

Siklooksijenaz-2 (COX-2) G-765C Gen Polimorfizminin Böbrek Hücreli Karsinom ile İlişkisi

Canan KÜÇÜKGERGİN¹, İlknur BİNGÜL¹, Selçuk ERDEM²,
Öner ŞANLI², Şule SEÇKİN¹

Öz

Amaç: Böbrek hücreli karsinom (BHK) dünya genelinde kansere bağlı ölümlerin %3'ünü oluşturan önemli bir hastalıktır. Genetik ve çevresel faktörlerin BHK oluşumu ve gelişimi üzerinde etkili olduğu ileri sürülmekle birlikte risk faktörleri yeterince bilinmemektedir. Siklooksijenaz-2 (COX-2) prostoglandinlerin sentezinde rol alan bir enzimdir. Normal dokuda genellikle bulunmazken, yapılan çalışmalarda COX-2 düzeylerinin çeşitli kanser türlerinde arttığı ileri sürülmektedir. Çalışmamızda, Türk toplumunda COX-2 geninin promotör bölgesindeki -765 G/C polimorfizmi ile BHK'nin oluşumu ve gelişimi arasındaki ilişkiyi incelemeyi planladık.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamıza 2015-2017 yılları arasında klinik ve histopatolojik olarak BHK tanısı konan 88 hasta ile kontrol grubu olarak sistemik hastalığı bulunmayan 157 sağlıklı kişi dahil edildi. Hasta ve sağlıklı kişilerden elde edilen DNA örneklerinde polimeraz zincir reaksiyonu- restriksiyon fragman uzunluk polimorfizmi tekniği (PZR-RFUP) ile COX-2 G-765C gen polimorfizmi incelendi. Elde edilen sonuçlar Mann-Whitney U, Pearson ki-kare testleri ve lojistik regresyon analizi yapılarak istatistiksel olarak değerlendirildi.

Bulgular: Türk toplumunda, COX-2 G-765C gen polimorfizminde GG genotip dağılımı ve G allel sıklığı daha yüksek bulundu. COX-2 G-765C gen polimorfizminde genotip dağılımı ve allel sıklığı bakımından BHK'li hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı. Buna ek olarak, hastalığın derece ve evreleri açısından incelendiğinde COX-2 G-765C gen polimorfizminde genotip dağılımı ve allel sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı.

Sonuç: Türk toplumunda COX2 G-765C gen polimorfizminin BHK oluşumu ve gelişimi için bir risk faktörü olmadığı ileri sürülebilir.

Anahtar Kelimeler: Böbrek hücreli karsinom, COX2, Türk toplumu, Polimorfizm

¹İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD, İstanbul, Türkiye.

²İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Üroloji AD, İstanbul, Türkiye.

Yazışma Adresi: Dr. Canan KÜÇÜKGERGİN, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Temel Bilimler Binası, Tıbbi Biyokimya AD. 34093 Çapa-Fatih/İstanbul, Türkiye. Tel: 0530 965 08 11 e-posta: ckgergin@istanbul.edu.tr
Geliş Tarihi: 5 Temmuz 2018; Kabul Tarihi: 21 Ağustos 2018

The Evaluation of Cyclooxygenase-2 Gene Polymorphism in Renal Cell Carcinoma

Abstract

Objective: Renal cell carcinoma (RCC) accounts for nearly 3% of all cancer-related mortalities worldwide, however the risk factors for the initiation and development of RCC have not been fully elucidated yet. Cyclooxygenase-2 (COX-2) is an inducible enzyme for the synthesis of prostoglandins. Typically, COX2 is often undetectable in normal tissue whereas overexpression of COX2 has been observed in a variety of human cancers. The aim of the present study is to investigate the possible association between COX2 G-765C gene polymorphism and RCC risk in Turkish population.

Materials and Methods: 88 patients diagnosed with clinically and histopatologically confirmed RCC and 157 healthy subjects were enrolled in the present study between the years of 2015-2017. The DNA samples obtained from these patients and controls were analyzed for COX2 G-765C gene polymorphism using polymerase chain reaction-restriction fragment length techniques (PCR-RFLP). Mann-Whitney U test, Pearson Chi-square test and logistic regression test were used for statistical analysis of the results.

Results: In Turkish population, GG genotype distribution and G allele frequency were higher in COX-2 G-765C gene polymorphism. There was no significant difference in the genotype distribution and allele frequency of COX2 G-765C gene polymorphism between patients with RCC and controls. In addition, the genotype distribution and allele frequency was also studied according to tumor grade and clinical stage, and no association were found.

