğerin iyi diferansiye karsinomu (34) ve iyi diferansiye primer hepatosellüler karsinomaların (35-36), daha az diferansiye olan tümörlere göre artmış Cox-2 ekspresyonuna sahip oldukları görülmüştür. Bununla beraber aynı organın tümörünün farklı tiplerinde Cox-2 ekspresyonu değişebilir.

Cox-2 ekspresyonu kolon ve özefagus karsinomunda artmıştır (37). Daha büyük çaplı kolon karsinomu ve derin invazyonu olan tümörlerde Cox-2 ekspresyonu daha küçük tümörlere göre daha fazladır, fakat Cox-2 ekspresyon düzeyleri ile metastaz varlığı yada yokluğu arasında ilişki gösterilememiştir (38).

Tümorogenesis sırasında artmış Cox-2 ekspresyonu muhtemelen multiple etkiler sonucu olmaktadır. Bugüne kadar tümör gelişiminde Cox-2 geninin mutasyona uğradığı gösterilememiştir. Büyüme faktörleri ve onkogenlere cevap olarak transkripsiyonel düzeyde aktivasyon olmaktadır. Wild-type p53 Cox-2 transkripsiyonunu azaltır. p53'ün mutasyonu ile fonksiyon kaybı ise Cox-2 ekspresyon artışına katkıda bulunabilir (39).

Kanser Patogenezinde Cox-2'nin Rolü

a) *Prostaglandinler proliferasyonu stimüle eder ve immun-supresyon oluşturur.* Cox-2 aşırı ekspresyonu PG yapımını artırır, gerçekten birçok kanser çeşitinde artmış PG düzeyleri saptanmıştır. Artmış PG sentezi hücre büyümesini direk uyarmanın yanında birkaç yolla daha karsinogeneze katkıda bulunabilir. Hem PGE₁ hem de PGE₂, EGF'nin varlığında meme epitel hücrelerinin proliferasyonunu stimüle eder. PG'ler tarafından sellüler proliferasyonun uygunsuz stimülasyonu tümorogenezise katkıda bulunabilir. Bununla beraber PG'ler bütün hücre tipleri için mitojenik olarak etki göstermez, özellikle immun sistemin bazı hücrelerinin proliferasyonunu deprese eder (40). PG'lerin antiproliferatif etkileri immun süpresyona neden olabilir. PGE₂ T ve B hücre proliferasyonunu inhibe eder, yine PGE₂ immunsupressif etkileri olan interleukin 10 yapımını aktive ederken, TNF- α yapımını inhibe eder (41,42). PG'lerle oluşan immun süpresyon tümör gelişimine katkıda bulunabilir. Çünkü immun süpresyon tümörlerin immun sistem denetiminden kaçınmalarına imkan sağlayabilir. Cox inhibitörü indometazin KHDAK' de immun cevabın indüksiyonunda pozitif katkıda bulunabildiği gösterilmiştir (43).

Meme dokusunda PG'ler östrojen sentezini arttırmak yoluyla da proliferasyonu stimule edebilir (44). Artmış PG yapımının, aromatazi indükleyerek artmış östrojen yapımına neden olabileceği düşünülmektedir. Bununla tutarlı olarak insan meme kanseri örneklerinde aromataz geni olan CYP19 ile Cox-2 ekspresyonu arasında pozitif bir korelasyon gözlenmiştir (45).

b) Siklooksijenaz ilişkili mutajen yapımı

Tümör gelişiminde PG üretim artışının potansiyel katkısı (artmış sellüler proliferasyon ve azalmış immun denetim) yanısıra Cox-2 aşırı ekspresyonu, PG'lerden bağımsız öneme sahip olabilir. Özellikle Cox-2 aşırı ekspresyonu mutajenlerin artmış yapımı ile sonuçlanabilir. MDA (malondialdehide) PGH₂'nin hem enzimatik hemde nonenzimatik izomerizasyonu ile oluşabilir. Bu nedenle MDA yapımı, prokürsör molekül PGH₂'nin artmış mevcudiyetine bağlı olarak yükselebilir. MDA bazı reaksiyonlar sonucunda potent mutajenik aktivite kazanır (40). İlave karsinojenler aromatik aminlerin, heterosiklik aminlerin ve polisiklik hidrokarbon derivelerinin oksidasyonu ile oluşabilir (46). Bu oksidasyon basamağı siklooksijenazın peroksidaz aktivitesi ile katalizlenir. Cox-2 aşırı ekspresyonu DNA hasarına yol açabilir ve bu surette karsinogeneze katkıda bulunabilir. Bu hipotezle tutarlı olarak kolon mukozasında selektif Cox-2 inhibitörü nimesulid bazı mutajenlerin oluşmasını azaltır (47).

c) Cox-2'nin Anjiogenez üzerindeki etkileri;

Epitelyal hücrelerde, endotelial hücrelerde ve fibroblastlarda Cox-2 nin anjiogenik sürece katılarak katkıda bulunabilecekleri gösterilmiştir. Cox-2'nin bu katkısı vasküler endotelial growth faktör (VEGF), fibroblast growth faktör (FGF), transforming growth faktör 1 ve endotelin 1 gibi proanjiogenik faktörlerin yapımı aracılığı ile olmaktadır (48,49). Tümörigenezde bu çok önemlidir. Çünkü tümörlerin 2-3 mm'nin ötesinde büyüebilmeleri için neovaskülarizasyon gereklidir. Rat stromal dokusunda anjiogenik growth faktörün indüklediği anjiogenezisin, Cox-2'nin up-regülasyonu ile birlikte olduğu görülmüştür. Bu nedenle, Cox-2'nin inhibisyonu bu growth faktörlerin indüklediği anjiogenezisin artışını suprese eder (48,50). PGE₂ anjiogeneziste önemli rol oynar ve anjiogenik büyüme faktörlerinin sentezini artırır (51). 1980'lerdeki deneyler indometazin, diklofenak ve aspirin gibi NSAİİ'lerle vaskülarizasyonun azaldığını göstermiştir (52). Selektif Cox-2

inhibitörleri in vitro endotelial tübül oluşumunu azaltırken (53), in vivo olarak anjiogenezi azaltmaktadırlar (48).

d) Apoptosis İnhibisyonu;

Çalışmalar Cox-2'nin apoptozisi inhibe ettiğini göstermektedir. Ancak bunun mekanizması tam bilinmemektedir. Bu konuda iki teori ileri sürülmüştür. Birincisi Araşidonik asit kendisi apoptozisi stimule edebilir (54,55). Cox-2'nin up-regülasyonu arasidonik asitin prostaglandinlere dönüşümünü artırarak arasidonik asit düzeyini azaltabilir. İkincisi Cox-2 yolunun diğer genlerle etkileşimi önemli olabilir (bcl-2 gibi). NSAİİ'lar invitro ortamda tümör hücrelerinin apoptozise gidişini indükleyebilir (56). Ancak bunun mekanizması iyi anlaşılammıştır. Apoptozisin hem Cox-2 bağımlı hemde Cox-2'den bağımsız mekanizmalarla oluşabileceği görülmüştür (57). Cox-2 ekspresyonunu etmeyen hücre dizilerinde de apoptozis gösterilmiştir (58).

