

Cyclooxygenase-2 ve Karsinogenez

Ali Tüzün İNCE, Oya ÖVÜNÇ

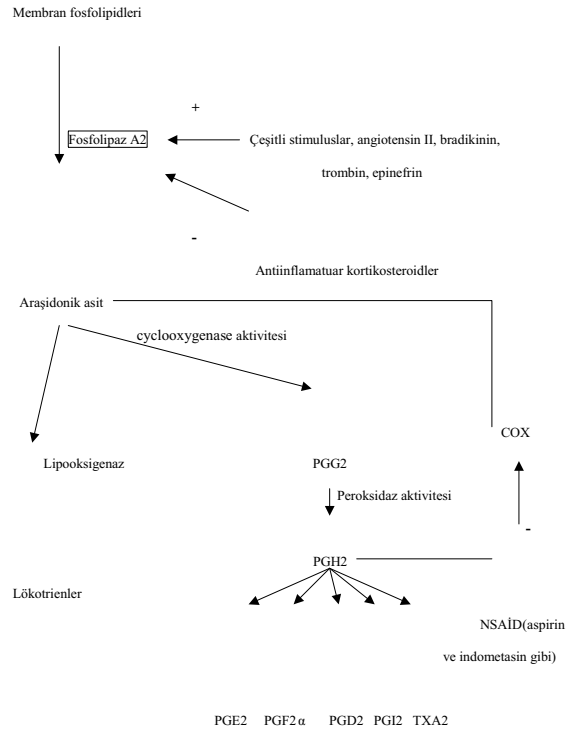
Haydarpaşa Numune Hastanesi Gastroenteroloji Kliniği, İstanbul

Yapılan birçok epidemiolojik çalışmalarda solid organ kanserleri ile nonsteroid antiinflamatuvar ilaçların (NSAID) kullanımı arasında zıt ilişki varlığını gösterilmiştir. Birçok kanseröz ve prekanseröz durumlarda cyclooxygenase-2 (COX-2) artmış ekspresyonu saptanmış ve COX-2 inhibitörleri ilgili tedavi protokollerine alınmaya başlanmıştır.

CYCLOOXYGENASE – 2’NİN YAPI VE FONKSİYONU

Prostaglandinlerin Sentezi: Prostaglandinlerin prekürsörü olan araşidonik asit, membran fosfolipidlerinde bulunan 20 karbonlu doymamış yağ asit esteridir. Prostaglandin sentezinde ilk basamak fosfolipaz A2 ile fosfolipidlerinin hidrolizi ve araşidonik asit salınımıdır. İkinci reaksiyon ise cyclooxygenase (COX) tarafından katalizlenir. COX prostaglandin sentezinin hız sınırlayıcı enzimidir. Bu anahtar reaksiyonda, moleküler oksijen araşidonik asidin içine katılır ve prostaglandin G2 (PGG2) adlı kararsız ara ürün oluşur. PGG2, COX’ın peroksidaz aktivitesi sayesinde hızlıca prostaglandin H2 (PGH2) ye dönüşür. Sonra, spesifik izomerazlar PGH2’yi farklı prostaglandinlere ve tromboksanlara dönüştürür. PGH2’den derivate olan her maddenin kendine özgü önemli biyolojik aktiviteleri vardır (Şekil 1).

Cyclooxygenase-2 (COX-2)’nin Keşfi: John Vane 1971’de aspirinin kobay domuz akciğerinde COX enzimini invitro ortamda irreversibl olarak inhibe ettiğini bildirdi. Daha sonra Smith ve Willis insan trombositlerinde benzer sonuçlara ulaştı (1, 2). Bu bulgular NSAID’ların antiinflamatuvar ve



Şekil 1. Eikosanoidlerin sentezi

istenmeyen bazı yan etkilerinin prostaglandin sentezinin baskılanması yoluyla oluştuğu hipotezini kuvvetlendirdi. Ancak bu klasik teori NSAID’ların tüm dozlarındaki etkilerini açıklamıyordu (3). Örneğin izole hücrelerde inflamasyonun tedavisi için gereken terapötik ilaç konsantrasyonu, prostaglandin sentezini inhibe edecek ilaç konsantrasyonundan daha fazladır. Buna ek olarak çoğu

NSAID'in antiinflamatuvar dozu, analjezik dozundan daha fazladır. Bu nedenlerle NSAID'ların etkilerinde başka mekanizmaların da rol oynuyor olabileceği düşünüldü. Bazı çalışmalar inflamatuvar stimuluslarla de novo sentezlenen ikinci bir COX izoenziminin var olduğunu düşündürdü (4-7). 1992'de ikinci COX isoformu moleküler olarak klonlandı ve moleküler özellikleri tanımlandı.