Conclusion: Our results suggest that COX2 G-765C gene polymorphism may not influence the initiation and development of RCC in Turkish population.

Keywords: Renal Cell Carcinoma, COX2, Turkish population, Polymorphism

Giriş

Böbrek hücreli karsinom (BHK), erişkin kanserlerinin yaklaşık %2-3'ünü oluşturmakta, genitoüriner tümörler içerisinde ise 3. sıklıkta yer almaktadır (1). BHK'nin insidansı, gelişmiş ülkelerde yüksek seyretmekte ve her 100.000 kişiden 4'ü hastalıktan etkilenmektedir (1,2).

Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda hipertansiyon, obezite, sigara kullanımı ve çeşitli kimyasallara maruz kalma gibi faktörlerin BHK oluşumunda rolü olabileceği belirtilmektedir (24). Ancak bu faktörler ile karşılaşmamış bireylerde de hastalığın gelişmesi, BHK'nin etyolojisinde genetik faktörlerin de etkili olabileceğini düşündürmektedir (2-4).

Siklooksijenazlar (COX) araşidonik asitten prostanoid, prostaglandin ve tromboksan sentezini sağlayan enzim sınıfıdır (5). Oluşan bu aktif ürünler inflamasyon, immün fonksiyon, hücre çoğalması, anjiogenez ve apoptoz gibi pek çok biyolojik sürecin önemli düzenleyicileridir (5-7). Siklooksijenazların COX-1 ve COX-2 olarak

bilinen iki izoformu bulunmaktadır. COX-1 birçok hücre tipinde sentez edilir ve çeşitli fizyolojik fonksiyonların homeostazından sorumludur. COX-2 ise hücrelerde sınırlı düzeylerde bulunan, proinflamatuvar ve mitojenik uyarımlarla sentezi indüklenen bir formdur (5-7). Yapılan deneysel ve klinik çalışmalarda COX-2 enziminin aktivitesinin oral (5), akciğer (6), prostat (7), kolorektal (8), mesane (9), over (10) ve BHK (11- 13) gibi kanser türlerinde arttığı ileri sürülmektedir. COX-2 enziminin aktivitesinin artışının, apoptozun baskılanmasına, hücre çoğalmasında artışa, immün cevabın kronik olarak aktivasyonuna ve anjiogenez yol açarak kanser gelişimine katkı sağladığı bildirilmektedir (5,11).

Kanser gelişimi hücre yolaklar ve ilgili genlerde meydana gelen komplike değişiklikler ile ilişkili çok basamaklı bir süreçtir. İnsan COX-2 geninin 1. kromozomunun uzun kolunda (1q25.2q25.3) bulunduğu, yaklaşık 8 kb uzunluğunda ve 10 ekzondan oluştuğu bilinmektedir (5,6). COX2 geni promoter bölgesindeki -765 G/C polimorfizminin

gen ekspresyonu düzeyinde değişiklik oluşturarak bireylerde BHK gelişimine sebep olabileceği belirtilmektedir (11). COX-2 G-765C gen polimorfizminin genellikle kanser riskini arttırdığı ileri sürülmekle birlikte, farklı etnik gruplarda yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlar bulunmaktadır (13-15).

Bu bilgiler ışığında, çalışmamızda, Türk toplumunda COX-2 G-765C gen polimorfizmi ve BHK oluşumu ve gelişimi arasındaki ilişkiyi incelemeyi planladık.

Gereç ve Yöntem

Çalışma grupları

2015-2017 yılları arasında İ. Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı'na başvurarak parsiyel/ radikal nefrektomi ameliyatı olan ve sonrasında BHK tanısı konan 88 kişi çalışma grubuna dahil edildi. Ayrıca aynı bölüme çeşitli ürolojik şikâyetler ile başvuran, herhangi bir sistemik hastalığı veya malignitesi bulunmayan 157 kişi kontrol grubu olarak belirlendi. Hastaların WHO/ISUP grade ve klinik T evreleri belirlendi. Grade 1-2 olanlar düşük dereceli tümör ve grade 3-4 olanlar yüksek dereceli tümör olarak T evresi T1 ve T2 olanlar düşük evre, T3 ve T4 olanlar ise ileri evre olarak kaydedildi. Çalışmamızda, BHK düşük dereceli (Grade 1-2) ve yüksek dereceli hastalar (Grade 3-4) sırasıyla 55 (%62.5) ve 33 (%37.5) olarak; düşük T evresi (T1 ve T2) ve yüksek T evresi (T3 ve T4, Mo veya M1) ise sırasıyla 52 (%59.1) ve 36 (%40.9) olarak

bulunmaktadır. Çalışmamız, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır.