Bronş mukozasında inflamasyon ve KOAH'nın en önemli nedeni sigara kullanımudur. Sigara da kanser gelişimine neden olan bir çok madde vardır. [Tütün spesifik karsinojen 4 (methy nitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1 butanone (NNK) ve nikotine gibi]. NNK bir β adrenerjik reseptör blokörü olup akciğer adenokanseri hücre dizilerinde proliferasyonu stimule eder ve Cox-2 ekspresyonunu artırır (59). Nikotin anjiogenezi indükler. Nikotin Cox-2 ekspresyonunu da indükleyebilir (60). Sağlıklı sigara içicilerinden alınan biyopsi örneklerinde normal bronş epitelinde, hiperplazi ve skuamöz metaplazi alanlarında Cox-2 ekspresyonunun negatif olduğu görülmüştür. Adenokanserlerin skuamöz hücreli kanserlere göre daha fazla Cox-2 pozitif tümör hücresi içerdikleri saptanmıştır. Adenokanserler histolojik greydine göre Cox-2 ekspresyonu açısından kendi içerisinde karşılaştırıldığında anlamlı bir fark saptanmamasına rağmen, aynı tümör içerisinde iyi diferansiye alanların, orta ve kötü diferansiye alanlardan daha az Cox-2 ekspresyonu gösterme eğiliminde olduğu görülmüştür (61,62). Cox-2 selektif inhibitörü nimesulid'in in vitro KHDAK hücre dizilerinin proliferasyonunu inhibe edebildiği gösterilmiştir (63). Ayrıca insanlarda akciğer kanser hücrelerinin nonselektif NSAİİ'lara da duyarlılık gösterdiği (64) ve akciğer kanseri gelişme riskinin önemli derecede azaldığı gösterilmiştir (65).

Bununla birlikte KHDAK'de Cox-2 protein ekspresyonunun prognostik rolü tartışmalıdır. Harris ve arkadaşları en az 2 yıl NSAİİ kullanımı ile akciğer kanseri

rölatif riskinin %68 azaldığını belirtmişlerdir (65,66). Akciğer adenokarsinomunda olası bir prokürsör lezyon olan atipik adenomatöz hiperplazide Cox-2 ekspresyonunun artmış olması, Cox-2 up-regülasyonunun akciğer kanserinde tümörögenезisin erken bir özelliği olabileceğini düşündürmektedir (67). Achiwa ve arkadaşları 130 adenokarsinom olgusunda Cox-2 aşırı ekspresyonu ve ortalama yaşam süreleri arasında bir ilişki saptayamamışlardır (68). Bu çalışmada evre 1 adenokanseri olan hastalarda yaşam süreleri ve Cox-2 aşırı ekspresyonu arasında bir birliktelikten bahsedilirken, Marrogi ve arkadaşları (69) KHDAK'ı olan hastalarda Cox-2 ekspresyonu ile klinik sonuç arasında herhangi bir ilişki saptayamadıklarını bildirmişlerdir.

Adenokarsinomlar morfolojik olarak en heterojen karsinomlardan biri olarak kabul edilir. Aynı tümörde iyi ve kötü diferansiye lezyonlar sıklıkla birlikte görülür. Kötü diferansiye lezyonlarda Cox-2 ekspresyonunun iyi ve orta derecede diferansiye lezyonlardan daha yoğun olduğu görülmüştür (62) Cox-2 ekspresyonunun tümör hücrelerinin biyolojik davranışını değiştirebileceği de gösterilmiştir (16). İnvaziv tümörlerde ve lenf nodu metastazlarında Cox-2 immunreaktivitesinde belirgin bir artış saptanmıştır (62). Bu olgular Cox-2 ekspresyonundaki bu artışın akciğer adenokanserlerinin progresyonu ile birlikte olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca Cox-2 invaziv ve metastatik fenotipin belirlenmesinde rol oynayabilir.

Alcazar ve arkadaşları (70) KHDAK hücre dizilerinde NSAİİ'lerin indüklediği apoptosisin mitokondriden salınan sitokrom c salınımı sonucu kaspazların aktivasyonu ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Bu sürecin Cox-2 ekspresyonu ve prostaglandin yapımından bağımsız olduğu vurgulanmıştır.

MATERYAL VE METOD

Hasta Seçimi

Bu çalışmaya Ocak 1997- Haziran 2002 tarihleri arasında Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesine müracaat ederek küçük hücreli dışı akciğer kanseri tanısı alarak opere edilen 35 erken evre (Evre I – Evre IIIA) ve kemoterapi uygulanan 38 ileri evre (Evre IIIB–Evre 4) akciğer kanseri hastası alındı. Hastalara ait yaş, cinsiyet, uygulanan cerrahi, evre, takip süreleri ve yaşam süreleri, akciğer kanserinin histolojik alt tipi gibi klinik bilgiler takip dosyalarından elde edildi. Patolojik tiplere dünya sağlık örgütü kriterlerine göre sınıflandırıldı. Opere edilen hastalara operasyon öncesi kemoterapi yada radyoterapi uygulanmamıştı. Hastaların evrelendirilmesi uluslararası akciğer kanseri evreleme sistemine (TNM sistemi) göre yapıldı (4).

İmmunohistokimya ve değerlendirilmesi:

Cox-2 ekspresyon tayini için Rabbit ABC (Avidin Biotin Kompleks) boyama sistemi kullanıldı (SC-2018 Santa Cruz Biotechnology, Inc. US). Sırası ile şu işlemler uygulandı.

1. Parafin bloklar halindeki arşiv materyalleri 4-6 mikron kalınlığında mikrotom ile kesildi.
2. Deparafinizasyon için xylene, % 100'lük alkol ve % 95'lik alkol ile muamele edildikten sonra deiyonize su ile 5 dakika yıkandı.
3. Endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için % 0,1-1'lik hidrojen peroksit ile 5-10 dakika inkübe edildikten sonra fosfat tamponlu tuzlu suda (PBS, Phosphate Buffer Saline) yıkandı.
4. Nonspesifik boyanmayı önlemek için % 1,5 'Blocking' serumla bir saat süre ile inkübe edildi.
5. Primer antikor [Cox-2 (H-62), SC-7951 Santa Cruz Biotechnology, Inc.US] ile oda sıcaklığında 30 dakika süre ile inkübe edildi. Primer antikor 1/100 oranında PBS içerisinde %1,5'lük blocking serum ile sulandırıldı. Inkübasyon sonunda her biri 5 dakika olmak üzere 3 kez PBS ile yıkandı.

6. Sekonder antikor ile 30 dakika inkube edildi. 5 dakika 3 kez PBS ile yıkandı.
7. 30 dakika AB enzim ile inkube edildi. 3 kez PBS ile 5'er dakika yıkandı.
8. Peroksidaz ile 5 dakika inkube edildi. Deiyonize su ile 5 dakika yıkandı.
9. Mayer's hemotoksilen ile 5 saniye boyandıktan sonra deiyonize su ile yıkandı.
10. Her biri on saniye olmak üzere iki kez % 95'lik etanol, iki kez %100'lük etanol ve üç kez xylene ile muamele edilerek dehidratasyon yapıldıktan sonra ışık mikroskobu ile incelendi.

Patolojik incelemede hiç Cox-2 eksprese etmeyenler (grade 0), zayıf boyanma şeklinde Cox-2 ekspresyonu gösterenler (grade 1), orta derecede boyanma şeklinde Cox-2 ekspresyonu gösterenler (grade 2) ve kuvvetli boyanma şeklinde Cox-2 ekspresyonu gösterenler (grade 3) şeklinde derecelendirildi. Cox-2 eksprese etmeyenler Cox-2 negatif olarak, zayıf, orta ve kuvvetli derecede Cox-2 eksprese edenler ise Cox-2 pozitif olarak tanımlandı.