COX-1 ve COX-2'nin Temel Özellikleri: COX'un iki farklı; COX-1 ve COX-2 adlı isoformu vardır (8, 9). Bu iki isoform birçok açıdan birbirinden farklıdır (Tablo 1). Hemen her dokuda COX-1 sürekli olarak eksprese edilir. Gastrik mukozanın bütünlüğünün sürdürülmesi, böbrek kan akışının düzenlenmesi, trombosit fonksiyonları gibi normal fizyolojik fonksiyonları kontrol eden prostaglandinlerin üretiminde aracılık eder. Stimuluslarla COX-1 ekspresyonu 2-4 kat artabilir, glikokortikoidlerle COX-1 düzeyleri çok az etkilenir. COX-2 ise bazal durumlarda çoğu dokuda saptanamayacak kadar az miktardadır. İnflamatuvar sitokinlerle, growth faktörlerle ve endotoksinlerle ekspresyonunu, makrofaj, fibroblast, kondrosit, epitelyal ve endotel hücreleri gibi pek çok hücrelerde 10-80 misli artabilir (10-12). Sonuç olarak COX-2 patolojik ve inflamatuvar doku süreçlerinde rol alan, üretimi hızlı indüklenebilen, regülasyonu sıkı olarak düzenlenen bir maddedir. COX-2 ekspresyonunu vücutta onkogenlerin, büyüme faktörlerinin ve tümör promotörlerinin indüklediğini gösterilmiştir (8, 13-15). COX-2 nin bunun dışında bazı noninflamatuvar dokularda da eksprese edilebilir (16) (Tablo 2).

COX-1 ve COX-2'nin Biyolojik Özellikleri ve Regülasyonu: 70-kDa büyüklüğündeki COX isoformları farklı kromozomlarda (COX-1 geni kromozom 9, COX-2 geni kromozom 1'de) yer alan genlerin ürünleridir (17, 18). COX-2 geninin promotor bölgeleri TATA sekansı ve inflamatuvar araçılara duyarlı transkripsiyon faktörü taşırlar. Bu sayede hızlıca indüklenebilir (19). COX-1 geninde TATA sekansı ve erken hızlı cevap elemanları yoktur ve bu COX-1 geninin regülasyonu henüz çok fazla anlaşılamamıştır. COX-2 mRNA'sı, COX-1 mRNA'sından daha az stabildir. Glukokortikoidler COX-2 nin ekspresyonunu transkripsiyonel düzeyde inhibe edilebilir, ya da stabilitesi değiştirebilir (20, 21). COX-2 nin indüklenebilirliği COX-2 geninin 59-flanking bölgesinde çok sayıda cis-acting elemanlarının varlığı ile de kısmen açıklanabilir (22). COX-2 mRNA'sının stabilitesinin artması da COX-2 indüksiyonunda yol açabilir (23). Bu bulgular COX-1'in homeostatik fonksiyonlarda (gastrik mukozanın bütünlüğünün korunması, trombosit fonksiyonları, renal kan akımı düzenlenmesi) bazal olarak transkribe edilen, "housekeeping gene" ürünü olması; COX-2'nin ise patolojik ve inflamatuvar doku süreçlerinde rol alan, hızlı indüklenebilen, regülasyonu sıkı olarak düzenlenen bir madde olmasıyla uyumludur.

COX-1 ve COX-2 enzimleri birbirine yapı olarak oldukça benzeyen uzun ince bir kanal yapısına sahiptir. COX-1 ve COX-2 proteinlerinin aktif bölgeleri birbirine çok benzer olmasına karşın COX-2'nin farklı yapı özelliği bunun selektif olarak inhibisyonuna sebep olmaktadır. COX-1'in aminoasit

Tablo 1. COX-1 ve COX-2'nin temel özelliklerin karşılaştırılması

Özellik	COX-1	COX-2
Ekspresyon	Sürekli	İndüklenebilir
Protein büyüklüğü	SDS-PAGE'de tek band, yaklaşık 72 kDa	SDS-PAGE'de çift band, molekül ağırlıkları 72 kDa ve 74kDa
Gen büyüklüğü	22 kb	8.3 kb
Kromozom numarası	9	1
mRNA büyüklüğü	2.7 kb	4.5 kb; çok sayıda AU'dan zengin bölgeler içerir
Lokalizasyon	Endoplasmik retikulum, çekirdek zarı	Endoplasmik retikulum, çekirdek zarı
Hücre ve doku ekspresyonu	Trombositler, mide, böbrek, kolon, pek çok doku	Beynin bazı bölgeleri, böbrek, aktive makrofajlar, inflamasyon sırasında sinoviyositler, malign epitelyal hücreler, TNF α , interlökin 1 β , büyüme faktörleri(örn: EGF), tümör promotörleri (örn: safra asitleri) ile stimülasyon sonrası pek çok doku veya hücreden

SDS-PAGE: sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis; TNF α : tumour necrosis factor alpha; EGF: epidermal growth factor

