

ROBERT SITARZ, MAŁGORZATA KOLASIŃSKA-BZOMA,
MAGDALENA SKÓRZEWSKA, WOJCIECH P. POLKOWSKI,
RYSZARD MACIEJEWSKI

(UNIWERSYTET MEDYCZNY W LUBLINIE,
UNIwersyteckie Centrum Medyczne w Utrechcie)

CYKLOOKSYGENAZA-2 I JEJ ROLA W KANCEROGENEZIE

CHARAKTERYSTYKA ENZYMÓW COX

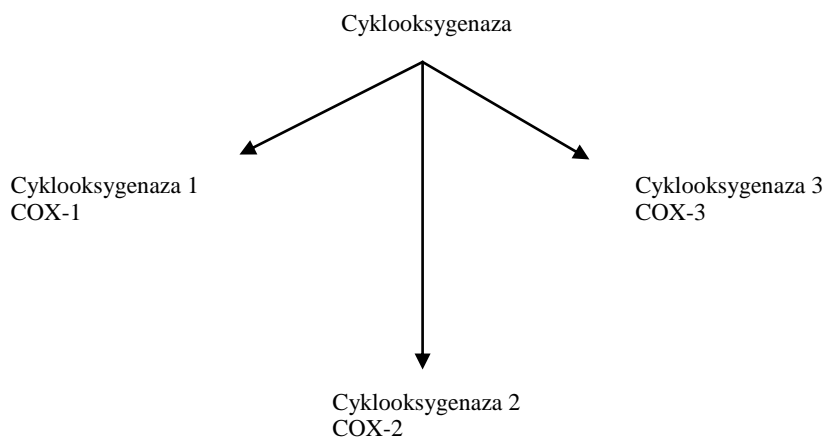
Cyklooksigenaza (ang. *cyclooxygenase*) uczestniczy w wielu ważnych fizjologicznych i patologicznych procesach w organizmie ludzkim¹ i z tego powodu jest przedmiotem intensywnych prac badawczych². Cyklooksigenaza, zwana syntazą prostaglandyny H, jak również syntazą cyklicznego nadtlenu prostaglandynowego (PGHS), jest podstawowym enzymem katalizującym przemianę kwasu arachidonowego do prostaglandyn, prostacyklin i tromboksanów³. W organizmie ludzkim występuje w postaci dwóch izoform – konstytutywnej cyklooksigenazy-1 (COX-1) i indukowanej cyklooksigenazy-2 (COX-2)⁴. Niedawno wykryto również istnienie trzeciej izoformy – cyklooksigenazy-3 (COX-3)⁵.

¹ N. V. Chandrasekharan, D. L. Simmons, *The cyclooxygenases*, „Genome Biology” 2004, nr 5 (9), s. 241.

² F. Burdan, A. Chalas, J. Szumilo, *Cyclooxygenase and prostanoids-biological implications*, „Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej” 2006, nr 60, s. 129–141; M. C. Cathcart, K. J. O’Byrne, J. V. Reynolds, J. O’Sullivan, G. P. Pidgeon, *COX-derived prostanoid pathways in gastrointestinal cancer development and progression: novel targets for prevention and intervention*, „Biochimica et Biophysica Acta” 2012, 1825 (1), s. 49–63.

³ C. S. Williams, R. N. DuBois, *Prostaglandin endoperoxide synthase: why two isoforms?*, „American Journal of Physiology” 1996, nr 270 (3 Pt 1), s. 393–400.

Ryc. 1. Rodzaje cyklooksygenazy



Substratem dla enzymu cyklooksygenazy są nienasycone kwasy tłuszczowe, z których kwas arachidonowy odgrywa najważniejszą rolę⁶. Nienasycone kwasy tłuszczowe przekształcane są do aktywnej fizjologicznie postaci poprzez ich uwalnianie z błon komórkowych. W procesie tym biorą udział fosfolipazy A2 C i D⁷. Aktywne kwasy tłuszczowe są w reakcji cyklooksygenacji i peroksydacji przekształcane do prostaglandyny G2, a następnie do prostaglandyny H2, która jest substratem do otrzymania szeregu prostaglandyn, prostacyklin oraz tromboksanów⁸.

⁴ S. Kargman, S. Charleson, M. Cartwright, J. Frank, D. Riendeau, J. Mancini, J. Evans, G. O'Neill, *Characterization of Prostaglandin G/H Synthase 1 and 2 in rat, dog, monkey, and human gastrointestinal tracts*, „Gastroenterology” 1996, nr 111 (2), s. 445–454.

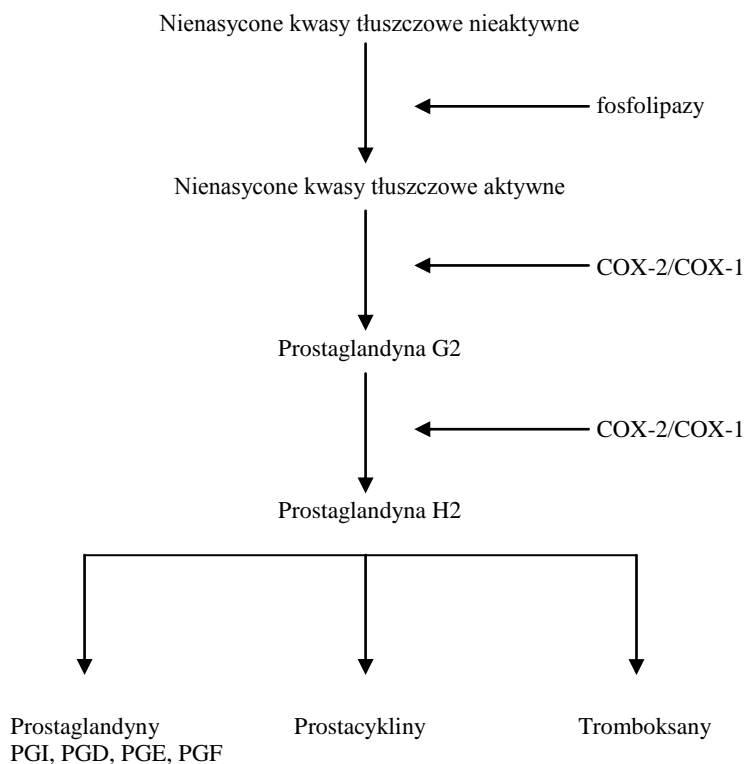
⁵ N. V. Chandrasekharan, H. Dai, K. L. Roos, N. K. Evanson, J. Tomsik, T. S. Elton, D. L. Simmons, *COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression*, „Proceedings of the National Academy of Science of the USA” 2002, nr 99 (21), s. 13926–13931.

⁶ J.M. Schwab, H.J. Schluesener, R. Meyermann, C.N. Serhan, *COX-3 the enzyme and the concept: steps towards highly specialized pathways and precision therapeutics?*, „Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids” 2003, nr 69 (5), s. 339–343.

⁷ B. Sadurska, M. Szumilo, *Phospholipases A in mammalian cells: structure, properties, physiological and pathological role*, „Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej” 2005, nr 59, s. 116–123.

⁸ Ibidem.

Ryc. 2. Reakcje katalizowane przez COX-2 oraz COX-1



COX-1

Ekspresja genu *COX-1* jest stała i podlega niewielkiej regulacji przez czynniki wewnątrzkomórkowe czy zewnątrzkomórkowe. U człowieka gen *COX-1* znajduje się na chromosomie 9 i składa się z 11 eksonów (22 kb). *COX-1* jest zaliczany do genów podstawowego cyklu komórkowego. Natomiast białko COX-1 zbudowane jest z 599 aminokwasów i ma masę cząsteczkową 70 kDa⁹. W większości tkanek COX-1 bierze udział w utrzymaniu homeostazy organizmu¹⁰. Zwiększona ekspresja COX-1 została wykryta w stanach patologicznych, to jest w blaszkach miażdżycowych oraz w chorobie reumatoidalnej (w komórkach maziówki)¹¹.

⁹ N. V. Chandrasekharan, D. L. Simmons, *The cyclooxygenases...*, op. cit., s. 241.

¹⁰ Ibidem; S. Kargman, S. Charleson, M. Cartwright, J. Frank, D. Riendeau, J. Mancini, J. Evans, G. O'Neill, *Characterization of Prostaglandin...*, op. cit., s. 445–454.

COX-2

COX-2 bierze udział w fizjologicznych i patologicznych procesach, takich jak powstanie i utrzymywanie stanu zapalnego, gorączki, bólu, a także w powstaniu i progresji chorób nowotworowych¹². W warunkach fizjologicznych COX-2 jest wykrywane w ośrodkowym układzie nerwowym, przewodzie pokarmowym, w układzie krwionośnym nerek i śródbrzońki naczyń, łożysku, a także w sercu, chrząstce, płucach¹³. COX-2 jest enzymem indukowanym¹⁴. Gen *COX-2* znajduje się na chromosomie 1 (1q25.2-25.3), składa się z 10 egzonów. Białko COX-2 jest zbudowane z 604 aminokwasów i waży ok. 72 kDa¹⁵. Gen *COX-2* zawiera tzw. sekwencję *TATA box*, do której przyłącza się wiele czynników transkrypcyjnych. Ekspresja genu *COX-2* pobudzana jest przez czynniki wzrostu oraz czynniki zaangażowane w reakcję zapalną, np. interleukinę 1 (IL-1), czynnik martwicy nowotworu typu alfa (TNF- α), liposacharydy oraz czynniki transkrypcyjne i białka onkogenów¹⁶. Nadmierną ekspresję COX-2 wykryto w wielu nowotworach, m.in. w raku jelita grubego, żołądka, płuca, piersi, przełyku, trzustki, głowy i szyi, endometrium, stercza i pęcherza moczowego¹⁷.