İstatistik:

Bu çalışmada yapılan istatistiksel analiz ve grafik çizimleri SPSS ver 10.0 ve Microsoft Excell-2000 bilgisayar programları kullanılarak gerçekleştirildi. Hasta karakteristiklerini özetlemek için Descriptive istatistik kullanıldı. Gruplar arası karşılaştırmalarda Pearson ki-kare testi kullanıldı. $P < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

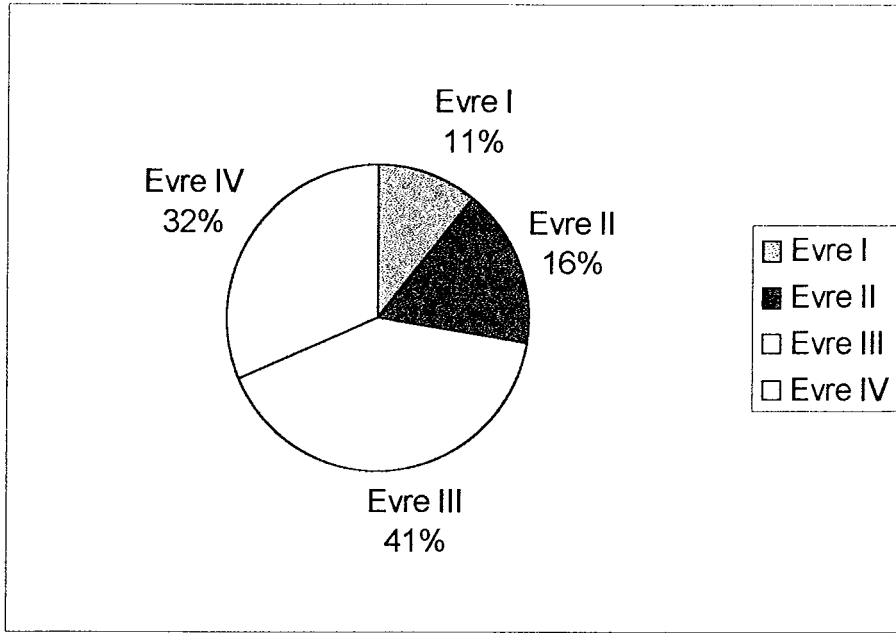
Bu çalışmada 1997-2002 yılları arasında Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesinde erken evre küçük hücreli dışı akciğer kanseri tanısıyla cerrahi uygulanan 35 hasta ile ileri evre küçük hücreli ve KHDAK tanısı olan ve kemoterapi uygulanan 38 hasta alındı. Çalışma toplam 73 hastaya ait patoloji örneklerinde immunohistokimyasal boyama yöntemi ile Cox-2 boyanması ve klinik parametrelerin retrospektif olarak taranması sonucunda gerçekleştirildi. Hastaların 7'si kadın, 66'sı erkekti. Hastaların yaş ortalaması $58,69 \pm 10,70$ (yıl ortalama \pm SD) idi (Tablo 1).

Tablo 1. Hasta karakteristikleri

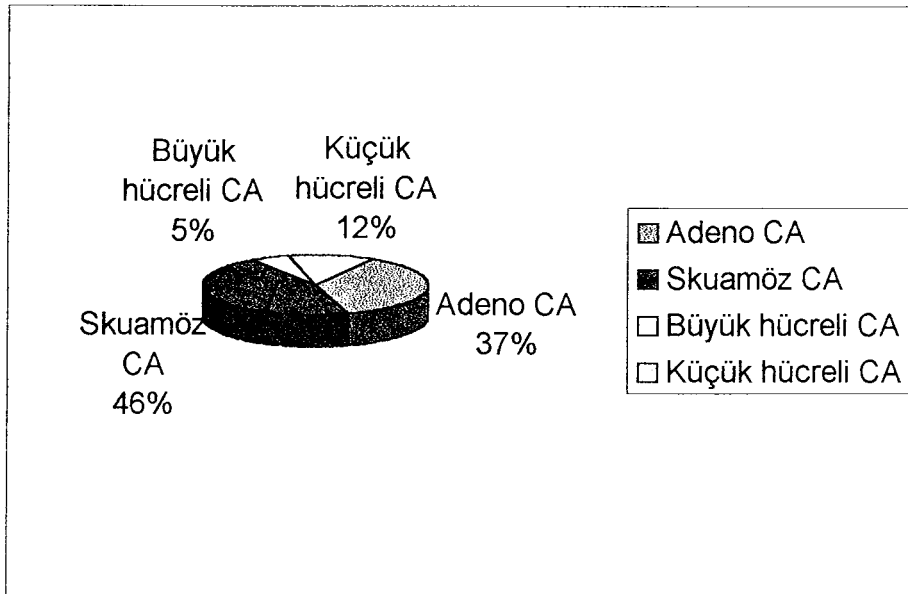
	N	Cox-2 ekspresyonu	
		Pozitif	Negatif
Erkek	66	37	29
Kadın	7	4	3
Yaş (yıl)			
Ortalama	58,7		
Sınırlar	34-80		
Tanı			
Adenokarsinom	27	15	12
Skvamöz hücreli	33	15	18
Büyük hücreli	4	4	-
Küçük hücreli	9	2	7
Hastalık Evresi			
I	8	5	3
II	12	6	6
III	30	13	17
IV	23	12	11

Olguların 8'si evre I, 12'si evre II, 30'u evre III ve 23'ü evre IV hastalardan oluşuyordu (Şekil 3). Hastalara akciğer kanseri histopatolojik alt tipi açısından bakıldığında 27 adenokarsinom, 33 skuamöz hücreli karsinom, 4 büyük hücreli karsinom ve 9 küçük hücreli karsinom hastası vardı (Şekil 4). Erken evre akciğer

kanserli 15 hastaya lobektomi, 20 hastaya pnömonektomi uygulanmıştı. 38 ileri evre olguya ise kemoterapi uygulanmıştı.



Şekil 3. Hastaların evrelere göre dağılımı



Şekil 4. Hastaların histopatolojik alt gruplara göre dağılımı

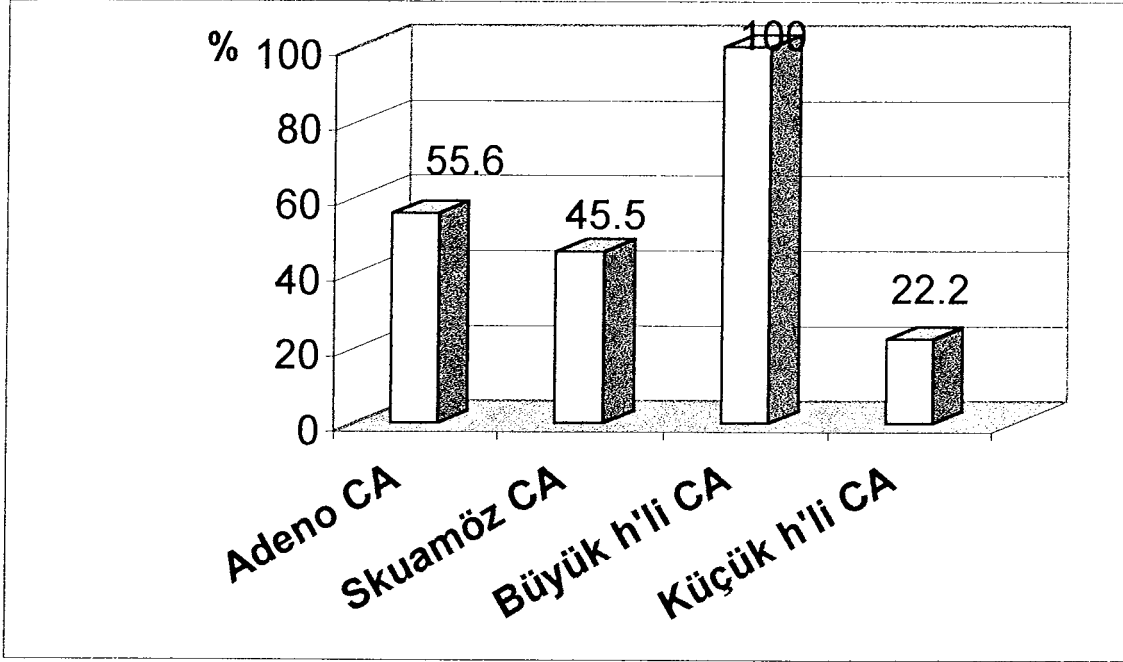
Evre I'deki Cox-2 boyanmayan hastaların (3 hasta) ortalama yaşam süresi $31,50 \pm 26,28$ ay, Cox-2 eksprese eden hastaların (5 hasta) ortalama yaşam

süresi ise $28,60 \pm 8,47$ ay idi ($p = 0,57$). Evre II'deki Cox-2 boyanmayan hastaların (6 hasta) ortalama yaşam süresi $25,42 \pm 19,94$ ay iken Cox-2 boyanan hastalarınki (6 hasta) $32,00 \pm 27,22$ ay idi ($p= 0,69$). Evre III'deki Cox-2 boyanmayan hastaların (17 hasta) ortalama yaşam süresi $11,00 \pm 8,61$ ay iken, Cox-2 boyananlarınki (13 hasta) $7,88 \pm 5,93$ ay olarak bulundu ($p=0,22$). Evre IV'deki Cox-2 boyanmayan 11 hastanın ortalama yaşam süresi $8,45 \pm 3,79$ ay iken Cox-2 boyanan 12 hastanın ortalama yaşam süresi ise $7,95 \pm 4,11$ ay olarak bulundu ($p=0,74$). Evre II hariç diğer evrelerde Cox-2 ekspresyonu gösteren hastalarının yaşam sürelerinin, Cox-2 ekspresyon etmeyen hastalardan daha kısa olduğu görülmektedir. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Tablo 2).