Tablo 2. Noninflamatuvar doku fonksiyonlarında COX-2'nin rolü

Doku	COX-2 Ekspresyonu	Olası Fonksiyon (lar)
Böbrek	Makula densa (juxtalomerular aygıt) Henlenin kortikal kalın çıkan loopu	İntravasküler volüm regülasyonu
Beyin	Endotelial hücreler Kortikal nöronlar	Ateş cevabı (?) Nöronlar arası bağlantı SSS gelişimi Öğrenme ve hafıza
Kemik	Osteoblastlar	Osteoblastik diferansiyasyon Kemik remodelinginin regülasyonu
Uterus	Embriyo implantasyonu	
Gastrointestinal trakt	İntestinal epitel Gastrik ülserler Ülser iyileşmesi	Mukoza sıvı salgılanması, bakterilerden temizlenme

dizisinde 120. sıradaki izolösinin yerini COX-2 de daha küçük bir aminosit olan valin almakta, bu değişiklik COX-2'deki merkezi kanalın etrafında kullanılmayan geniş hacimli "yan cep" olarak adlandırılan bir aktif alan yaratmaktadır. Bu ek alana bağlanmak üzere tasarlanan bileşikler potent ve selektif COX-2 inhibitörleridir (24, 25).

CYCLOOXYGENASE-2'NİN KARSİNOGENEZE KATKISI

1990'lı yıllarda yapılan epidemiyolojik çalışmalar romatoid artritli hastalarda gastrointestinal kanser insidansının az olduğunu ortaya çıkarmıştır (26, 27). Bu hastaların ortak özellikleri NSAID kullanmalarıdır. NSAID'ların antineoplastik etkileri uzun süreli aspirin ve diğer bazı NSAID'ların kullanımının kolorektal kanser riskini % 40-50 düşürdüğünü gösteren gözlemsel ve epidemiyolojik çalışmalarla desteklenmiştir (28, 29). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, düzenli aspirin kullanımının özofagus ve mide kanseri insidansını da azalttığı saptanmıştır (29-34).

NSAID'ların ortak özellikleri COX-1 ve COX-2 enzimlerini bloke ederek araziidonik asidin inflamatuvar mediatörlere dönüşmesini engellemeleridir. COX-1 fizyolojik süreçlerde rol alarak sürekli şekilde eksprese edilirken, COX-2 ekspresyonunun pek çok premalign dokuda ve malign tümörlerde sıklıkla arttığı gösterilmiştir (Tablo 3).

NSAID'ların tümör kemopreventasyonu ve tümörlere etkileriyle ilgili en geniş kapsamlı bulgular familial adenomatöz polipozisli (FAP) insanlar ve FAP'ın deneysel hayvan modelleriyle yapılan çalışmalardan gelmiştir (35-42). FAP genetik olarak

Tablo 3. COX-2 ekspresyonunun arttığı malign ve premalign durumlar

- Kolorektal adenom ve kanser (72)
- Gastrik intestinal metaplazi ve kanser (73)
- Barrett özofagus ve özofagus kanseri (54, 74)
- Kronik hepatit ve hepatosellüler karsinom (75, 76)
- Pankreatik kanser (77)
- Oral lökoplaki ve baş-boyun kanseri (78)
- Atipik adenomatöz hiperplazi ve non-small cell akciğer kanseri (79, 80)
- Duktal karsinoma in situ ve meme kanseri (81)
- Prostatik intraepitelyal neoplazi ve prostat kanseri (82, 83)
- Mesane displazisi ve kanseri (84, 85)
- Servikal displazi ve kanser (86)
- Endometrial kanser (87)
- Aktinik keratoz ve deri kanseri (88)
- Gliom (89)

iletelen bir kolorektal kanser sendromudur. APC tümör supressör geninin kaybı veya inaktivasyonu sonucunda, bu hastalarda yaşamın 20. veya 30. yılında yüz veya binlerce kolorektal tümör oluşmaktadır (43). Bu poliplerden bazıları kolon kanserlerine ilerlemektedir. İnsanlarda yapılan çift kör plasebo kontrollü çalışmalarda NSAID bir ilaç olan sulindakın FAP'lı olgularda kolorektal adenomların büyüklüğünü küçülttüğü, sayısını % 60 oranında azalttığı gösterilmiştir (37, 39). Son yıllarda gastrointestinal yan etkileri olmayan spesifik COX-2 inhibitörü NSAID'lar üretilmiştir. Steinbach ve arkadaşlarının yaptığı çift kör, plasebo kontrollü bir çalışmada celecoxib adlı spesifik COX-2 inhibitörünü