¹¹ L. J. Crofford, R. L. Wilder, A. P. Ristimaki, H. Sano, E. F. Remmers, H. R. Epps, T. Hla, *Cyclooxygenase-1 and -2 expression in rheumatoid synovial tissues. Effects of interleukin-1 beta, phorbol ester, and corticosteroids*, „Journal of Clinical Investigation” 1994, nr 93 (3), s. 1095–1101.

¹² C. S. Williams, M. Mann, R. N. DuBois, *The role of cyclooxygenases in inflammation, cancer, and development*, „Oncogene” 1999, nr 18 (55), s. 7908–7916.

¹³ S. Kargman, S. Charleson, M. Cartwright, J. Frank, D. Riendeau, J. Mancini, J. Evans, G. O'Neill, *Characterization of Prostaglandin...*, op. cit., s. 445–454; R. A. Soslow, A. J. Dannenberg, D. Rush, B. M. Woerner, K. N. Khan, J. Masferrer, A.T. Koki, *COX-2 is expressed in human pulmonary, colonic, and mammary tumors*, „Cancer” 2000, nr 89 (12), s. 2637–2645.

¹⁴ N. V. Chandrasekharan, D. L. Simmons, *The cyclooxygenases...*, op. cit., s. 241.

¹⁵ S. B. Appleby, A. Ristimaki, K. Neilson, K. Narko, T. Hla, *Structure of the human cyclo-oxygenase-2 gene*, „Biochemical Journal” 1994, nr 302 (Pt 3), s. 723–727; A. Ristimaki, S. Garfinkel, J. Wessendorf, T. Maciag, T. Hla, *Induction of cyclooxygenase-2 by interleukin-1 alpha. Evidence for post-transcriptional regulation*, „The Journal of Biological Chemistry” 1994, nr 269 (16), s. 11769–11775.

¹⁶ R. A. Soslow, A. J. Dannenberg, D. Rush, B. M. Woerner, K. N. Khan, J. Masferrer, A. T. Koki, *COX-2 is expressed...*, op. cit., s. 2637–2645; G. Chan, J. O. Boyle, E. K. Yang, F. Zhang, P. G. Sacks, J. P. Shah, D. Edelstein, R. A. Soslow, A. T. Koki, B. M. Woerner, J. L. Masferrer, A. J. Dannenberg, *Cyclooxygenase-2 expression is up-regulated in squamous cell carcinoma of the head and neck*, „Cancer Research” 1999, nr 59 (5), nr 991–994; B. P. van Rees, K. Saukkonen, A. Ristimaki, W. Polkowski, G. N. Tytgat, P. Drillenburger, G. J. Offerhaus, *Cyclooxygenase-2 expression during carcinogenesis in the human stomach*, „Journal of Pathology” 2002, nr 196 (2), s. 171–179.

¹⁷ R. A. Soslow, A. J. Dannenberg, D. Rush, B. M. Woerner, K. N. Khan, J. Masferrer, A. T. Koki, *COX-2 is expressed...*, op. cit., s. 2637–2645; R. F. Souza, K. Shewmake, D. G. Beer, B. Cryer, S.J. Spechler, *Selective inhibition of cyclooxygenase-2 suppresses growth and induces apoptosis in human esophageal adenocarcinoma cells*, „Cancer Research” 2000,

COX-3

COX-3 wykryto w 2002 roku w tkance nerwowej ośrodkowego układu nerwowego oraz w ścianie aorty¹⁸. Do chwili obecnej nie znaleziono umiejscowienia genu *COX-3*. Natomiast białko COX-3 jest wynikiem alternatywnego składania produktu genu *COX-1*. Białko COX-3 zawiera 633 aminokwasy, a jego masa wynosi około 65 kDa¹⁹. Dotychczasowe badania wskazują, że w organizmie ludzkim białko COX-3 nie ma aktywności cyklooksigenazy²⁰, jakkolwiek jego rola nie została jeszcze dokładnie opisana²¹.

COX-1 a COX-2

Zgodność sekwencji aminokwasów między COX-1 a COX-2 u ludzi sięga 63%²², a co za tym idzie budowa przestrzenna obu białek jest również podobna. Reaktywność obu izoenzymów zarówno do substratów, jak i inhibitorów jest znaczna²³. Substratem COX-1 może być jedynie kwas arachidonowy i kwas dihomog-linoleinowy, natomiast dla COX-2 jest to również kwas α -linoleinowy i eikozapentanowy²⁴.

CYKLOOKSYGENAZA 2 A POWSTANIE I ROZWÓJ RAKA

Nadekspresja COX-2 prowadzi do powstania i rozwoju raka poprzez wpływ na apoptozę, neoangiogenezę, tworzenie przerzutów czy układ immunologiczny.

nr 60 (20), s. 5767–5772; A. Ristimäki, O. Nieminen, K. Saukkonen, K. Hotakainen, S. Nordling, C. Haglund, *Expression of cyclooxygenase-2 in human transitional cell carcinoma of the urinary bladder*, „American Journal of Pathology” 2001, nr 158 (3), s. 849–853; K. Saukkonen, O. Nieminen, B. van Rees, S. Vilkkki, M. Harkonen, M. Juhola, J.P. Mecklin, P. Sipponen, A. Ristimäki, *Expression of cyclooxygenase-2 in dysplasia of the stomach and in intestinal-type gastric adenocarcinoma*, „Clinical Cancer Research” 2001, nr 7 (7), s. 1923–1931.

¹⁸ N. V. Chandrasekharan, H. Dai, K. L. Roos, N.K. Evanson, J. Tomsik, T. S. Elton, D. L. Simmons, *COX-3, a cyclooxygenase-1 variant...*, op. cit., s. 13926–13931.

¹⁹ D. L. Simmons, R. M. Botting, T. Hla, *Cyclooxygenase isozymes: the biology of prostaglandin synthesis and inhibition*, „Pharmacological Reviews” 2004, nr 56 (3), s. 387–437.

²⁰ J. A. Snipes, B. Kis, G. S. Shelness, J. A. Hewett, D. W. Busija, *Cloning and characterization of cyclooxygenase-1b (putative cyclooxygenase-3) in rat*, „Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics” 2005, nr 313 (2), s. 668–676.

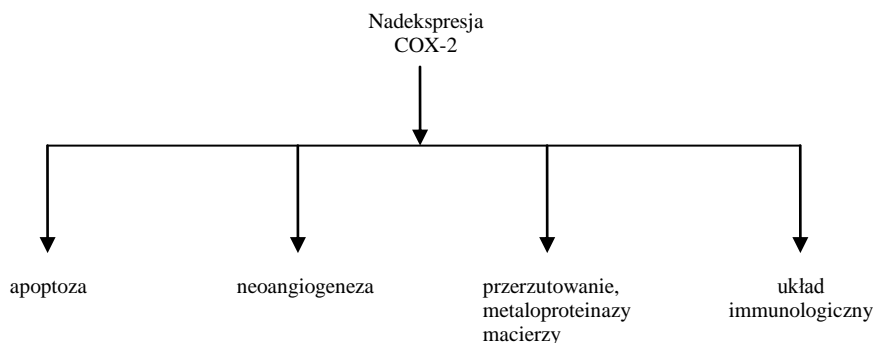
²¹ S. B. Appleby, A. Ristimäki, K. Neilson, K. Narko, T. Hla, *Structure of the human...*, op. cit., s. 723–727; D. L. Simmons, R. M. Botting, T. Hla, *Cyclooxygenase isozymes...*, op. cit., s. 387–437.

²² D. L. Simmons, R. M. Botting, T. Hla, *Cyclooxygenase isozymes...*, op. cit., s. 387–437.

²³ J. M. Schwab, H. J. Schluesener, R. Meyermann, C. N. Serhan, *COX-3 the enzyme...*, op. cit., s. 339–343.

²⁴ C. S. Williams, R. N. DuBois, *Prostaglandin endoperoxide synthase...*, op. cit., s. 393–400; S. Kargman, S. Charleson, M. Cartwright, J. Frank, D. Riendeau, J. Mancini, J. Evans, G. O'Neill, *Characterization of Prostaglandin...*, op. cit., s. 445–454.

Ryc. 3. Wpływ COX-2 na procesy życiowe



APOPTOZA

Apoptoza (programowana śmierć komórki) jest ważnym procesem w rozwoju i prawidłowym funkcjonowaniu organizmu i może być aktywowana na drodze zewnątrz- i wewnątrzpochodnej. Droga wewnątrzpochodna poprzez zmiany w błonie mitochondrium prowadzi do uwolnienia cytochromu c, który następnie tworzy wspólnie z czynnikiem aktywującym proteazę apoptotyczną i nieaktywną formą kaspazy 9 kompleks zwany apoptosomem. Kompleks ten uaktywnia kaskady kaspaz, które prowadzą do śmierci komórki. Prawidłowe działanie tej drogi zależy od równowagi pomiędzy czynnikami proapoptotycznymi a czynnikami antyapoptotycznymi. Główną rolę w regulacji apoptozy odgrywa rodzina białek BCL-2, do której należą zarówno białka proapoptotyczne – BAX, BAD, BID, BIK, jak i antyapoptotyczne – BCL-2 i BCL-XL.