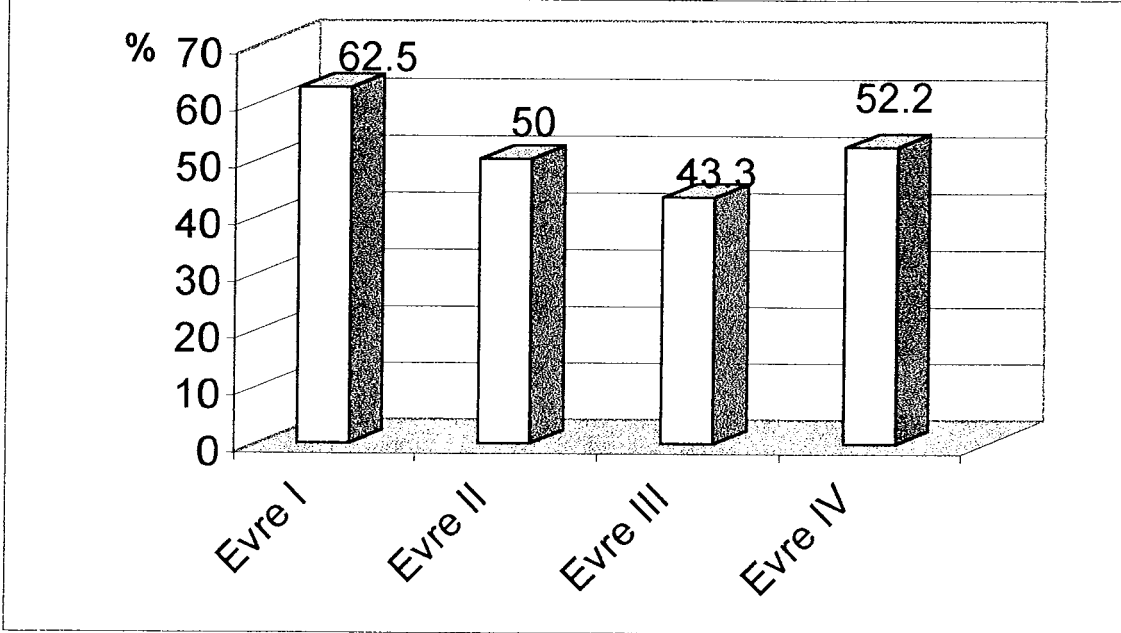
Tablo 2. Evrelere göre Cox-2 ekspresyonu gösteren ve Cox-2 ekspresyon etmeyen hastaların ortalama yaşam süreleri

Evre	Ortalama Yaşam Süresi (Ay)		p
	Cox-2 negatif (n)	Cox-2 pozitif (n)	
I	31,50 (3)	28,60 (5)	> 0,05
II	25,42 (6)	32,00 (6)	> 0,05
III	11,00 (17)	7,88 (13)	> 0,05
IV	8,45 (11)	7,95 (12)	> 0,05
Toplam	37	36	

Histopatolojik alt tipler arasında Cox-2 boyanması açısından bir fark olup olmadığı araştırıldı. 27 adenokarsinom tanısı olan hastaların 15'inin (%55,6) Cox-2 ekspresyon ettiği, 33 skuamöz hücreli karsinomun 15'inin (%45,5), 4 büyük hücreli karsinomun 4'ünün (%100) ve 9 küçük hücreli karsinom tanısı olan hastalardan sadece 2'sinin (%22,2) Cox-2 ekspresyon ettiği saptandı (Şekil 5). Tümör dokusunun Cox-2 ile boyanması açısından bakıldığında histopatolojik alt grupların boyanma oranları arasında anlamlı bir fark yoktu ($p=0,06$).



Şekil 5. Histopatolojik alt gruplara göre Cox-2 eksprese eden hastaların oranları

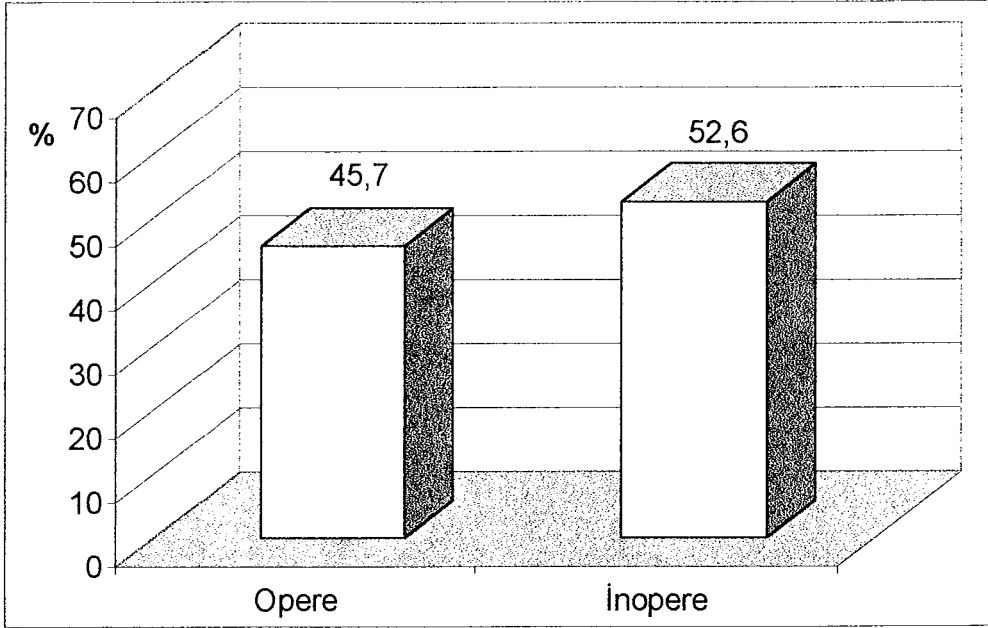


Şekil 6. Evrelere göre Cox-2 ekspresyonu gösteren hastaların oranları

Hastalık evresine göre Cox-2 boyanma oranlarına bakıldığında evre I'deki 8 hastanın 5'inde (% 62,5) Cox-2 ekspresyonunun olduğu, evre II'deki 12 hastanın

6'sında (%50), evre III'deki 30 hastanın 13'ünde (%43,3) ve evre IV'deki 23 hastanın 12'sinde (%52,2) Cox-2 ekspresyonunun var olduğu saptandı. Ancak evre ile Cox-2 ekspresyonu arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p=0,78$) (Şekil 6).

Opere olan 35 hastanın sadece 16'sı (%45,72) Cox-2 ekspresyonu gösterirken, inoperabl olan 38 hastadan 20'inin (%52,63) Cox-2 eksprese ettiği saptandı (Şekil 7).



Şekil 7. Opere edilen ve inoperabl hastaların Cox-2 ekspresyon oranları

İleri evre (evre IIIB ve evre IV) 38 hasta hiç Cox-2 eksprese etmeyen ve zayıf Cox-2 ekspresyonu gösterenler ile orta şiddette ve kuvvetli Cox-2 ekspresyonu gösterenler şeklinde iki gruba ayrılarak ortalama yaşam süreleri açısından karşılaştırıldıklarında, zayıf Cox-2 eksprese eden grupta ortalama yaşam süresi $8,59 \pm 3,20$ ay iken kuvvetli Cox-2 eksprese eden grupta ortalama yaşam süresi $7,53 \pm 3,70$ ay idi ($p > 0,05$).