kullanan FAP'lı hastalarda duodenal polip gelişme sıklığının % 30 azaldığı gösterilmiştir (44). Min mouse APC geninde mutasyon izlenen bir denek hayvanıdır. Bu denekler pek çok çalışmada FAP'ın deneysel modeli olarak kullanılmıştır. Min mice'larda da insanlardaki gibi intestinal adenomlar gelişir. Sulindak uygulanması fare deneklerde tümör gelişimini dramatik olarak azaltmıştır (23, 45-47). Bunun yanında diğer aspirin (48), piroksikam (49), rofecoxib (50) (COX-2 selektif inhibitör) gibi NSAID'lar da Min mice'da tümör gelişimini azaltmıştır. Kimyasal olarak kolon kanseri indüklenmiş farelerde çeşitli NSAID'lar tümörogenezi engellemiş ve tümörü dramatik olarak küçütmüşlerdir (51, 52). COX-2 ekspresyonunun hücrelerde malign dönüşümün gerçekleşmesine nasıl katkıda bulunduğu moleküler düzeyde henüz tam olarak bilinmemektedir. COX-2 overekspresyonu karsinogenezde önem taşıyan pek çok hücrel mekanizmayı etkilemektedir. COX-2 ekspresyonunun apoptozisi ve hücrelerarası adezyonu azaltan; anjiyogenezi ve proliferasyonu arttıran etkileri vardır (53-56).

COX-2'NİN KARSİNOGENEZDE ETKİLEDİĞİ BAZI MEKANİZMALAR

Ksenobiyotik Mekanizma: COX, cyclooxygenase ve peroksidaz aktiviteleri olan çift fonksiyonlu bir enzimdir. COX cyclooxygenase aktivitesiyle araşidonik asidi PGG₂'ye oksitler. Peroksidaz aktivitesiyle de PGG₂'yi PGH₂'ye çevirir. COX-2 aynı zamanda peroksidaz aktivitesiyle, bazı prokarsinojenleri (örneğin: benzo[a]piren) karsinojenlere çevirebilir (57). Karaciğerde bu tip oksidatif olaylar sitokrom P450s tarafından katalizlenir. Karaciğer dışında mesela kolon gibi bir organda P450s ve diğer monooksijenazların konsantrasyonları düşüktür. Bu durumda bazı ksenobiyotikler COX'un peroksidaz aktivitesi sayesinde mutajenlere ko-okside olabilirler. Bu etki özellikle tütün karsinojenlerine maruz kalan akciğer, oral kavite, mesane gibi organ bölgeleri için geçerlidir. Bunlara ek olarak COX'un araşidonik asidi metabolize etmesiyle bazı mutajenler oluşur. Araşidonik asidin oksidasyon ürünleri, örneğin malondialdehit oldukça reaktiftir. Bu madde DNA'da hasara yol açabilir (58). COX-2 ekspresyonu prokarsinojenlerle de indüklenebilir. Örneğin benzo[a]piren adlı tütün dumanında ve ızgara yapılmış gıdalarda bulunan bir polisiklik aromatik hidrokarbon COX-2 transkripsiyonunu stimüle edebilir (59). COX-2 benzo[a]piren-7, 8-diolü DNA'ya direkt bağlanan benzo[a]piren-7, 8-diol-9, 10-epokside çevirir. Bu bulgular benzo[a]piren

kaynaklı COX-2 indüksiyonunun, bu maddenin kendisinin benzo[a]piren-7, 8-diol-9, 10-epokside dönüşümünü katalizlediğini, COX-2 inhibisyonunun tütün dumanı gibi benzo[a]piren içeren maddelerin yol açtığı kanserlerin önlenmesinde etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Anjiyogenez: Tümörün büyümesinde en önemli faktörlerden birisi kanlanmasıdır. Tümör hücreleri sentezledikleri vasküler endotelial growth faktör (VEGF) gibi faktörlerle kendi beslenmelerini kolaylaştırır. Kolon kanser hücrelerinde, COX-2 overekspresyonunun vasküler endotel hücrelerinin kollajen matrikse göç etmelerini sağladığı, bunun da in vitro ortamda kapiller yapılı arttırdığı gözlenmiştir (60). Bu etkiler NS-398 adlı selektif COX-2 inhibitörüyle bloke edilebilir. Yapılan çalışmalarda tümör büyümesi COX-2 (-/-) farelerde, wild tip ya da COX-1 (-/-) farelerden daha az olarak izlenmektedir. Vasküler dansite COX-2 (-/-) farelerde, COX-1 (-/-) farelerden daha azdır. Buna ek olarak COX-2 nin genetik kaybı veya farmakolojik inhibisyonu VEGF üretiminde azalmaya yol açmaktadır. Bu durum COX-2 (-/-) farelerde tümör büyümesindeki azalmayı muhtemelen açıklayabilir (61). Diğer bir çalışmada fare anjiyogenezis modeli ele alınmış, celecoxib adlı selektif COX-2 selektif inhibitörü korneal damar oluşumunu inhibe ettiği rapor edilmiştir (62).