Droga zewnątrzpochodna inicjuje apoptozę poprzez aktywację receptorów na powierzchni komórki. Do receptorów tych zalicza się np. receptor dla czynnika martwicy nowotworu (TNFR). Aktywacja receptora uruchamia kaskadę kaspaz, które prowadzą do śmierci komórki.

Nadekspresja COX-2 hamuje apoptozę poprzez wzrost aktywności białka antyapoptotycznego BCL-2 oraz aktywację szlaku kinazy serotoninowo-treoninowej²⁵. Nadekspresja COX-2 wpływa na stężenie i stabilizację surwiwiny, a to zwiększa oporność na apoptozę (surwiwina – białko wiążące kaspazy i uniemożliwiające ich aktywację)²⁶.

²⁵ K. M. Leahy, A. T. Koki, J. L. Masferrer, *Role of cyclooxygenases in angiogenesis*, „Current Medical Chemistry” 2000, nr 7 (11), s. 1163–1170.

²⁶ K. Krysan, H. Dalwadi, S. Sharma, M. Pold, S. Dubinett, *Cyclooxygenase 2-dependent expression of survivin is critical for apoptosis resistance in non-small cell lung cancer*, „Cancer Research” 2004, nr 64 (18), s. 6359–6362.

NEOANGIOGENEZA

Guz nie większy niż 1–2 mm średnicy może być zaopatrywany w tlen za pośrednictwem dyfuzji z otaczających go tkanek. Natomiast wzrost guzów wymaga wytworzenia własnej sieci naczyń krwionośnych i jest to krytyczny proces zarówno dla wzrostu guza pierwotnego, jak i dla tworzących się przerzutów. Przejście guza z fazy beznacyniowej w nacyniową jest niezwykle ważne w progresji nowotworowej i nazywane jest przełomem angiogenym (ang. *angiogenic switch*)²⁷. Obecnie naukowcy bardziej skłaniają się ku teorii, że nowe naczynia nowotworowe nie tworzą się *de novo*, lecz powstają z naczyń już istniejących²⁸. Znanych jest kilka mechanizmów powstawania naczyń w guzie nowotworowym, z których najczęściej występującym jest proces tzw. pączkowania (ang. *sprouting angiogenesis*). Polega on na powstawaniu naczyń z już istniejących poprzez formowanie się kolumn komórek śródbłonkowych, których wydłużanie odbywa się w kierunku guza nowotworowego i prowadzi do powstawania zamkniętych pętli i sieci kapilarnych. Pozostałe mechanizmy powstawania naczyń to wgłobienie (rozpad naczynia większego na mniejsze naczynia) i mimikra (powstawanie struktur naczyniopodobnych)²⁹.

Proces angiogenezy nowotworowej jest procesem przewlekłym, regulowanym przez czynniki pobudzające i hamujące. W swoich etapach (degradacja błony podstawnej, migracja i proliferacja komórek śródbłonkowych, tworzenie struktur tubulopodobnych i stabilizacja nowych naczyń) jest podobny do angiogenezy fizjologicznej³⁰.

Wzrost masy guza bez jednoczesnego wytworzenia nowych naczyń krwionośnych powoduje niedotlenienie komórek (hipoksja). Tak wytworzone specyficzne środowisko indukuje czynnik transkrypcyjny HIF-1 α oraz HIF-2 α (ang. *hypoxia inducible factor-HIF*), który aktywuje transkrypcję genów ułatwiających przetrwanie komórek w warunkach hipoksji, a jednocześnie wpływa na progresję nowotworową³¹. Wśród aktywowanych genów najważniejszy jest czynnik

²⁷ V. Baeriswyl, G. Christofori, *The angiogenic switch in carcinogenesis*, „Seminars in Cancer Biology” 2009, nr 19 (5), s. 329–337.

²⁸ M. R. Richardson, M. C. Yoder, *Endothelial progenitor cells: quo vadis?*, „Journal of Molecular and Cellular Cardiology” 2011, nr 50 (2), s. 266–272.

²⁹ B. Dome, M. J. Hendrix, S. Paku, J. Tovari, J. Timar, *Alternative vascularization mechanisms in cancer: Pathology and therapeutic implications*, „American Journal of Pathology” 2007, nr 170 (1), s. 1–15.

³⁰ A. S. Chung, J. Lee, N. Ferrara, *Targeting the tumour vasculature: insights from physiological angiogenesis*, „Nature Reviews Cancer”, nr 10 (7), s. 505–514; A. Raza, M. J. Franklin, A. Z. Dudek, *Pericytes and vessel maturation during tumor angiogenesis and metastasis*, „American Journal of Hematology” 2010, nr 85 (8), s. 593–598.

³¹ J. W. Lee, S. H. Bae, J. W. Jeong, S. H. Kim, K. W. Kim, *Hypoxia-inducible factor (HIF-1) alpha: its protein stability and biological functions*, „Experimenatl and Mollecular Medicine” 2004, nr 36 (1), s. 1–12; J. D. Gordan, M. C. Simon, *Hypoxia-inducible factors: central regulators of the tumor phenotype*, „Current Opinion in Genetics & Development” 2007, nr 17 (1), s. 71–77.

wzrostu śródbłonna naczyń (ang. *vascular endothelial growth factor* – VEGF) i różne jego izoformy oraz COX-2³². VEGF poprzez receptory VEGFR1 oraz VEGFR2 stymuluje angiogenezę natomiast VEGFR3 wpływa na limfoangiogenezę³³. Ekspresja VEGF oraz COX-2 występuje w wielu nowotworach³⁴. Nadekspresja COX-2 prowadzi do powstania i wzrostu nowych naczyń bezpośrednio poprzez produkty takie jak: tromboksan A₂ (TXA₂) prostaglandyna E₂ (PGE₂) i prostacyklina I₂ (PGI₂) oraz pośrednio poprzez zwiększenie ekspresji i aktywności VEGF, interleukiny 8 (IL-8) oraz chemokin ENA-78 (ang. *epithelial neutrophil-activating protein 78*)³⁵. PGE₂ wpływa na wytwarzanie VEGF przez przemieszczenie HIF-1α i HIF-2α z cytoplazmy do jądra komórki³⁶. Natomiast TXA₂ pobudza komórki endotelium do migracji i tworzenia naczyniopodobnych struktur³⁵. Wytwarzana już w komórkach śródbłonna naczyń PGI₂ rozszerza naczynia oraz działa antyagregacyjnie w stosunku do komórek krwi. Dotychczasowe wyniki badań dotyczących stosowania inhibitorów COX-2 jako czynników blokujących proces neoangiogenezy są obiecujące³⁷.

Stosowanie inhibitorów procesu angiogenezy budzi duże nadzieje w terapii chorób nowotworowych, ale niestety długotrwałe stosowanie leków antyangiogennych powoduje wzrost inwazyjności oraz powstawanie przerzutów³⁸. Terapia powinna uwzględniać mechanizmy angiogenezy nowotworowej. Poznanie molekularnych mechanizmów neoangiogenezy niezaprzeczalnie przyczyni się do skuteczniejszej terapii przeciwnowotworowej.

Dotychczas tylko cztery leki uzyskały aprobatę agencji FDA (ang. Food and Drug Administration). Bewacizumab (Awastin)-przeciwciało przeciwko VEGF oraz trzy inhibitory kinaz tyrozynowych: sorafenib, sunitinib i pazopanib³⁹.

³² V. Baeriswyl, G. Christofori, *The angiogenic switch in carcinogenesis*, op. cit., s. 329–337; J. L. Masferrer, K. M. Leahy, A. T. Koki, B. S. Zweifel, S. L. Settle, B. M. Woerner, D. A. Edwards, A. G. Flickinger, R. J. Moore, K. Seibert, *Antiangiogenic and antitumor activities of cyclooxygenase-2 inhibitors*, „Cancer Research” 2000, nr 60 (5), s. 1306–1311.

³³ V. Baeriswyl, G. Christofori, *The angiogenic switch...*, op. cit., s. 329–337.

³⁴ D. P. Toomey, J. F. Murphy, K. C. Conlon, *COX-2, VEGF and tumour angiogenesis*, „Surgeon” 2009, nr 7 (3), s. 174–180.

³⁵ J. M. Schwab, H. J. Schluesener, S. Laufer, *COX-3: just another COX or the solitary elusive target of paracetamol?*, „Lancet” 2003, nr 361 (9362), s. 981–982; M. D. Salvado, A. Alfranca, J. Z. Haeggstrom, J. M. Redondo, *Prostanoids in tumor angiogenesis: therapeutic intervention beyond COX-2*, „Trends in Molecular Medicine”, nr 18 (4), s. 233–243.

³⁶ M. Liu, S. C. Yang, S. Sharma, J. Luo, X. Cui, K. A. Peebles, M. Huang, M. Sato, R. D. Ramirez, J. W. Shay, J. D. Minna, S. M. Dubinett, *EGFR signaling is required for TGF-beta 1 mediated COX-2 induction in human bronchial epithelial cells*, „American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology” 2007, nr 37 (5), s. 578–588.