TARTIŞMA

Cox-2 insanlardaki tümörlerin birçoğunda eksprese edilerek tümör hücrelerinin bölünmesini ve anjiogenezisi stimüle ederken, programlı hücre ölümünü (apoptozis) inhibe etmektedir. Karsinojenlerle oluşturulan neoplazilerde de Cox-2 ekspresyonunun var olduğu görülmüştür. Örneğin bir karsinojen olan azoksimethane ile ratlarda oluşturulan kolon kanserlerinde Cox-2 ekspresyonu saptanmıştır (29,30). Cox-2 ekspresyonunun arttığı bilinen tümörler; meme, servikal, prostat, mesane kanseri, hepatosellüler karsinom, pankreas, cilt, akciğer, baş-boyun kanserleri, özefagus, mide ve kolorektal kanserlerdir.

Achiwa ve arkadaşları da rezeke edilmiş akciğer adenokanserlerinde immunohistokimyasal metodla Cox-2 ekspresyonu ile kötü prognoz arasında bir ilişki saptamamışlardır. Ancak hastalık evresine göre alt grup analizi yapıldığında özellikle evre I'deki hastalarda artmış Cox-2 ekspresyonunun kısa yaşam süresi ile birlikte olduğunu ve bunun istatistiksel olarak anlamlı bulunduğunu vurgulamışlardır (68). Khuri ve arkadaşları ise Cox-2 pozitif skuamöz hücreli kanseri olan hastalarda hastaliksız sağ kalımın Cox-2 negatif skuamöz hücreli kanserlilerdeki hastaliksız sağkalım sürelerinden daha kısa olduğunu ve bunun istatistiksel olarak anlamlı olduğunu belirtmişlerdir (71). Brakender ve arkadaşlarının çalışmasında ise rezektabl KHDAK hastalarında RT-PCR yöntemi ile Cox-2 mRNA ekspresyonuna bakılmış ve artmış Cox-2 ekspresyonu ile kötü survival arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır. Cox-2 ekspresyonunun KHDAK'de kötü survival ve hastalığın erken nüksünün ön habercisi olabileceği belirtilmiştir (72). Khuri ve arkadaşları 160 evre I KHDAK hastayı Cox-2 mRNA ekspresyonu açısından değerlendirdiklerinde Cox-2 pozitif ve Cox-2 negatif hastaların ortalama yaşam süreleri arasındaki farkın anlamlı olmasada Cox-2 negatif hastaların ortalama yaşam süreleri daha uzun bulunmuştur. Artmış Cox-2 ekspresyonu olan hastalarda ortalama yaşam süresi ve hastaliksız sağkalım sürelerinin daha kötü olduğu görülmüştür (71). Bu çalışmanın sonuçları bizim sonuçlarımız ile benzerlik göstermektedir. Bizim çalışmamızda da her evre Cox-2 ekspresyonu ve ortalama yaşam süreleri açısından ayrı ayrı değerlendirildiğinde, evre II hariç tüm evrelerde

Cox-2 ekspresyonu gösteren hastaların ortalama yaşam süreleri, Cox-2 ekspresyonu göstermeyen hastalardan daha kısa bulunmuştur. Ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Khuri ve arkadaşları adenokanserlerin %59,7'si, skuamöz hücreli kanserlerin %64,2'sinin Cox-2 eksprese ettiğini, adenokanserler ve skuamöz hücreli kanserler arasında Cox-2 pozitif tümör oranlarının farklı olmadığını bildirmektedir (71). Bu sonuçlar bizim sonuçlarımız ile benzerlik göstermektedir. Bizde çalışmamızda 27 adenokanserin 15'inde (%55,6), 33 skuamöz hücreli kanserin 15'inde (%45,5) Cox-2 ekspresyonunun var olduğunu saptadık. Adenokarsinomlarla, skuamöz hücreli karsinomların Cox-2 ekspresyonu bakımından aralarında anlamlı bir fark yoktu. Hastürk ve arkadaşları ise akciğer adenokarsinomlarında Cox-2 pozitif tümör hücresinin skuamöz hücreli karsinoma göre daha fazla olduğunu bildirmektedirler. Bu çalışmada 51 adenokanserin 21'inde (%41) Cox-2 ekspresyonu görülürken, 46 skuamöz hücreli kanserin 9'unda (%20) Cox-2 ekspresyonu görülmüştür. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (61). Achiwa ve arkadaşları da cerrahi olarak rezekt edilmiş 130 akciğer adenokanser olgusundan 93'nün (%72) Cox-2 eksprese ettiğini immunohistokimyasal metodla saptamışlardır (68). Adenokanserler histolojik grade'ine göre Cox-2 ekspresyonu açısından kendi içerisinde karşılaştırıldığında anlamlı bir fark saptanamamasına rağmen aynı tümör içerisinde iyi diferansiye olanların, orta ve kötü diferansiye olanlardan daha az Cox-2 ekspresyonu gösterme eğiliminde olduğu görülmüştür (61,62). Biz dört büyük hücreli karsinomun hepsinde Cox-2 ekspresyonu saptarken Hastürk ve arkadaşlarının çalışmasındaki 4 büyük hücreli karsinomun hiçbirinde Cox-2 ekspresyonu görülmemiştir (61). Bu farklı sonuçlar büyük hücreli karsinomun heterojen yapısından, bu tümörün farklı diferansiyasyon alanlarına sahip olmasından kaynaklanabilir.

Siklooksijenaz inhibitörlerinin kanser üzerindeki etkilerini araştıran çalışmaların çoğu kolorektal kanserler ile başlamıştır. İnsan kolorektal adenokarsinoma hücre dizilerinin kontrol grubu ile kıyaslandığında 6 kat daha invaziv olduğu görülmüştür. Sulindak ile tedavi edildikleri zaman, artmış invazyon yeteneklerinin doza bağımlı olarak hemen hemen tamamen inhibe edilebildiği gösterilmiştir (73). KHDAK hücre dizisi çalışmalarında da nimesulidin selektif Cox-

2 inhibisyonu etkisi ile in vitro KHDAK hücre dizilerinde poliferasyonun inhibe edilebileceği ve apoptozisi indükleyebileceği gösterilmiştir (63). Farklı çalışmalarda akciğer kanser hücrelerinin nonselektif NSAİ'lara duyarlılık gösterdiği rapor edilmiştir (64). Tümörlerdeki Cox-2 ekspresyonunun derecesi tümörlerin Cox-2 inhibitörlerine duyarlılığını belirlemektedir (63). Tsujii ve arkadaşları Cox-2 ekspresyonunun kolorektal kanser hücrelerinin metastatik potansiyellerini ve bu hücrelerin invazyon yeteneklerini arttırabileceğini göstermiştir (73). Gastrik kanserlerde Cox-2 ekspresyonunun lenfatik invazyon ve lenf nodu metastazı ile korele olduğu görülmüştür (74). Hastürk ve arkadaşları akciğer kanserinde artmış Cox-2 ekspresyonu ile tümör boyutu, hastalığın evresi ve lenf nodu tutulumu arasında bir korelasyon bulamazken, (61) Hida ve arkadaşları lenf noduna metastazı olan hastalarda Cox-2 ekspresyonunun daha fazla olduğunu bildirmişlerdir (63). Bu bulgular akciğer adenokanserlerinde metastaz gelişiminde Cox-2'nin rolü olabileceğini düşündürmektedir (62,68). Biz bu çalışmamızda evrelere göre Cox-2 ekspresyonu oranlarına baktığımızda evre IV hastalardaki Cox-2 ekspresyon oranının diğer evrelerden farklı olmadığını gördük. Bununla beraber 38 inoperabl hastanın 20'si (%52,6) Cox-2 ekspresyonu gösterirken, 35 cerrahi rezeksiyon uygulanan hastanın 16'sında (%45,72) Cox-2 ekspresyonu saptadık.