Apoptozis: Bir hücre topluluğunun büyüklüğü, hücrelerin proliferasyonuyla ölümü arasındaki dengeye bağlıdır. Premalign ve malign süreçlerde apoptozisde azalma izlenmektedir. Apoptozisi pek çok faktör regüle eder. İnsan organizmasında apoptozisi düzenleyen faktörlerden birisi de *bcl-2*'dir. Genetik olarak COX-2'yi overekspresyen eden farelerin intestinal epitel hücrelerinde COX-2 ile beraber antiapoptotik bir madde olan *bcl-2* düzeyi de belirgin bir şekilde artar. Bu hücreler bütürlü stimüle edilmiş apoptozise dirençli hale gelirler. (21) COX-2 overekspresyonu transgenik farelerde meme karsinogenezi için yeterli olmaktadır. Bu esnada tümörlü meme dokusunda *bcl-2* artarken, proapoptotik proteinler *bax* ve *bclxl* azalmaktadır (63).

İnflamasyon ve İmmüsupresyon: Kronik inflamasyon epitelyal karsinogenez için önemli bir risk faktörüdür. Kronik inflamasyon olan bölgelerde sitokin kaynaklı COX-2 indüksiyonu sayesinde prostaglandinler artar. Bu durumun kronik inflamasyonda kanser riskinin arttırmasının nedenlerinden birisi olduğunu düşünülmektedir.

Tümörlerin büyümesi tipik olarak immunsupresyonla ilişkilidir (64). Tümör hücrelerinden salgılanan koloni stimüle edici faktörler, monosit ve makrofajlardan prostaglandin E2 (PGE2) sentezini uyarır. PGE2 immunregülatuar lenfokinlerin üretimini, T ve B hücre proliferasyonunu, natural killer cell'lerin sitotoksik aktivitelerini inhibe eder. PGE2 aynı zamanda tümör nekroz faktörünü de inhibe eder, immünsupresif etkisi olan interlökin-10'u aktive eder (65). Selektif COX-2 inhibisyonunun interlökin-10 ve interlökin-12 arasındaki dengeyi düzenleyerek antitümör aktivitesini artırdığı düşünülmektedir (66). COX-2 inhibitörleri de bunlara paralel olarak tümör kaynaklı immunsupresyonun azaltmasını sağlar (67).

İnvazyon: COX-2 insan kanser hücrelerinin invaziv özelliklerini düzenlemede önemli bir proteindir. Kanser hücrelerinde devamlı overeksprese edildiğinde prostaglandin sentezi artmakta ve hücreler daha invazif hale gelmektedir. Tsujii ve duBois artmış invazivite ile membran metalloproteinaz-2 arasında bir ilişki olduğunu bulmuştur (68). Bu enzim bazal membranın kollajen matriksini sindirir. Böylece tümör hücrelerinin dokudaki invazivitesi

artar. Bir başka çalışmadaysa COX-2 overekspresyonu, artmış CD44 ile ilişkili bulunmuştur (69). Hyalüronat için hücre yüzey reseptörü ve CD44'ün spesifik blokajı tümör hücre invazyonunu belirgin olarak azaltmıştır (69).

Peroxisome Proliferator-Activated Receptor (PPAR):

COX-2 kaynaklı prostaglandinler tarafından aktive edilen eikosanoid reseptörleri hakkındaki bilinenler son zamanlara kadar oldukça sınırlıydı. PPAR'lar COX-2 kaynaklı bazı endojen prostaglandinler tarafından da aktive edilebilen nükleer hormon süperfamilyasına ait transkripsiyon faktörleridir. Üç PPAR izotipi (α , δ , ve γ) tanımlanmıştır. PPAR'ların lipid metabolizması, immunité, sellüler diferansiyasyonda fizyolojik rolleri vardır. PPAR'lar ve kanser arası ilişki son zamanlarda giderek artan bir merak konusudur. PPAR'nın hücre siklusunun kontrolünde ve tümör büyümesini inhibisyonunda rol oynadığı düşünülmektedir (70, 71). PPAR δ mRNA'sının normal ve tümörlü örneklerde, COX-2 ile beraber upregüle olduğu saptanmıştır. PPAR'lar ve COX-2 arasındaki ilişki daha da aydınlatıldığında, COX-2'nin fonksiyonel özelliklerinin mekanizması daha iyi anlaşılacaktır.