³⁷ M. D. Salvado, A. Alfranca, J. Z. Haeggstrom, J. M. Redondo, *Prostanoids in tumor angiogenesis...*, op. cit., s. 233–243.

³⁸ M. S. Widel, M. Widel, *Mechanisms of metastasis and molecular markers of malignant tumor progression. I. Colorectal cancer*, „Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej” 2006, nr 60, s. 453–470.

³⁹ J. M. Ebos, R. S. Kerbel, *Antiangiogenic therapy: impact on invasion, disease progression, and metastasis*, „Nature Reviews Clinical Oncology” 2011, 8 (4), s. 210–221.

Sorafenib hamuje aktywność m.in. VEGFR2, VEGFR3. Sunitinib działa m.in. na VEGFR1 i VEGFR2. Pazopanib na VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3. Inhibitory te mogą być stosowane w przypadku raka jelita grubego, płuc i piersi, a także u chorych, u których występuje ekspresja wyżej wymienionych receptorów⁴⁰.

METALOPROTEINAZY I TWORZENIE PRZERZUTÓW

Tworzenie przerzutów nowotworowych jest procesem złożonym. Komórki rakowe uwolnione ze zmiany pierwotnej, aby dokonać inwazji otaczających tkanek, muszą przekroczyć błonę podstawną, a także otaczającą warstwę komórek śródbłonka naczyń zaopatrujących guz nowotworowy, następnie wnikać do naczyń chłonnych i (lub) krwionośnych (ang. *intravasation*) i migrować przez ściany naczyń do otaczających tkanek (ang. *extravasation*), gdzie proliferują, tworząc nowe ogniska raka⁴¹.

Błona podstawna jest siecią białek, która tworzy barierę między nabłonkiem (śródbłonkiem) naczyń a otaczającą tkanką; ogranicza ona migrację komórek prawidłowych. Komórki rakowe upośledzają funkcję błony podstawnej poprzez degradację jej składników. Jest to kluczowy element prowadzący do przerzutów. Proces degradacji składników błony podstawnej wymaga aktywacji enzymów proteolitycznych, m.in. proteinaz serynowych oraz metaloproteinaz (ang. *metalloproteinases* – MMPs). Metaloproteinazy zawierają cynk i wydzielane są jako proenzymy, które ulegają aktywacji w przestrzeni pozakomórkowej przez inne proteinazy. Metaloproteinazy dzielą się na 4 grupy w zależności od substratów, na jakie działają: kolagenazy, matrylizyny, stromelizyny i żelatynazy⁴².

Metaloproteinaza 2 (MMP-2), nazywana żelatynazą A, i metaloproteinaza 9 (MMP-9), nazywana żelatynazą B, są głównie związane z progresją raka i korelują z krótszym przeżyciem chorych⁴³. Wzrost ekspresji COX-2 powoduje wzrost aktywności metaloproteinaz MMP-2 i MMP-9, które wpływają na zwiększenie zdolności do naciekania i tworzenia przerzutów. PGE₂, działając przez receptor czwarty prostaglandyny E (EP4), nasila ekspresję MMP-2.

Adhezja do substancji zewnątrzkomórkowej jest ważnym etapem rozpoczynającym tworzenie przerzutów. Proces ten zależy głównie od białka CD44⁴⁴.

⁴⁰ Ibidem.

⁴¹ M. S. Widel, M. Widel, *Mechanisms of metastasis...*, op. cit., s. 453–470.

⁴² H. Nagase, J. F. Woessner Jr, *Matrix metalloproteinases*, „The Journal of Biological Chemistry” 1999, nr 274 (31), s. 21491–21494.

⁴³ S. B. Somiari, C. D. Shriver, C. Heckman, C. Olsen, H. Hu, R. Jordan, C. Arciero, S. Russell, G. Garguilo, J. Hooke, R.I. Somiari, *Plasma concentration and activity of matrix metalloproteinase 2 and 9 in patients with breast disease, breast cancer and at risk of developing breast cancer*, „Cancer Letters” 2006, nr 233 (1), s. 98–107.

⁴⁴ A. Bartolazzi, R. Peach, A. Aruffo, I. Stamenkovic, *Interaction between CD44 and hyaluronate is directly implicated in the regulation of tumor development*, „Journal of Experimental Medicine” 1994, nr 180 (1), s. 53–66.

CD44 jest receptorem powierzchniowym dla hialuronianu – głównego składnika macierzy zewnątrzkomórkowej. Nowotwory wykazujące nadekspresję COX-2 często mają również nadekspresję CD44, która wpływa na wzrost inwazyjności raka⁴⁵. Dodatkowo opisano związek pomiędzy poziomem ekspresji COX-2 a białkami kompleksu E-kadheryny, które są bezpośrednio związane z tworzeniem przerzutów na drodze nabywania przez komórki raka cech komórek mezenychmalnych (ang. *epithelial mesenchymal transition – EMT*)⁴⁶.

UKŁAD IMMUNOLOGICZNY

Układ immunologiczny odgrywa ważną rolę w niszczeniu zmienionych nowotworowo komórek. Odpowiada za to odpowiedź komórkowa, głównie komórki T. Najczęściej dochodzi do zmniejszenia liczby limfocytów T, zmniejszenia subpopulacji limfocytów T CD4+, zmniejszenia stosunku CD4+/CD8+, upośledzenia zdolności do proliferacji stymulowanej mitogenami oraz zmniejszenia aktywności cytotoksycznej komórek NK. Nadekspresja COX-2 poprzez nadprodukcję PGE₂ zaburza równowagę pomiędzy stężeniami interleukiny 10 (IL-10) i interleukiny 12 (IL-12)⁴⁷, które bezpośrednio wpływają na odpowiedź komórkową. Wzrost stężenia IL-10 hamuje odpowiedź komórkową, podobny skutek wywołuje zmniejszenie stężenia IL-12. Prowadzi to do immunosupresji wywołanej przez guz i nasila angiogenezę⁴⁸.

⁴⁵ S. Misra, L. M. Obeid, Y. A. Hannun, S. Minamisawa, F. G. Berger, R. R. Markwald, B. P. Toole, S. Ghatak, *Hyaluronan constitutively regulates activation of COX-2-mediated cell survival activity in intestinal epithelial and colon carcinoma cells*, „The Journal of Biological Chemistry” 2008, nr 283 (21), s. 14335–14344; S. Misra, V. C. Hascall, F. G. Berger, R. R. Markwald, S. Ghatak, *Hyaluronan, CD44, and cyclooxygenase-2 in colon cancer*, „Connective Tissue Research” 2008, nr 49 (3), s. 219–224.

⁴⁶ R. Sitarz, R. J. Leguit, W. W. de Leng, F. H. Morsink, W. P. Polkowski, R. Maciejewski, G. J. Offerhaus, A. N. Milne, *Cyclooxygenase-2 mediated regulation of E-cadherin occurs in conventional but not early-onset gastric cancer cell lines*, „Cellular Oncology” 2009, nr 31 (6), s. 475–485; M. Dohadwala, S. C. Yang, J. Luo, S. Sharma, R. K. Batra, M. Huang, Y. Lin, L. Goodlick, K. Krysan, M. C. Fishbein, L. Hong, C. Lai, R. B. Cameron, R. M. Gemmill, H. A. Drabkin, S. M. Dubinett, *Cyclooxygenase-2-dependent regulation of E-cadherin: prostaglandin E(2) induces transcriptional repressors ZEB1 and snail in non-small cell lung cancer*, „Cancer Research” 2006, nr 66 (10), s. 5338–5345.

⁴⁷ M. Huang, M. Stolina, S. Sharma, J.T. Mao, L. Zhu, P.W. Miller, J. Wollman, H. Herschman, S.M. Dubinett, *Non-small cell lung cancer cyclooxygenase-2-dependent regulation...*, op. cit., s. 1208–1216.

⁴⁸ A. Ristimäki, N. Honkanen, H. Jankala, P. Sipponen, M. Harkonen, *Expression of cyclooxygenase-2 in human gastric carcinoma*, „Cancer Research” 1997, nr 57 (7), s. 1276–1280.

FUNKCJA CYKLOOKSYGENAZY

Enzymy COX spełniają ważną rolę w regulacji procesów na poziomie komórek, tkanek, narządów i układów. Poniżej wymienione zostały najważniejsze przykłady oddziaływania.

UKŁAD POKARMOWY

COX-2 w błonie śluzowej przewodu pokarmowego występuje w warunkach fizjologicznych, jakkolwiek aktywność COX-2 jest niewielka, zwykle poniżej detekcji⁴⁹. Nadekspresję COX-2 spotyka się w zmianach patologicznych, to jest gruczolakach i rakach gruczolowych oraz stanach je poprzedzających⁵⁰. Nadmierną ekspresję COX-2 spotyka się w typowym raku żołądka oraz raku kikutu żołądka, podczas gdy w raku żołądka występującym w młodym wieku ekspresja jest niewielka⁵¹. Polimorfizm w genie promotorze COX-2 w pozycji 765 jest związany z większym ryzykiem wystąpienia raka żołądka⁵². Jej nadmierną ekspresję spotka się w blisko 80% przypadków raka jelita grubego oraz w raku trzustki⁵³.