Akciğer kanserlerinin yaklaşık %60-65'i tanı sırasında lokal ileri veya metastatik hastalık aşamasındadır (75). Ne yazık ki bu hastaların da önemli bir bölümü yaş, performans durumu ve eşlik eden hastalıkları nedeniyle kemoterapi almaya elverişli değildir. Mevcut bilgiler ışığında tümörlerdeki Cox-2 ekspresyonunun NSAİ'lara duyarlılık oluşturması, anti-kanser ilaçlar ve radyoterapi ile birlikte NSAİ'lerin kullanılması konusuna karşı ilgi uyandırmıştır. Daha önce yapılan in vitro çalışmalarda NSAİ'lerin KHDAK'de hücre büyümesini azalttığı ve apoptozisi indüklediği gösterilmiştir (63). NSAİ'lar ve spesifik cox-2 inhibitörleri hem in vitro hemde in vivo KHDAK hücrelerinin tedavisinde kemoterapik ajanların sitotoksitesini arttırdığı da gösterilmiştir (76). Faz II bir çalışmada KHDAK'de Docetaxel'in celecoxib ile kombinasyonunun intratumöral PGE₂ düzeylerinde azalmaya yol açtığı bildirilmiştir (77). Dolayısı ile Cox-2 ekspresyonu yüksek saptanan hastalara erkenden selektif cox-2 inhibitörlerinin

başlanması bu hastalardaki erken rekürrensi engelleyebilir, daha uzun bir hastaliksız sağkalım ve yaşam sağlayabilir.

Sonuç olarak akciğer kanseri tanısı olan hastalarımıza histopatolojik alt gruplar açısından baktığımızda Cox-2 ekspresyonunun adenokarsinomlarda bir miktar fazla olmakla beraber, adenokarsinomlar ile skuamöz hücreli karsinomlar arasında Cox-2 ekspresyonu açısından anlamlı bir farkın olmadığı, küçük hücreli karsinomlarda ise Cox-2 ekspresyonunun daha düşük oranda olduğu görüldü. Cox-2 ekspresyon oranlarının hastalık evresine göre değişmediğini, evrelere göre Cox-2 eksprese eden ve etmeyen hastaların ortalama yaşam sürelerinin farklı olmadığı saptandı. Ancak Cox-2 ekspresyonu ile akciğer kanseri gelişimi ve prognozu arasındaki ilişkinin belirlenebilmesi için daha fazla sayıda hasta içeren gruplarda çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

1. Akciğer kanseri tanısı olan hastalarımıza evrelere göre baktığımızda Cox-2 eksprese eden ve Cox-2 eksprese etmeyen hastaların ortalama yaşam sürelerinin istatistiksel olarak farklı olmadığı saptandı.
2. Histopatolojik alt gruplar açısından değerlendirildiğinde adenokarsinomlarda bir miktar fazla olmakla beraber, adenokarsinomlar ile skuamöz hücreli karsinomlar arasında Cox-2 ekspresyonu açısından anlamlı bir farkın olmadığı, küçük hücreli karsinomlarda ise Cox-2 ekspresyonunun daha düşük oranda olduğu görüldü.
3. Cox-2 ekspresyon oranlarının hastalık evresine göre değişmediğini saptandı.
4. Bu konuda daha fazla sayıda hasta içeren gruplarda yapılmış çalışmalara ihtiyaç vardır. Mevcut bilgiler göre tümörlerdeki Cox-2 ekspresyonunun NSAİİ'lara duyarlılık oluşturması, gelecekte yapılacak çalışmaların ışığında antikanser ilaçlar ve radyoterapi ile birlikte NSAİİ'lerin kullanılmasını gündeme getirebilir.

ÖZET

Akciğer kanseri tüm dünyada en sık görülen kanserlerden biri olup, tanı ve tedavi yöntemlerindeki ilerlemelere rağmen morbidite ve mortalitesi hala yüksek seyreden bir hastalıktır. Toplumdaki yaşlı insanların sayısındaki artış ve artan yaş ile akciğer kanseri görülme sıklığının artması sorunun boyutunu daha iyi ortaya koymaktadır. Aynı evredeki hastalarda bile hastalık seyrinin aynı gitmemesi, bazı hastalarda ise daha agresif seyir göstermesi dikkatleri tümörün kendisi ile ilgili farklı prognoz belirleyicilerinin olabileceği konusuna çekmiştir. Yapılan hayvan çalışmaları ve insan tümörlerinde Cox-2 enzim ekspresyonunun tümör dokusunda arttığı saptanmıştır. Bu çalışmada akciğer kanseri hastalarında kanser dokularında immunohistokimyasal yöntemle Cox-2 ekspresyonuna bakılarak Cox-2 ekspresyonunun ortalama yaşam süresi ile ilişkisi, evrelere ve histopatolojik alt gruplara göre Cox-2 ekspresyonunun değişip değişmediği incelenmiştir. Çalışmaya cerrahi rezeksiyon uygulanan 35 erken evre KHDAK ile 38 ileri evre kemoterapi uygulanan hasta alınmıştır. Sonuç olarak tüm hastalarda Cox-2 ekspresyonu varlığı ile ortalama yaşam süreleri arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$). Adenokarsinomlarla skuamöz hücreli karsinomlar karşılaştırıldığında adenokanserlerde Cox-2 ekspresyon oranı daha yüksek bulunmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür ($p>0.05$) Evrelere göre bakıldığında Cox-2 ekspresyon oranlarının evreler arasında farklılık göstermediği bulunmuştur. Cox-2 ekspresyonu ile akciğer kanseri prognozu arasındaki ilişkinin belirlenebilmesi için daha fazla sayıda hasta içeren homojen gruplarda yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

SUMMARY

Lung cancer is one of the frequent cancers in the world. Despite the improvements in the diagnosis and treatment, the morbidity and mortality of lung cancer is still high. The relationship between the increase in the number of elderly population due to the high standard care and the increasing the lung cancer incidence with age reveal the dimensions of the problems. The different course of the disease even in the same stage in different patients or a more aggressive course in same patients took the attention to the various prognostic markers. In studies performed in both human and animals, Cox-2 expressions were found to be increased in the tumor tissues. In this study, we determined the Cox-2 expression in the tumor tissue of patients with lung cancer with on immunohistochemical method. Cox-2 expression was evaluated in the histopathological subgroups and stages of lung cancer and its connection with the life period. Thirty-five operated patients with early stage non-small cell lung cancer and 38 non-operable patients who had received chemotherapy were included in the study. No significant correlation was observed between the Cox-2 expression and the mean life period ($p > 0.05$). The Cox-2 expression in the adenocarcinoma group was found to be higher than the squamous lung cancer, although the difference did not reach a statistical significance ($p > 0.05$). Cox-2 expression also did not show a statistical significance between the stages of lung cancer. In order to determine the connection between the Cox-2 expression and the prognosis in lung cancer, the studies designed in homogeneous groups with higher number of patients are needed.

KAYNAKLAR

1. Travis WD, Lubin J, Ries L, Devesa S. United States lung carcinoma incidence trends: declining for most histologic types among males, increasing among females. *Cancer* 1996;77(12):2464-70.
2. Loeb LA, Ernster VL, Warner KE, Abbotts J, Laszlo J. Smoking and lung cancer: an overview. *Cancer Res* 1984;44(12 Pt 1):5940-58.
3. Radzikowska E, Glaz P, Roszkowski K. Lung cancer in women: age, smoking, histology, performance status, stage, initial treatment and survival. Population-based study of 20 561 cases. *Ann Oncol* 2002;13(7):1087-93.
4. Mountain CF. Revisions in the International System for Staging Lung Cancer. *Chest* 1997;111:1710-7.
5. Vokes EE. CHART for non-small-cell lung cancer--promises and limitations. *Lancet* 1997;350(9072):156-7.
6. Nicum S, Cullen MH. Chemotherapy versus palliative care in non-small cell lung cancer. *Anticancer Drugs* 2000;11(8):603-7.
7. Albain KS, Crowley JJ, LeBlanc M, Livingston RB. Survival determinants in extensive-stage non-small-cell lung cancer: the Southwest Oncology Group experience. *J Clin Oncol* 1991;9:1618-26.
8. Graziano SL. Non-small cell lung cancer: clinical value of new biological predictors. *Lung Cancer* 1997;17 Suppl 1:S37-58.
9. Gail MH, Eagan RT, Feld R, Ginsberg R, Goodell B, Hill L, et al. Prognostic factors in patients with resected stage I non-small cell lung cancer. A report from the Lung Cancer Study Group. *Cancer* 1984;54(9):1802-13.
10. Salgia R, Skarin AT. Molecular abnormalities in lung cancer. *J Clin Oncol* 1998;16(3):1207-17.
11. Zimmerman PV, Hawson GA, Bint MH, Parsons PG. Ploidy as a prognostic determinant in surgically treated lung cancer. *Lancet* 1987;2(8558):530-3.
12. Horio Y, Takahashi T, Kuroishi T, Hibi K, Suyama M, Niimi T, et al. Prognostic significance of p53 mutations and 3p deletions in primary resected non-small cell lung cancer. *Cancer Res* 1993;53(1):1-4.