KAYNAKLAR

1. Smith JB, Willis AL. Aspirin selectively inhibits prostaglandin production in human platelets. *Nat New Biol.* 1971; 25: 235-7.
2. Vane JR, Botting RM. A better understanding of anti-inflammatory drugs based on isoforms of cyclooxygenase (COX-1 and COX-2). *Adv Prostaglandin Thromboxane Leukot Res.* 1995; 23: 41-8.
3. Abramson SB, Weissmann G. The mechanisms of action of nonsteroidal antiinflammatory drugs. *Arthritis Rheum.* 1989; 32: 1-9.
4. Raz A, Wyche A, Needleman P. Temporal and pharmacological division of fibroblast cyclooxygenase expression into transcriptional and translational phases. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1989; 5: 1657-61.
5. Raz A, Wyche A, Siegel N, et al. Regulation of fibroblast cyclooxygenase synthesis by interleukin-1. *J Biol Chem.* 1988; 6: 3022-8.
6. Fu JY, Masferrer JL, et al. The induction and suppression of prostaglandin H2 synthase (cyclooxygenase) in human monocytes. *J Biol Chem.* 1990; 28: 16737-40.
7. Needleman P, Isakson PC. The discovery and function of COX-2. *J Rheumatol Suppl.* 1997; 49: 6-8.
8. Herschman HR. Prostaglandin synthase 2. *Biochim Biophys Acta.* 1996; 1: 125-40.
9. Funk CD, Funk LB, Kennedy ME, et al. Human platelet/erythrocyte cell prostaglandin G/H synthase: cDNA cloning, expression, and gene chromosomal assignment. *FASEB J.* 1991; 9: 2304-12.
10. Habib A, Creminon C, Frobert Y, et al. Demonstration of an inducible cyclooxygenase in human endothelial cells using antibodies raised against the carboxyl-terminal region of the cyclooxygenase-2. *J Biol Chem.* 1993; 31: 23448-54.
11. O'Sullivan MG, Chilton FH, Huggins EM Jr, et al. Lipopolysaccharide priming of alveolar macrophages for enhanced synthesis of prostanoids involves induction of a novel prostaglandin H synthase. *J Biol Chem.* 1992; 21: 14547-50.
12. O'Sullivan MG, Huggins EM Jr, Meade EA, et al. Lipopolysaccharide induces prostaglandin H synthase-2 in alveolar macrophages. *Biochem Biophys Res Commun.* 1992; 2: 1123-7.
13. Subbaramaiah K, Telang N, Ramonetti JT, et al. Transcription of cyclooxygenase-2 is enhanced in transformed mammary epithelial cells. *Cancer Res.* 1996; 19: 4424-9.