UKŁAD NACZYNIOWY

W warunkach fizjologicznych ekspresja COX-1 w śródbłonku naczyń jest niewielka. Zwiększenie świadczy o uszkodzeniu ściany naczynia, sugerując miażdżycę⁵⁴. Ekspresja COX-2 jest ważna w ochronie komórek serca uszkodzonych

⁴⁹ B. P. van Rees, K. Saukkonen, A. Ristimäki, W. Polkowski, G. N. Tytgat, P. Drillenburger, G. J. Offerhaus, *Cyclooxygenase-2 expression...*, op. cit., s. 171–179; K. Saukkonen, O. Nieminen, B. van Rees, S. Vilkkki, M. Harkonen, M. Juhola, J. P. Mecklin, P. Sipponen, A. Ristimäki, *Expression of cyclooxygenase-2 in dysplasia...*, op. cit., s. 1923–1931; A. Ristimäki, N. Honkanen, H. Jankala, P. Sipponen, M. Harkonen, *Expression of cyclooxygenase-2 in human gastric carcinoma*, op. cit., s. 1276–1280.

⁵⁰ S. C. Wong, M. Fukuchi, P. Melnyk, I. Rodger, A. Giaid, *Induction of cyclooxygenase-2...*, op. cit., s. 100–103.

⁵¹ A. N. Milne, R. Carvalho, F. M. Morsink, A. R. Musler, W. W. de Leng, A. Ristimäki, G. J. Offerhaus, *Early-onset gastric cancers have a different molecular expression profile than conventional gastric cancers*, „Modern Pathology” 2006, nr 19 (4), s. 564–572.

⁵² R. Sitarz, R. J. Leguit, W. W. de Leng, M. Polak, F. M. Morsink, O. Bakker, R. Maciejewski, G. J. Offerhaus, A. N. Milne, *The COX-2 promoter polymorphism -765 G>C is associated with early-onset, conventional and stump gastric cancers*, „Modern Pathology” 2008, nr 21 (6), s. 685–690.

⁵³ O. N. Tucker, A. J. Dannenberg, E. K. Yang, F. Zhang, L. Teng, J. M. Daly, R. A. Soslowski, J. L. Masferrer, B. M. Woerner, A. T. Koki, T. J. Fahey 3rd, *Cyclooxygenase-2 expression is up-regulated in human pancreatic cancer*, „Cancer Research” 1999, nr 59 (5), s. 987–990.

⁵⁴ S. C. Wong, M. Fukuchi, P. Melnyk, I. Rodger, A. Giaid, *Induction of cyclooxygenase-2...*, op. cit., s. 100–103.

przez niedokrwienie od początku zadziałania bodźca niedokrwiennego i jest czułym wskaźnikiem uszkodzenia ściany naczyń i serca⁵⁵.

UKŁAD NERWOWY

W ośrodkowym układzie nerwowym wykryto obecność wszystkich trzech izoenzymów COX. Fizjologiczną, niewielką ekspresję COX-2 wykryto w przodomózgowiu i rdzeniu kręgowym⁵⁶. Zwiększoną ekspresję COX-2 obserwuje się w stanach zapalnych, chorobach zwyrodnieniowych, nowotworowych oraz w stanach przewlekłego stresu.

UKŁAD MOCZOWO-PŁCIOWY

COX-2 wykryto w aparacie przykłębuszkowym, komórkach nabłonkowych kanalikula nefronu oraz komórkach śródmiąższowych brodawki nerkowej. COX-2 zmniejsza absorpcję sodu i wpływa na uwalnianie reniny i aktywację szlaku renina-angiotensyna-aldosteron (RAA)⁵⁷.

Ekspresję COX-2 opisano w nabłonku oraz nasieniowodzie u mężczyzn, a u kobiet w komórkach wydzielniczych nabłonka jajowodów oraz w nabłonku błony śluzowej trzonu macicy. Aktywność COX-2 jest odpowiedzialna za angiogenezę i rozpoczęcie formowania łożyska, a jej ekspresja zwiększa się wraz z wiekiem ciążowym. Ekspresja COX-2 jest nieodzownym czynnikiem warunkującym prawidłową owulację, zapłodnienie i implantację⁵⁸.

Pomimo wielu ważnych funkcji fizjologicznych w układzie moczowo-płciowym ekspresja COX-2 zwiększa się w nowotworach pęcherza moczowego, gruczołu krokowego, jajnika oraz raku szyjki macicy⁵⁹. W raku szyjki macicy

⁵⁵ A. Ristimäki, O. Nieminen, K. Saukkonen, K. Hotakainen, S. Nordling, C. Haglund, *Expression of cyclooxygenase-2 in human transitional cell...*, op. cit., s. 849–853.

⁵⁶ F. Catella-Lawson, M. P. Reilly, S. C. Kapoor, A. J. Cucchiara, S. DeMarco, B. Tournier, S. N. Vyas, G. A. Fitzgerald, *Cyclooxygenase inhibitors and the antiplatelet effects of aspirin*, „New England Journal of Medicine” 2001, nr 345 (25), s. 1809–1817.

⁵⁷ H. F. Cheng, R. C. Harris, *Renal effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs and selective cyclooxygenase-2 inhibitors*, „Current Pharmaceutical Design” 2005, nr 11 (14), s. 1795–1804.

⁵⁸ L. L. Espey, *Current status of the hypothesis that mammalian ovulation is comparable to an inflammatory reaction*, „Biology of Reproduction” 1994, nr 50 (2), s. 233–238; A. S. Salhab, M. N. Gharaibeh, M. S. Shomaf, B. I. Amro, *Meloxicam inhibits rabbit ovulation*, „Contraception” 2001, nr 63 (6), s. 329–333.

⁵⁹ K. Yamagata, K. I. Andreasson, W. E. Kaufmann, C. A. Barnes, P. F. Worley, *Expression of a mitogen-inducible cyclooxygenase in brain neurons: regulation by synaptic activity and glucocorticoids*, „Neuron” 1993, nr 11 (2), s. 371–386; J. L. Young, A. A. Jazaeri, C. J. Darus, S. C. Modesitt, *Cyclooxygenase-2 in cervical neoplasia: a review*, „Gynecologic Oncology” 2008, nr 109 (1), s. 140–145.

ekspresja COX-2 związana jest ze zwiększoną gęstością naczyń i z gorszym rokowaniem⁶⁰, a stosowanie inhibitorów COX-2 zwiększa skuteczność radioterapii⁶¹.

UKŁAD ODDECHOWY

W normalnym nabłonku w płucach nie stwierdza się obecności COX-2⁶². Ekspresja COX-2 wzrasta w zapaleniach i zmianach patologicznych prowadzących do raka⁶³. Nadekspresję COX-2 wykryto w 70% przypadków gruczolakoraka⁶⁴ oraz 50% raka płaskonabłonkowego⁶⁵. Nie stwierdzono zależności pomiędzy ekspresją COX-2 a cechami klinicznymi (wiekiem, płcią, stopniem zaawansowania)⁶⁶.

INHIBITORY COX-2

Inhibitory COX-2 ze względu na swoje działanie przeciwbólowe, przeciwzapalne oraz przeciwgorączkowe są najczęściej przyjmowanymi lekami. Głównie przyjmowane są w bólach o umiarkowanym i niewielkim nasileniu. Niestety długotrwałe ich stosowanie powoduje częste efekty uboczne w postaci krwawień czy perforacji⁶⁷. Stosowanie selektywnych inhibitorów COX-2 podnosi

⁶⁰ S. Zha, V. Yegnasubramanian, W. G. Nelson, W. B. Isaacs, A. M. De Marzo, *Cyclooxygenases in cancer: progress and perspective*, „Cancer Letters” 2004, nr 215 (1), s. 1–20.

⁶¹ M. G. Noordhuis, J. J. Eijnsink, F. Roossink, P. de Graeff, E. Pras, E. Schuurink, G. B. Wisman, G. H. de Bock, A. G. van der Zee, *Prognostic cell biological markers in cervical cancer patients primarily treated with (chemo)radiation: a systematic review*, „International Journal of Radiation Oncology*Biological*Physics” 2011, nr 79 (2), s. 325–334.

⁶² O. N. Tucker, A. J. Dannenberg, E. K. Yang, F. Zhang, L. Teng, J.M. Daly, R. A. Soslowski, J. L. Masferrer, B. M. Woerner, A. T. Koki, T. J. Fahey 3rd, *Cyclooxygenase-2 expression is up-regulated in human pancreatic cancer*, op. cit., s. 987–990.

⁶³ C. Mascaux, B. Martin, J. M. Verdebout, V. Ninane, J. P. Sculier, *COX-2 expression during early lung squamous cell carcinoma oncogenesis*, „European Respiratory Journal” 2005, nr 26 (2), s. 198–203.

⁶⁴ T. Hida, Y. Yatabe, H. Achiwa, H. Muramatsu, K. Kozaki, S. Nakamura, M. Ogawa, T. Mitsudomi, T. Sugiura, T. Takahashi, *Increased expression of cyclooxygenase 2 occurs frequently in human lung cancers, specifically in adenocarcinomas*, „Cancer Research” 1998, nr 58 (17), s. 3761–3764.