13. Tateishi M, Ishida T, Mitsudomi T, Kaneko S, Sugimachi K. Prognostic value of c-erbB-2 protein expression in human lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma. *Eur J Cancer* 1991;27(11):1372-5.
14. Kwiatkowski DJ, Harpole DH Jr, Godleski J, Herndon JE 2nd, Shieh DB, Richards W, et al. Molecular pathologic substaging in 244 stage I non-small-cell lung cancer patients: clinical implications. *J Clin Oncol* 1998;16(7):2468-77.
15. Truong LD, Underwood RD, Greenberg SD, McLarty JW. Diagnosis and typing of lung carcinomas by cytopathologic methods. A review of 108 cases. *Acta Cytol* 1985;29(3):379-84.
16. Herschman HR. Regulation of prostaglandin synthase-1 and prostaglandin synthase-2. *Cancer Metastasis Rev* 1994;13(3-4):241-56.
17. Fosslie E. Adverse effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on the gastrointestinal system. *Ann Clin Lab Sci* 1998;28(2):67-81.
18. Dinchuk JE, Car BD, Focht RJ, Johnston JJ, Jaffee BD, Covington MB, et al. Renal abnormalities and an altered inflammatory response in mice lacking cyclooxygenase II. *Nature* 1995;378(6555):406-9.
19. Charpigny G, Reinaud P, Tamby JP, Creminon C, Guillomot M. Cyclooxygenase-2 unlike cyclooxygenase-1 is highly expressed in ovine embryos during the implantation period. *Biol Reprod* 1997;57(5):1032-40.
20. Huang JC, Liu DY, Yadollahi S, Wu KK, Dawood MY. Interleukin-1 beta induces cyclooxygenase-2 gene expression in cultured endometrial stromal cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83(2):538-41.
21. Rose DP, Connolly JM. Omega-3 fatty acids as cancer chemopreventive agents. *Pharmacol Ther* 1999;83(3):217-44.
22. Harris RE, Kasbari S, Farrar WB. Prospective study of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and breast cancer. *Oncol Rep* 1999;6(1):71-3.
23. Schreinemachers DM, Everson RB. Aspirin use and lung, colon, and breast cancer incidence in a prospective study. *Epidemiology* 1994;5(2):138-46.
24. Sharpe CR, Collet JP, McNutt M, Belzile E, Boivin JF, Hanley JA. Nested case-control study of the effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs on breast cancer risk and stage. *Br J Cancer* 2000;83(1):112-20.
25. Farrow DC, Vaughan TL, Hansten PD, Stanford JL, Risch HA, Gammon MD, et al. Use of aspirin and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs and risk of esophageal and gastric cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998;7(2):97-102.

26. Smalley W, Ray WA, Daugherty J, Griffin MR. Use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and incidence of colorectal cancer: a population-based study. *Arch Intern Med* 1999;159(2):161-6.
27. Steinbach G, Lynch PM, Phillips RK, Wallace MH, Hawk E, Gordon GB, et al. The effect of celecoxib, a cyclooxygenase-2 inhibitor, in familial adenomatous polyposis. *N Engl J Med* 2000;342(26):1946-52.
28. Cibere J, Sibley J, Haga M. Rheumatoid arthritis and the risk of malignancy. *Arthritis Rheum* 1997;40(9):1580-6.
29. Kawamori T, Rao CV, Seibert K, Reddy BS. Chemopreventive activity of celecoxib, a specific cyclooxygenase-2 inhibitor, against colon carcinogenesis. *Cancer Res* 1998;58(3):409-12.
30. Reddy BS, Rao CV, Rivenson A, Kelloff G. Inhibitory effect of aspirin on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in F344 rats. *Carcinogenesis* 1993;14(8):1493-7
31. Mori H, Sugie S, Rahman W, Suzui N. Chemoprevention of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4,5-b]pyridine-induced mammary carcinogenesis in rats. *Cancer Lett* 1999;143(2):195-8.
32. Battu S, Rigaud M, Beneytout JL. Resistance to apoptosis and cyclooxygenase-2 expression in a human adenocarcinoma cell line HT29 CL.19A. *Anticancer Res* 1998;18(5A):3579-83.
33. Subbaramaiah K, Telang N, Bansal MB, Weksler BB, Dannenberg AJ. Cyclooxygenase-2 gene expression is upregulated in transformed mammary epithelial cells. *Ann N Y Acad Sci* 1997;833:179-85.
34. Wolff H, Saukkonen K, Anttila S, Karjalainen A, Vainio H, Ristimaki A. Expression of cyclooxygenase-2 in human lung carcinoma. *Cancer Res* 1998;58(22):4997-5001.
35. Shiota G, Okubo M, Noumi T, Noguchi N, Oyama K, Takano Y, et al. Cyclooxygenase-2 expression in hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology* 1999;46(25):407-12.
36. Koga H, Sakisaka S, Ohishi M, Kawaguchi T, Taniguchi E, Sasatomi K, et al. Expression of cyclooxygenase-2 in human hepatocellular carcinoma: relevance to tumor dedifferentiation. *Hepatology* 1999;29(3):688-96.
37. Zimmermann KC, Sarbia M, Weber AA, Borchard F, Gabbert HE, Schror K. Cyclooxygenase-2 expression in human esophageal carcinoma. *Cancer Res* 1999;59(1):198-204.

38. Fujita T, Matsui M, Takaku K, Uetake H, Ichikawa W, Taketo MM, et al. Size- and invasion-dependent increase in cyclooxygenase 2 levels in human colorectal carcinomas. *Cancer Res* 1998;58(21):4823-6.
39. Subbaramaiah K, Altorki N, Chung WJ, Mestre JR, Sampat A, Dannenberg AJ. Inhibition of cyclooxygenase-2 gene expression by p53. *J Biol Chem* 1999;274(16):10911-5.
40. Marnett LJ. Aspirin and the potential role of prostaglandins in colon cancer. *Cancer Res* 1992;52(20):5575-89.
41. Huang M, Sharma S, Mao JT, Dubinett SM. Non-small cell lung cancer-derived soluble mediators and prostaglandin E2 enhance peripheral blood lymphocyte IL-10 transcription and protein production. *J Immunol* 1996;157(12):5512-20.
42. Ben-Av P, Crofford LJ, Wilder RL, Hla T. Induction of vascular endothelial growth factor expression in synovial fibroblasts by prostaglandin E and interleukin-1: a potential mechanism for inflammatory angiogenesis. *FEBS Lett* 1995;372(1):83-7.
43. Morecki S, Yacovlev E, Gelfand Y, Trembovler V, Shohami E, Slavin S. Induction of antitumor immunity by indomethacin. *Cancer Immunol Immunother* 2000;48(11):613-20.
44. Harris RE, Robertson FM, Abou-Issa HM, Farrar WB, Brueggemeier R. Genetic induction and upregulation of cyclooxygenase (COX) and aromatase (CYP19): an extension of the dietary fat hypothesis of breast cancer. *Med Hypotheses* 1999;52(4):291-2.
45. 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.
46. Wiese FW, Thompson PA, Kadlubar FF. Carcinogen substrate specificity of human COX-1 and COX-2. *Carcinogenesis* 2001;22(1):5-10.
47. Tardieu D, Jaeg JP, Deloly A, Corpet DE, Cadet J, Petit CR. The COX-2 inhibitor nimesulide suppresses superoxide and 8-hydroxy-deoxyguanosine formation, and stimulates apoptosis in mucosa during early colonic inflammation in rats. *Carcinogenesis* 2000;21(5):973-6.
48. Majima M, Isono M, Ikeda Y, Hayashi I, Hatanaka K, Harada Y, et al. Significant roles of inducible cyclooxygenase (COX)-2 in angiogenesis in rat sponge implants. *Jpn J Pharmacol* 1997;75(2):105-14.
49. Gately S. The contributions of cyclooxygenase-2 to tumor angiogenesis. *Cancer Metastasis Rev* 2000;19(1-2):19-27.