14. Inoue H, Yokoyama C, Hara S, et al. Transcriptional regulation of human prostaglandin-endoperoxide synthase-2 gene by lipopolysaccharide and phorbol ester in vascular endothelial cells. Involvement of both nuclear factor for interleukin-6 expression site and cAMP response element. *J Biol Chem.* 1995; 42: 24965-71.
15. Sheng H, Shao J, Dixon DA, et al. Transforming growth factor-beta1 enhances Ha-ras-induced expression of cyclooxygenase-2 in intestinal epithelial cells via stabilization of mRNA. *J Biol Chem.* 2000; 9: 6628-35.
16. Dannenberg AJ, Altorki NK, Boyle JO, et al. Cyclo-oxygenase 2: a pharmacological target for the prevention of cancer. *Lancet Oncol.* 2001; 9: 544-51.
17. Crofford LJ. COX-1 and COX-2 tissue expression: implications and predictions. *J Rheumatol Suppl.* 1997; 49: 15-9.
18. Goppelt-Strube M Regulation of prostaglandin endoperoxide synthase (cyclooxygenase) isozyme expression. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 1995; 4: 213-22.
19. Copeland RA, Williams JM, Giannaras J, et al. Mechanism of selective inhibition of the inducible isoform of prostaglandin G/H synthase. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994; 23: 11202-6.
20. Masferrer JL, Isakson PC, Seibert K. Cyclooxygenase-2 inhibitors: a new class of anti-inflammatory agents that spare the gastrointestinal tract. *Gastroenterol Clin North Am.* 1996; 2: 363-72.
21. Smith WL, Meade EA, DeWitt DL. Pharmacology of prostaglandin endoperoxide synthase isozymes-1 and -2. *Ann N Y Acad Sci.* 1994; 714: 136-42
22. Inoue H, Yokoyama C, Hara S, et al. Transcriptional regulation of human prostaglandin-endoperoxide synthase-2 gene by lipopolysaccharide and phorbol ester and cAMP response element. *J Biol Chem* 1995; 270: 24965-71.
23. Chiu CH, McEntee MF, Whelan J. Sulindac causes rapid regression of preexisting tumors in Min/+ mice independent of prostaglandin biosynthesis. *Cancer Res.* 1997; 19: 4267-73.
24. Dizdar Y. Kolon kanserinde COX-2 ekspresyonunun histopatolojik parametrelerle korelasyonu ve tedavideki prognostik önemi. *Uzmanlık Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Temel Onkoloji Anabilim Dalı Onkolojik Biyoloji ve İmmunoloji Bilim Dalı, İstanbul* 2003.
25. Williams CS, DuBois RN. Prostaglandin endoperoxide synthase: why two isoforms? *Am J Physiol.* 1996; 3: G393-400.
26. Laakso M, Mutru O, Isomaki H, et al. Cancer mortality in patients with rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol* 1986; 13: 522-6.
27. Gridley G, McLaughlin J K, Ekblom A, et al. Incidence of cancer among patients with rheumatoid arthritis. *J.Natl. Cancer Inst* 1993; 85: 307-11.
28. Thun, M J. Aspirin, NSAIDs, and digestive tract cancers. *Cancer Metastasis Rev* 1994; 13: 269-88.
29. Farrow D C, Vaughan, T L, Hansten, P D, et al. Use of aspirin and other nonsteroidal antiinflammatory drugs and risk of esophageal and gastric cancer. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev* 1998; 7: 97-102.
30. Thun, M J, Namboodiri, M M, Calle, E E, Flanders et al. Aspirin use and risk of fatal cancer. *Cancer Res* 1993; 53: 1322-7.
31. Funkhouser E M, Sharp G B. Aspirin and reduced risk of esophageal carcinoma. *Cancer* 1995; 76: 1116-9.
32. Zaridze D, Borisova, E, Maximovitch, et al. Aspirin protects against gastric cancer: Results of a case control study from Moscow, Russia. *Int. J. Cancer* 1999; 82: 473-6.
33. Coogan P F, Rosenberg L, Palmer J R, et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and risk of digestive cancers at sites other than the large bowel. *Cancer Epidemiol. Biomark.* 2000; 9: 119-23.
34. Langman MJ, Cheng KK, Gilman EA, et al. Effect of anti-inflammatory drugs on overall risk of common cancer: case-control study in general practice research database. *BMJ.* 2000; 7250: 1642-6.
35. Giardiello FM, Hamilton SR, Krush AJ, et al. Treatment of colonic and rectal adenomas with sulindac in familial adenomatous polyposis. *N Engl J Med.* 1993; 18: 1313-6.
36. Labayle D, Fischer D, Vielh P, et al. Sulindac causes regression of rectal polyps in familial adenomatous polyposis. *Gastroenterology.* 1991; 3: 635-9.
37. Nugent KP, Farmer KC, Spigelman AD, et al. Randomized controlled trial of the effect of sulindac on duodenal and rectal polyposis and cell proliferation in patients with familial adenomatous polyposis. *Br J Surg.* 1993; 12: 1618-9.
38. Rigau J, Pique JM, Rubio E, et al. Effects of long-term sulindac therapy on colonic polyposis. *Ann Intern Med.* 1991; 12: 952-4.
39. Thorson AG, Lynch HT, Smyrk TC. Rectal cancer in FAP patient after sulindac. *Lancet.* 1994; 8890: 180.
40. Waddell WR, Ganser GF, Cerise EJ, et al. Sulindac for polyposis of the colon. *Am J Surg.* 1989;1: 175-9.
41. Winde G, Gumbinger HG, Osswald H, et al. The NSAID sulindac reverses rectal adenomas in colectomized patients with familial adenomatous polyposis: clinical results of a dose-finding study on rectal sulindac administration. *Int J Colorectal Dis.* 1993; 1: 13-7.