⁶⁵ A. Yuan, C. J. Yu, C. T. Shun, K. T. Luh, S. H. Kuo, Y. C. Lee, P. C. Yang, *Total cyclooxygenase-2 mRNA levels correlate with vascular endothelial growth factor mRNA levels, tumor angiogenesis and prognosis in non-small cell lung cancer patients*, „International Journal of Cancer” 2005, nr 115 (4), s. 545–555.

⁶⁶ Ibidem.

⁶⁷ R. Jones, G. Rubin, F. Berenbaum, J. Scheiman, *Gastrointestinal and cardiovascular risks of nonsteroidal anti-inflammatory drugs*, „American Journal of Medicine” 2008, nr 121 (6), s. 464–474.

ryzyko zawału mięśnia sercowego i udaru mózgu, dlatego ich stosowanie powinno być ograniczane. Blokowanie aktywności COX-2 powoduje regresję guza nowotworowego, zwiększenie wokół niego nacieku limfocytarnego, a poprzez prostanoidy wpływa na dojrzewanie komórek dendrytycznych, co wzmacnia odpowiedź T-komórkową.

Chorzy z nadmierną ekspresją COX-2 mogliby odnieść korzyść z leczenia selektywnymi i nieselektywnymi inhibitorami COX-2. Inhibitory COX mają charakterystyczne dla siebie miejsca wiązania w centrum katalitycznym, np. kwas acetylosalicylowy łączy się z seryną w pozycji 530, a ibuprofen z arginina w pozycji 120⁶⁸. Badania epidemiologiczne sugerują, że stosowanie aspiryny i niesterydowych leków przeciwzapalnych zmniejsza ryzyko raka żołądka, jelita grubego oraz płuca⁶⁹. Klasycznym przykładem jest zatwierdzony przez amerykańską FDA celekoksyb (Celebrex® – selektywny inhibitor COX-2) stosowany w profilaktyce raka jelita grubego u chorych z rodzinną polipowatością jelita grubego. Hamuje on powstawanie i rozwój polipów, a więc zmniejsza ryzyko powstania raka. Niestety ze względu na działania niepożądane (najczęściej ryzyko zawału serca i udaru mózgu) w wielu państwach został on wycofany z użycia. Nadal podejmowane są intensywne badania w celu opracowania nowych leków z tej grupy pozbawionych efektów ubocznych⁷⁰. Ostatnie badania pokazują, że inhibitory COX-2 nasilają efekt radioterapii⁷¹ i poprawiają skuteczność chemioterapii⁷².

⁶⁸ C. S. Williams, M. Mann, R. N. DuBois, *The role of cyclooxygenases...*, op. cit., s. 7908–7916.

⁶⁹ W. H. Wang, J. Q. Huang, G. F. Zheng, S. K. Lam, J. Karlberg, B. C. Wong, *Non-steroidal anti-inflammatory drug use and the risk of gastric cancer: a systematic review and meta-analysis*, „Journal of the National Cancer Institute” 2003, nr 95 (23), s. 1784–1791; M. A. Hull, *Cyclooxygenase-2: how good is it as a target for cancer chemoprevention?*, „European Journal of Cancer” 2005, nr 41 (13), s. 1854–1863.

⁷⁰ M. C. Cathcart, K. J. O’Byrne, J. V. Reynolds, J. O’Sullivan, G. P. Pidgeon, *COX-derived prostanoid pathways...*, op. cit., s. 49–63.

⁷¹ K. R. Grimes, G. W. Warren, F. Fang, Y. Xu, W. H. St. Clair, *Cyclooxygenase-2 inhibitor, nimesulide, improves radiation treatment against non-small cell lung cancer both in vitro and in vivo*, „Oncology Reports” 2006, nr 16 (4), s. 771–776.

⁷² N. J. Bundred, N. L. Barnes, *Potential use of COX-2-aromatase inhibitor combinations in breast cancer*, „British Journal of Cancer” 2005, nr 93, Suppl. 1:S10-15; E. Lasalvia-Prisco, P. Goldschmidt, F. Galmarini, S. Cucchi, J. Vazquez, M. Aghazarian, E. Lasalvia-Galante, W. Golomar, W. Gordon, *Addition of an induction regimen of antiangiogenesis and antitumor immunity to standard chemotherapy improves survival in advanced malignancies*, „Medical Oncology” 2012, nr 29 (5), s. 3626–3633.

WNIOSKI

Wzrost ekspresji COX-2 już w stanach przednowotworowych czyni ją kluczowym elementem w łańcuchu zmian prowadzących do powstania nowotworu. Poziom ekspresji COX-2 może być potencjalnym biomarkerem selekcyjnych chorych, dla których leczenie inhibitorami COX mogłoby skutecznie zostać wykorzystane w terapii przeciwnowotworowej.

ABSTRACT

Cyclooxygenase is an enzyme involved in many physiological and pathological processes. It catalyzes the formation of prostaglandins, prostacyclins and thromboxanes from arachidonic acid. It has been reported that cyclooxygenase-2 (COX-2) modulates the secretion of proinflammatory mediators and its expression is associated with the promotion of the process of tumorigenesis initiation, transformation, progression and cancer metastasis.

Increased expression of COX-2 in premalignant lesions makes it a key element in a chain of changes leading to cancer. So far, advances in the evaluation of COX-2 molecular mechanisms did not bring spectacular discoveries. Pathomechanisms of COX-2 activities are still not sufficiently understood and therefore, require further research.

Currently, COX-2 inhibitors are one of the most commonly used medications. Unfortunately, their long-term use causes many side effects. The first report about the use of plant substances with anti-inflammatory and analgesic activity (COX-2 inhibitors) was reported by Hippocrates in the 5th century BC.

The present review discusses the most important mechanisms by which a particular COX-2 isomer leads to the formation and development of cancer.

Aktualnie realizowane projekty związane z cyklooksigenazą 2

I

W Klinice Chirurgii Onkologicznej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie realizowany jest projekt „Polimorfizm COX-2 w procesie wznowy i tworzenia przerzutów raka jelita grubego”. Projekt jest finansowany ze środków przyznanych w ramach programu stypendialnego „Specjalizacja i Kompetencje – Program Rozwojowy Uniwersytetu Medycznego w Lublinie”.

Istnieją doniesienia, że polimorfizm w genie promotorze w pozycji 765 odpowiada za poziom ekspresji COX-2, gdzie G nukleotyd jest związany ze wzrostem ekspresji COX-2.

Celem projektu jest analiza zależności pomiędzy polimorfizmem 765 G<C w genie promotorowym COX-2 a możliwością powstania wznowy miejscowej lub przerzutów odległych po radykalnym chirurgicznym leczeniu chorych na raka jelita grubego. Chorzy rekrutowani do grupy badanej są operowani w tutejszej Klinice. Pacjenci zostali podzieleni na 2 grupy zależnie od czasu wystąpienia wznowy lub przerzutów odległych po leczeniu raka jelita grubego – do okresu 4 lat i ponad 5 lat po zabiegu operacyjnym. Materiałem do analizy jest genomowe DNA, gdzie określane jest polimorfizm w genie promotorze COX-2 w pozycji 765, a następnie oceniany jest jego związek z powstaniem wznowy lub przerzutu odległego u chorych po radykalnym chirurgicznym leczeniu raka jelita grubego.

II

W Katedrze i Zakładzie Anatomii Prawidłowej realizowany jest projekt „COX-2 zależna regulacja E-kadheryny w rakach żołądka”. Projekt uzyskał wsparcie Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego 4238/B/P01/2010/38.

W projekcie badamy zależności między COX-2 a E-kadheryną na poziomie genu i białka (poziom ekspresji, lokalizacja). Badamy rolę EMT czynników, a wśród nich SNAIL, ZEB1, TWIST w regulacji tych zależności. Przewidujemy, iż wzajemne relacje między COX-2 a E-kadheryną różnią się między rakiem żołądka występującym u młodych ludzi (ang. *early onset gastric cancer*) a nowotworem u osób w starszym wieku (ang. *conventional gastric cancer*) oraz w guzach pierwotnych raka żołądka i guzach przerzutowych raka żołądka. W grupie pacjentów młodych (<45 roku życia) bez historii raka żołądka w rodzinie uważa się, że najważniejszą rolę w powstaniu nowotworu odgrywa predyspozycja genetyczna, dlatego też patomechanizm zmian nowotworowych wydaje się odmienny niż w raku żołądka u osób starszych (>45 roku życia). Projekt jest unikatowy ze względu na materiał badawczy. Materiał zostanie podzielony na dwie grupy: pacjenci z rakiem żołądka w młodym wieku (<45 lat) oraz pacjenci z rakiem żołądka w starszym wieku (>45 lat). Zaletą projektu jest to, że badania będziemy prowadzili jednocześnie na nowotworowych liniach komórkowych oraz materiale tkankowym. Jest to projekt wieloaspektowy, w którym stosujemy nowoczesne techniki biologii molekularnej.

BIBLIOGRAFIA

1. Chandrasekharan N. V., Simmons D. L., *The cyclooxygenases*, „Genome Biology” 2004, nr 5 (9), s. 241.
2. Burdan F., Chalas A., Szumilo J., *Cyclooxygenase and prostanoids-biological implications*, „Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej” (Online) 2006, nr 60, s. 129–141.