50. Sawaoka H, Tsuji S, Tsujii M, Gunawan ES, Sasaki Y, Kawano S, et al. Cyclooxygenase inhibitors suppress angiogenesis and reduce tumor growth in vivo. *Lab Invest* 1999;79(12):1469-77.
51. O'Byrne KJ, Koukourakis MI, Giatromanolaki A, Cox G, Turley H, Steward WP, et al. Vascular endothelial growth factor, platelet-derived endothelial cell growth factor and angiogenesis in non-small-cell lung cancer. *Br J Cancer* 2000;82(8):1427-32.
52. Peterson HI. Effects of prostaglandin synthesis inhibitors on tumor growth and vascularization. *Experimental studies in the rat. Invasion Metastasis* 1983;3(3):151-9.
53. Tsujii M, Kawano S, Tsuji S, Sawaoka H, Hori M, DuBois RN. Cyclooxygenase regulates angiogenesis induced by colon cancer cells. *Cell* 1998;93(5):705-16.
54. Cao Y, Pearman AT, Zimmerman GA, McIntyre TM, Prescott SM. Intracellular unesterified arachidonic acid signals apoptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97(21):11280-5.
55. Chan TA, Morin PJ, Vogelstein B, Kinzler KW. Mechanisms underlying nonsteroidal antiinflammatory drug-mediated apoptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95(2):681-6.
56. Lu X, Xie W, Reed D, Bradshaw WS, Simmons DL. Nonsteroidal antiinflammatory drugs cause apoptosis and induce cyclooxygenases in chicken embryo fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995;92(17):7961-5.
57. Rigas B, Shiff SJ. Is inhibition of cyclooxygenase required for the chemopreventive effect of NSAIDs in colon cancer? A model reconciling the current contradiction. *Med Hypotheses* 2000;54(2):210-5.
58. Zhang X, Morham SG, Langenbach R, Young DA. Malignant transformation and antineoplastic actions of nonsteroidal antiinflammatory drugs (NSAIDs) on cyclooxygenase-null embryo fibroblasts. *J Exp Med* 1999;190(4):451-59.
59. Castonguay A, Rioux N, Duperron C, Jalbert G. Inhibition of lung tumorigenesis by NSAIDs: a working hypothesis. *Exp Lung Res* 1998;24(4):605-15.
60. Saareks V, Mucha I, Sievi E, Vapaatalo H, Riutta A. Nicotine stereoisomers and cotinine stimulate prostaglandin E2 but inhibit thromboxane B2 and leukotriene E4 synthesis in whole blood. *Eur J Pharmacol* 1998;353(1):87-92.

61. Hasturk S, Kemp B, Kalapurakal SK, Kurie JM, Hong WK, Lee JS. Expression of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 in bronchial epithelium and nonsmall cell lung carcinoma. *Cancer* 2002;94(4):1023-31.
62. Hida T, Yatabe Y, Achiwa H, Muramatsu H, Kozaki K, Nakamura S, et al. Increased expression of cyclooxygenase 2 occurs frequently in human lung cancers, specifically in adenocarcinomas. *Cancer Res* 1998;58(17):3761-4.
63. Hida T, Kozaki K, Muramatsu H, Masuda A, Shimizu S, Mitsudomi T, et al. Cyclooxygenase-2 inhibitor induces apoptosis and enhances cytotoxicity of various anticancer agents in non-small cell lung cancer cell lines. *Clin Cancer Res* 2000;6(5):2006-11.
64. Soriano AF, Helfrich B, Chan DC, Heasley LE, Bunn PA Jr, Chou TC. Synergistic effects of new chemopreventive agents and conventional cytotoxic agents against human lung cancer cell lines. *Cancer Res* 1999;59(24):6178-84.
65. Harris RE, Beebe-Donk J, Schuller HM. Chemoprevention of lung cancer by non-steroidal anti-inflammatory drugs among cigarette smokers. *Oncol Rep* 2002;9(4):693-5.
66. Schreinemachers DM, Everson RB. Aspirin use and lung, colon, and breast cancer incidence in a prospective study. *Epidemiology* 1994;5(2):138-46.
67. Hosomi Y, Yokose T, Hirose Y, Nakajima R, Nagai K, Nishiwaki Y, et al. Increased cyclooxygenase 2 (COX-2) expression occurs frequently in precursor lesions of human adenocarcinoma of the lung. *Lung Cancer* 2000;30(2):73-81.
68. Achiwa H, Yatabe Y, Hida T, Kuroishi T, Kozaki K, Nakamura S, et al. Prognostic significance of elevated cyclooxygenase 2 expression in primary, resected lung adenocarcinomas. *Clin Cancer Res* 1999;5(5):1001-5.
69. Marrogi AJ, Travis WD, Welsh JA, Khan MA, Rahim H, Tazelaar H, et al. Nitric oxide synthase, cyclooxygenase 2, and vascular endothelial growth factor in the angiogenesis of non-small cell lung carcinoma. *Clin Cancer Res* 2000;6(12):4739-44.
70. Sanchez-Alcazar JA, Bradbury DA, Pang L, Knox AJ. Cyclooxygenase (COX) inhibitors induce apoptosis in non-small cell lung cancer through cyclooxygenase independent pathways. *Lung Cancer* 2003;40(1):33-44.
71. Khuri FR, Wu H, Lee JJ, Kemp BL, Lotan R, Lippman SM, et al. Cyclooxygenase-2 overexpression is a marker of poor prognosis in stage I non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2001;7(4):861-7.

72. Brabender J, Park J, Metzger R, Schneider PM, Lord RV, Holscher AH, et al. Prognostic significance of cyclooxygenase 2 mRNA expression in non-small cell lung cancer. *Ann Surg* 2002;235(3):440-3.
73. Tsujii M, Kawano S, DuBois RN. Cyclooxygenase-2 expression in human colon cancer cells increases metastatic potential. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94(7):3336-40.
74. Murata H, Kawano S, Tsuji S, Tsuji M, Sawaoka H, Kimura Y, et al. Cyclooxygenase-2 overexpression enhances lymphatic invasion and metastasis in human gastric carcinoma. *Am J Gastroenterol* 1999;94(2):451-5.
75. Sobue T, Ajiki W, Tsukuma H, Oshima A, Hanai A, Fujimoto I. Trends of lung cancer incidence by histologic type: a population-based study in Osaka, Japan. *Jpn J Cancer Res* 1999;90(1):6-15.
76. Duffy CP, Elliott CJ, O'Connor RA, Heenan MM, Coyle S, Cleary IM, et al. Enhancement of chemotherapeutic drug toxicity to human tumour cells in vitro by a subset of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). *Eur J Cancer* 1998;34(8):1250-9.
77. Csiki I, Dang T, Gonzalez A, et al. Cyclo-oxygenase-2 (COX2) inhibition + docetaxel (Txt) in recurrent non-small cell lung cancer (NSCLC): preliminary result of a phase II trial (THO 0054). *Am Soc Clin Oncol Proc* 2002;21:A1187.