-
42. Winde G, Schmid KW, Schlegel W, et al. Complete reversal and prevention of rectal adenomas in colectomized patients with familial adenomatous polyposis by rectal low-dose sulindac maintenance treatment. Advantages of a low-dose nonsteroidal anti-inflammatory drug regimen in reversing adenomas exceeding 33 months. *Dis Colon Rectum*. 1995; 8: 813-30.
 43. Kinzler KW, Nilbert MC, Su LK, et al. Identification of FAP locus genes from chromosome 5q21. *Science*. 1991; 53(5020): 661-5.
 44. Steinbach G, Lynch PM, Phillips RK, et al. The effect of celecoxib, a cyclooxygenase-2 inhibitor, in familial adenomatous polyposis. *N Engl J Med*. 2000; 26: 1946-52.
 45. Beazer-Barclay Y, Levy DB, Moser AR, Dove WF, et al. Sulindac suppresses tumorigenesis in the Min mouse. *Carcinogenesis* 1996; 8: 1757-60.
 46. Mahmoud NN, Boolbol SK, Dannenberg AJ, et al. The sulfide metabolite of sulindac prevents tumors and restores enterocyte apoptosis in a murine model of familial adenomatous polyposis. *Carcinogenesis*. 1998; 1: 87-91.
 47. Boolbol SK, Dannenberg AJ, Chadburn A, et al. Cyclooxygenase-2 overexpression and tumor formation are blocked by sulindac in a murine model of familial adenomatous polyposis. *Cancer Res*. 1996; 11: 2556-60.
 48. Mahmoud NN, Dannenberg AJ, Mestre J, et al. Aspirin prevents tumors in a murine model of familial adenomatous polyposis. *Surgery*. 1998; 2: 225-31.
 49. Jacoby RF, Marshall DJ, Newton MA, et al. Chemoprevention of spontaneous intestinal adenomas in the Apc Min mouse model by the nonsteroidal anti-inflammatory drug piroxicam. *Cancer Res*. 1996; 4: 710-4.
 50. Oshima M, Murai N, Kargman S, et al. Chemoprevention of intestinal polyposis in the Apcdelta716 mouse by rofecoxib, a specific cyclooxygenase-2 inhibitor. *Cancer Res*. 2001; 4: 1733-40.
 51. Moorghen M, Ince P, Finney KJ, et al. A protective effect of sulindac against chemically-induced primary colonic tumours in mice. *J Pathol*. 1988; 4: 341-7.
 52. Skinner SA, Penney AG, O'Brien PE. Sulindac inhibits the rate of growth and appearance of colon tumors in the rat. *Arch Surg*. 1991; 9: 1094-6.
 53. Morris CD, Armstrong GR, Bigley G, et al. Cyclooxygenase-2 expression in the Barrett's metaplasia-dysplasia-adenocarcinoma sequence. *Am J Gastroenterol*. 2001; 4: 990-6.
 54. Jones MK, Wang H, Peskar BM, et al. Inhibition of angiogenesis by nonsteroidal anti-inflammatory drugs: insight into mechanisms and implications for cancer growth and ulcer healing. *Nat Med*. 1999; 12: 1418-23.
 55. Souza RF, Shewmake K, Beer DG, et al. Selective inhibition of cyclooxygenase-2 suppresses growth and induces apoptosis in human esophageal adenocarcinoma cells. *Cancer Res*. 2000; 20: 5767-72.
 56. Tsujii M, DuBois RN. Alterations in cellular adhesion and apoptosis in epithelial cells overexpressing prostaglandin endoperoxide synthase 2. *Cell* 1995; 83: 493-501.
 57. Wiese FW, Thompson PA, Kadlubar FF. Carcinogen substrate specificity of human COX-1 and COX-2. *Carcinogenesis*. 2001; 1: 5-10.
 58. Plastaras JP, Guengerich FP, Nebert DW, et al. Xenobiotic-metabolizing cytochromes P450 convert prostaglandin endoperoxide to hydroxyheptadecatrienoic acid and the mutagen, malondialdehyde. *J Biol Chem*. 2000;16: 11784-90.
 59. Kelley DJ, Mestre JR, Subbaramaiah K, et al. Benzo[a]pyrene up-regulates cyclooxygenase-2 gene expression in oral epithelial cells. *Carcinogenesis*. 1997; 4: 795-9.
 60. Tsujii M, Kawano S, Tsuji S, et al. Cyclooxygenase regulates angiogenesis induced by colon cancer cells. *Cell*. 1998; 5: 705-16.
 61. Williams CS, Tsujii M, Reese J, et al. Host cyclooxygenase-2 modulates carcinoma growth. *J Clin Invest*. 2000; 11: 1589-94.
 62. Masferrer JL, Leahy KM, Koki AT, et al. Antiangiogenic and antitumor activities of cyclooxygenase-2 inhibitors. *Cancer Res*. 2000; 5: 1306-11.
 63. Liu CH, Chang SH, Narko K, et al. Overexpression of cyclooxygenase-2 is sufficient to induce tumorigenesis in transgenic mice. *J Biol Chem*. 2001; 21: 18563-9.
 64. Balch CM, Dougherty PA, Cloud GA, et al. Prostaglandin E2-mediated suppression of cellular immunity in colon cancer patients. *Surgery*. 1984; 1: 71-7.
 65. Kambayashi T, Alexander HR, Fong M, et al. Potential involvement of IL-10 in suppressing tumor-associated macrophages. Colon-26-derived prostaglandin E2 inhibits TNF-alpha release via a mechanism involving IL-10. *J Immunol*. 1995; 7: 3383-90.
 66. Stolina M, Sharma S, Lin Y, et al. Specific inhibition of cyclooxygenase 2 restores antitumor reactivity by altering the balance of IL-10 and IL-12 synthesis. *J Immunol*. 2000; 1: 361-70.
 67. Plescia OJ, Smith AH, Grinwich K. Subversion of immune system by tumor cells and role of prostaglandins. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1975; 5: 1848-51.

-
68. Tsujii M, Kawano s, DuBois RN. Cyclooxygenase-2 expression in human colon cancer cells increases metastatic potential. *Proc natl acad sci usa* 1997; 94: 3336-40.
69. Dohadwala M, Luo J, Zhu L, et al. Non-small cell lung cancer cyclooxygenase-2-dependent invasion is mediated by CD44. *J Biol Chem.* 2001; 24: 20809-12.
70. Kersten S, Desvergne B, Wahli W. Roles of PPARs in health and disease. *Nature.* 2000; 6785:421-4.
71. Xin X, Yang S, Kowalski J, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands are potent inhibitors of angiogenesis in vitro and in vivo. *J Biol Chem.* 1999; 13: 9116-21.