3. Cathcart M. C., O'Byrne K. J., Reynolds J. V., O'Sullivan J., Pidgeon G. P., *COX-derived prostanoid pathways in gastrointestinal cancer development and progression: novel targets for prevention and intervention*, „Biochimica et Biophysica Acta” 2012, nr 1825 (1), s. 49–63.
4. Williams C. S., DuBois R. N., *Prostaglandin endoperoxide synthase: why two isoforms?*, „American Journal of Physiology” 1996, nr 270 (3 Pt 1), s. 393–400.
5. Kargman S., Charleson S., Cartwright M., Frank J., Riendeau D., Mancini J., Evans J., O'Neill G., *Characterization of Prostaglandin G/H Synthase 1 and 2 in rat, dog, monkey, and human gastrointestinal tracts*, „Gastroenterology” 1996, nr 111 (2), s. 445–454.
6. Chandrasekharan N. V., Dai H., Roos K. L., Evanson N. K., Tomsik J., Elton T. S., Simmons D. L., *COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression*, „Proceedings of the National Academy of Science of the USA” 2002, nr 99 (21), s. 13926–13931.
7. Schwab J. M., Schluesener H. J., Meyermann R., Serhan C. N., *COX-3 the enzyme and the concept: steps towards highly specialized pathways and precision therapeutics?*, „Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids” 2003, nr 69 (5), s. 339–343.
8. Sadurska B., Szumilo M., *Phospholipases A in mammalian cells: structure, properties, physiological and pathological role*, „Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej” 2005, nr 59, s. 116–123.
9. Crofford L. J., Wilder R. L., Ristimaki A. P., Sano H., Remmers E. F., Epps H. R., Hla T., *Cyclooxygenase-1 and -2 expression in rheumatoid synovial tissues. Effects of interleukin-1 beta, phorbol ester, and corticosteroids*, „Journal of Clinical Investigation” 1994, nr 93 (3), s. 1095–1101.
10. Williams C. S., Mann M., DuBois R. N., *The role of cyclooxygenases in inflammation, cancer, and development*, „Oncogene” 1999, nr 18 (55), s. 7908–7916.
11. Soslow R. A., Dannenberg A. J., Rush D., Woerner B. M., Khan K. N., Masferrer J., Koki A. T., *COX-2 is expressed in human pulmonary, colonic, and mammary tumors*, „Cancer” 2000, nr 89 (12), s. 2637–2645.
12. Appleby S. B., Ristimaki A., Neilson K., Narko K., Hla T., *Structure of the human cyclooxygenase-2 gene*, „Biochemical Journal” 1994, nr 302 (Pt 3), s. 723–727.
13. Ristimaki A., Garfinkel S., Wessendorf J., Maciag T., Hla T., *Induction of cyclooxygenase-2 by interleukin-1 alpha. Evidence for post-transcriptional regulation*, „The Journal of Biological Chemistry” 1994, nr 269 (16), s. 11769–11775.
14. Chan G., Boyle J. O., Yang E. K., Zhang F., Sacks P. G., Shah J. P., Edelstein D., Soslow R. A., Koki A. T., Woerner B. M., Masferrer J. L., Dannenberg A. J., *Cyclooxygenase-2 expression is up-regulated in squamous cell carcinoma of the head and neck*, „Cancer Research” 1999, nr 59 (5), nr 991–994.
15. van Rees B. P., Saukkonen K., Ristimaki A., Polkowski W., Tytgat G. N., Drillenburger P., Offerhaus G. J., *Cyclooxygenase-2 expression during carcinogenesis in the human stomach*, „Journal of Pathology” 2002, nr 196 (2), s. 171–179.
16. Souza R. F., Shewmake K., Beer D. G., Cryer B., Spechler S. J., *Selective inhibition of cyclooxygenase-2 suppresses growth and induces apoptosis in human esophageal adenocarcinoma cells*, „Cancer Research” 2000, nr 60 (20), s. 5767–5772.
17. Ristimaki A., Nieminen O., Saukkonen K., Hotakainen K., Nordling S., Haglund C., *Expression of cyclooxygenase-2 in human transitional cell carcinoma of the urinary bladder*, „American Journal of Pathology” 2001, nr 158 (3), s. 849–853.
18. Saukkonen K., Nieminen O., van Rees B., Vilkki S., Harkonen M., Juhola M., Mecklin J. P., Sipponen P., Ristimaki A., *Expression of cyclooxygenase-2 in dysplasia of the stomach and in intestinal-type gastric adenocarcinoma*, „Clinical Cancer Research” 2001, nr 7 (7), s. 1923–1931.

19. Simmons D. L., Botting R. M., Hla T., *Cyclooxygenase isozymes: the biology of prostaglandin synthesis and inhibition*, „Pharmacological Reviews” 2004, nr 56 (3), s. 387–437.
20. Snipes J. A., Kis B., Shelness G. S., Hewett J. A., Busija D. W., *Cloning and characterization of cyclooxygenase-1b (putative cyclooxygenase-3) in rat*, „Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics” 2005, nr 313 (2), s. 668–676.
21. Leahy K. M., Koki A. T., Masferrer J. L., *Role of cyclooxygenases in angiogenesis*, „Current Medical Chemistry” 2000, nr 7 (11), s. 1163–1170.
22. Krysan K., Dalwadi H., Sharma S., Pold M., Dubinett S., *Cyclooxygenase 2-dependent expression of survivin is critical for apoptosis resistance in non-small cell lung cancer*, „Cancer Research” 2004, nr 64 (18), s. 6359–6362.
23. Baeriswyl V., Christofori G., *The angiogenic switch in carcinogenesis*, „Seminars in Cancer Biology” 2009, nr 19 (5), s. 329–337.
24. Richardson M. R., Yoder M. C., *Endothelial progenitor cells: quo vadis?*, „Journal of Molecular and Cellular Cardiology” 2011, nr 50 (2), s. 266–272.
25. Dome B., Hendrix M. J., Paku S., Tovari J., Timar J., *Alternative vascularization mechanisms in cancer: Pathology and therapeutic implications*, „American Journal of Pathology” 2007, nr 170 (1), s. 1–15.
26. Chung A. S., Lee J., Ferrara N., *Targeting the tumour vasculature: insights from physiological angiogenesis*, „Nature Reviews Cancer”, nr 10 (7), s. 505–514.
27. Raza A., Franklin M. J., Dudek A. Z., *Pericytes and vessel maturation during tumor angiogenesis and metastasis*, „American Journal of Hematology” 2010, nr 85 (8), s. 593–598.
28. Lee J. W., Bae S. H., Jeong J. W., Kim S. H., Kim K. W., *Hypoxia-inducible factor (HIF-1) alpha: its protein stability and biological functions*, „Expererimental and Molecular Medicine” 2004, nr 36 (1), s. 1–12.
29. Gordan J. D., Simon M. C., *Hypoxia-inducible factors: central regulators of the tumor phenotype*, „Current Opinion in Genetics & Development” 2007, nr 17 (1), s. 71–77.
30. Masferrer J. L., Leahy K. M., Koki A. T., Zweifel B. S., Settle S. L., Woerner B. M., Edwards D. A., Flickinger A. G., Moore R. J., Seibert K., *Antiangiogenic and antitumor activities of cyclooxygenase-2 inhibitors*, „Cancer Research” 2000, nr 60 (5), s. 1306–1311.
31. Toomey D. P., Murphy J. F., Conlon K. C., *COX-2, VEGF and tumour angiogenesis*, „Surgeon” 2009, nr 7 (3), s. 174–180.
32. Schwab J. M., Schluesener H. J., Laufer S., *COX-3: just another COX or the solitary elusive target of paracetamol?*, „Lancet” 2003, nr 361 (9362), s. 981–982.
33. Salvado M. D., Alfranca A., Haeggstrom J. Z., Redondo J. M., *Prostanoids in tumor angiogenesis: therapeutic intervention beyond COX-2*, „Trends in Molecular Medicine”, nr 18 (4), s. 233–243
34. Liu M., Yang S. C., Sharma S., Luo J., Cui X., Peebles K. A., Huang M., Sato M., Ramirez R. D., Shay J. W., Minna J. D., Dubinett S. M., *EGFR signaling is required for TGF-beta 1 mediated COX-2 induction in human bronchial epithelial cells*, „American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology” 2007, nr 37 (5), s. 578–588.
35. Tsujii M., Kawano S., Tsuji S., Sawaoka H., Hori M., DuBois R. N., *Cyclooxygenase regulates angiogenesis induced by colon cancer cells*, Cell 1998, nr 93(5), s. 705–716.
36. Paez-Ribes M., Allen E., Hudock J., Takeda T., Okuyama H., Vinals F., Inoue M., Bergers G., Hanahan D., Casanovas O., *Antiangiogenic therapy elicits malignant progression of tumors to increased local invasion and distant metastasis*, Cancer Cell 2009, nr 15 (3), s. 220-231.

37. Ebos J. M., Kerbel R. S., *Antiangiogenic therapy: impact on invasion, disease progression, and metastasis*, „Nature Reviews Clinical Oncology” 2011, 8 (4), s. 210–221.
38. Widel M. S., Widel M., *Mechanisms of metastasis and molecular markers of malignant tumor progression. I. Colorectal cancer*, „Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej” 2006, nr 60, s. 453–470.
39. Nagase H., Woessner J. F. Jr, *Matrix metalloproteinases*, „The Journal of Biological Chemistry” 1999, nr 274 (31), s. 21491–21494.
40. Somiari S. B., Shriver C. D., Heckman C., Olsen C., Hu H., Jordan R., Arciero C., Russell S., Garguilo G., Hooke J., Somiari R. I., *Plasma concentration and activity of matrix metalloproteinase 2 and 9 in patients with breast disease, breast cancer and at risk of developing breast cancer*, „Cancer Letters” 2006, nr 233 (1), s. 98–107.
41. Bartolazzi A., Peach R., Aruffo A., Stamenkovic I., *Interaction between CD44 and hyaluronate is directly implicated in the regulation of tumor development*, „Journal of Experimental Medicine” 1994, nr 180 (1), s. 53–66.
42. Misra S., Obeid L. M., Hannun Y. A., Minamisawa S., Berger F. G., Markwald R. R., Toole B. P., Ghatak S., *Hyaluronan constitutively regulates activation of COX-2-mediated cell survival activity in intestinal epithelial and colon carcinoma cells*, „The Journal of Biological Chemistry” 2008; nr 283 (21), s. 14335–14344.
43. Misra S., Hascall V. C., Berger F. G., Markwald R. R., Ghatak S., *Hyaluronan, CD44, and cyclooxygenase-2 in colon cancer*, „Connective Tissue Research” 2008, nr 49 (3), s. 219–224.
44. Sitarz R., Leguit R. J., de Leng W. W., Morsink F. H., Polkowski W. P., Maciejewski R., Offerhaus G. J., Milne A. N., *Cyclooxygenase-2 mediated regulation of E-cadherin occurs in conventional but not early-onset gastric cancer cell lines*, „Cellular Oncology” 2009, nr 31 (6), s. 475–485.
45. Dohadwala M., Yang S. C., Luo J., Sharma S., Batra R. K., Huang M., Lin Y., Goodglick L., Krysan K., Fishbein M. C., Hong L., Lai C., Cameron R. B., Gemmill R. M., Drabkin H. A., Dubinett S.M., *Cyclooxygenase-2-dependent regulation of E-cadherin: prostaglandin E(2) induces transcriptional repressors ZEB1 and snail in non-small cell lung cancer*, „Cancer Research” 2006, nr 66 (10), s. 5338–5345.
46. Huang M., Stolina M., Sharma S., Mao J. T., Zhu L., Miller P. W., Wollman J., Herschman H., Dubinett S. M., *Non-small cell lung cancer cyclooxygenase-2-dependent regulation of cytokine balance in lymphocytes and macrophages: up-regulation of interleukin 10 and down-regulation of interleukin 12 production*, „Cancer Research” 1998, nr 58 (6), s. 1208–1216.
47. Colombo M. P., Vagliani M., Spreafico F., Parenza M., Chiodoni C., Melani C., Stoppacciaro A., *Amount of interleukin 12 available at the tumor site is critical for tumor regression*, „Cancer Research” 1996, s. 56 (11), s. 2531–2534.
48. Ristimaki A., Honkanen N., Jankala H., Sipponen P., Harkonen M., *Expression of cyclooxygenase-2 in human gastric carcinoma*, „Cancer Research” 1997, nr 57 (7), s. 1276–1280.
49. Wong S.C., Fukuchi M., Melnyk P., Rodger I., Giaid A., *Induction of cyclooxygenase-2 and activation of nuclear factor-kappaB in myocardium of patients with congestive heart failure*, *Circulation* 1998, nr 98 (2), s. 100–103.
50. Milne A. N., Carvalho R., Morsink F. M., Musler A. R., de Leng W. W., Ristimaki A., Offerhaus G. J., *Early-onset gastric cancers have a different molecular expression profile than conventional gastric cancers*, „Modern Pathology” 2006, nr 19 (4), s. 564–572.

51. Sitarz R., Leguit R. J., de Leng W. W., Polak M., Morsink F. M., Bakker O., Maciejewski R., Offerhaus G. J., Milne A. N., *The COX-2 promoter polymorphism -765 G>C is associated with early-onset, conventional and stump gastric cancers*, „Modern Pathology” 2008, nr 21 (6), s. 685–690.
52. Tucker O. N., Dannenberg A. J., Yang E. K., Zhang F., Teng L., Daly J. M., Soslow R. A., Masferrer J. L., Woerner B. M., Koki A. T., Fahey T. J. 3rd, *Cyclooxygenase-2 expression is up-regulated in human pancreatic cancer*, „Cancer Research” 1999, nr 59 (5), s. 987–990.
53. Catella-Lawson F., Reilly M. P., Kapoor S. C., Cucchiara A. J., DeMarco S., Tournier B., Vyas S. N., Fitzgerald G. A., *Cyclooxygenase inhibitors and the antiplatelet effects of aspirin*, „New England Journal of Medicine” 2001, nr 345 (25), s. 1809–1817.
54. Cheng H. F., Harris R. C., *Renal effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs and selective cyclooxygenase-2 inhibitors*, „Current Pharmaceutical Design” 2005, nr 11 (14), s. 1795–1804.
55. Espey L. L., *Current status of the hypothesis that mammalian ovulation is comparable to an inflammatory reaction*, „Biology of Reproduction” 1994, nr 50 (2), s. 233–238.
56. Salhab A. S., Gharaibeh M. N., Shomaf M. S., Amro B. I., *Meloxicam inhibits rabbit ovulation*, „Contraception” 2001, nr 63 (6), s. 329–333.
57. Yamagata K., Andreasson K. I., Kaufmann W. E., Barnes C. A., Worley P. F., *Expression of a mitogen-inducible cyclooxygenase in brain neurons: regulation by synaptic activity and glucocorticoids*, „Neuron” 1993, nr 11 (2), s. 371–386.
58. Young J. L., Jazaeri A. A., Darus C. J., Modesitt S. C., *Cyclooxygenase-2 in cervical neoplasia: a review*, „Gynecologic Oncology” 2008, nr 109 (1), s. 140–145.
59. Zha S., Yegnasubramanian V., Nelson W. G., Isaacs W. B., De Marzo A. M., *Cyclooxygenases in cancer: progress and perspective*, „Cancer Letters” 2004, nr 215 (1), s. 1–20.
60. Noordhuis M. G., Eijsink J. J., Roossink F., de Graeff P., Pras E., Schuurings E., Wisman G. B., de Bock G. H., van der Zee A. G., *Prognostic cell biological markers in cervical cancer patients primarily treated with (chemo)radiation: a systematic review*, „International Journal of Radiation Oncology*Biophysics” 2011, nr 79 (2), s. 325–334.
61. Mascaux C., Martin B., Verdebout J. M., Ninane V., Sculier J. P., *COX-2 expression during early lung squamous cell carcinoma oncogenesis*, „European Respiratory Journal” 2005, nr 26 (2), s. 198–203.
62. Hida T., Yatabe Y., Achiwa H., Muramatsu H., Kozaki K., Nakamura S., Ogawa M., Mitsudomi T., Sugiura T., Takahashi T., *Increased expression of cyclooxygenase 2 occurs frequently in human lung cancers, specifically in adenocarcinomas*, „Cancer Research” 1998, nr 58 (17), s. 3761–3764.
63. Yuan A., Yu C. J., Shun C. T., Luh K. T., Kuo S. H., Lee Y. C., Yang P. C., *Total cyclooxygenase-2 mRNA levels correlate with vascular endothelial growth factor mRNA levels, tumor angiogenesis and prognosis in non-small cell lung cancer patients*, „International Journal of Cancer” 2005, nr 115 (4), s. 545–555.
64. Jones R., Rubin G., Berenbaum F., Scheiman J., *Gastrointestinal and cardiovascular risks of nonsteroidal anti-inflammatory drugs*, „American Journal of Medicine” 2008, nr 121 (6), s. 464–474.
65. Wang W. H., Huang J. Q., Zheng G. F., Lam S. K., Karlberg J., Wong B. C., *Non-steroidal anti-inflammatory drug use and the risk of gastric cancer: a systematic review and meta-analysis*, „Journal of the National Cancer Institute” 2003, nr 95 (23), s. 1784–1791.
66. Hull M. A., *Cyclooxygenase-2: how good is it as a target for cancer chemoprevention?*, „European Journal of Cancer” 2005, nr 41 (13), s. 1854–1863.

67. Grimes K. R., Warren G. W., Fang F., Xu Y., St. Clair W. H., *Cyclooxygenase-2 inhibitor, nimesulide, improves radiation treatment against non-small cell lung cancer both in vitro and in vivo*, „Oncology Reports” 2006, nr 16 (4), s. 771–776.
68. Bundred N. J., Barnes N. L., *Potential use of COX-2-aromatase inhibitor combinations in breast cancer*, „British Journal of Cancer” 2005, nr 93, Suppl. 1: s. 10–15.
69. Lasalvia-Prisco E., Goldschmidt P., Galmarini F., Cucchi S., Vazquez J., Aghazarian M., Lasalvia-Galante E., Golomar W., Gordon W., *Addition of an induction regimen of antiangiogenesis and antitumor immunity to standard chemotherapy improves survival in advanced malignancies*, „Medical Oncology” 2012, nr 29 (5), s. 3626–3633.