DNA izolasyonu

Kontrol ve hastaların periferik kan örnekleri EDTA içeren tüplere alındı. High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche, Mannheim, Germany) kullanılarak örneklerden total genomik DNA izolasyonu yapıldı. Elde edilen DNA örnekleri çalışmalar yapılmaya kadar -20 °C'de muhafaza edildi.

COX-2 G765C Gen polimorfizminin analizi

COX-2 G-765C gen polimorfizmi polimeraz zincir reaksiyonu-restriksiyon fragman uzunluk polimorfizmi (PZR-RFUP) tekniği ile incelendi. Elde edilen DNA örnekleri COX-2 G-765C (rs20417) bölgesine özgün primer dizileri kullanılarak çoğaltıldı (Tablo 1). PZR karışımımız 100 ng DNA, 10 X PCR tamponu (pH=8.8), her bir primerden 5.0 pmol, 1.5mM MgCl₂, her bir dNTP'den 200 mM ve 1.0U Taq DNA polimeraz (MBI Fermentas) içermektedir. PZR koşulları 95 °C'de 45 sn denatürasyon, 55 °C'de 45 sn bağlanma, 72 °C'de 45 sn uzama olacak şekilde 35 döngü olarak gerçekleştirildi. PZR ürünleri *AciI* restriksiyon enzimi ile 37 °C'de 2 saat inkübe edilerek kesildi. 10µL kesim ürünü etidyum bromid içeren %3'lük agaroz jele uygulandı ve elektroforez işlemi ile ayrılan bantlar UV ışık altında incelendi.

Tablo 1: PZR ve RFUP prosedürleri ile COX-2 G-765C gen ürünleri

	Primer Dizileri	PCR Ürünü	Restriksiyon Enzimi	Restriksiyon Ürünü
COX-2 G-765C (rs20417)	F: 5'-AGG CAG GAA ACT TTA TAT TGG- 3'	309 bp	<i>AciI</i>	CC: 309 bp
	R: 5'-ATG TTT TAG TGA			GG: 209 bp, 100 bp
	CGA CGC TTA- 3'			GC: 309 bp, 209 bp, 100 bp

İstatistiksel analizler

İstatistiksel analizler SPSS 21 paket programı kullanılarak gerçekleştirildi. Klinik parametrelerin karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı. Kontrol ve hasta grupları arasındaki genotip dağılımları ve allel sıklığı, ki kare testi kullanılarak incelendi. Gruplar arası anlamlılığın belirlenmesi için lojistik regresyon analizi yapılarak OR ve %95 CI (yaş, cinsiyet, VKİ ve sigaraya göre ayarlandı) değerleri verildi.

toplumunda, COX-2 G-765C gen polimorfizminde GG genotip dağılımı ve G allel sıklığı daha yüksek bulundu. Kontrol grubunda GG genotipi %58.6, GC %38.2 ve CC %3.2; hasta grubunda ise genotip dağılımı sırasıyla %63.6, %34.1 ve %2.3 olarak saptandı. Bulgularımıza göre, COX-2 G-765C gen polimorfizminde genotip dağılımı ve allel sıklığı bakımından BHK'li hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı (Tablo 3).

Tablo 2: Kontrol ve böbrek hücreli karsinomlu hasta gruplarının klinik özellikleri (ort±SD)

	Kontrol (n=157)	Hasta (n=88)	p
Yaş (yıl)	57.31±7.62	54.98±10.40	0.064
Cinsiyet (%) (kadın/erkek)	15.3/84.7	19.3/80.7	0.417
VKİ (kg/m ²)	27.24±2.72	27.61±6.63	0.115
Sigara Kullanımı (%) (kullanan/kullanmayan)	28.2/71.8	32.0/68.0	0.540
Tümör Derece (düşük/yüksek)		55/33	
Düşük Dereceli (Grade 1-Grade2)		55 (%62.5)	
Yüksek Dereceli (Grade3-Grade4)		33 (%37.5)	
Evre		52/36	
Düşük Evre (T1-T2)		52 (% 59.1)	
İleri Evre (T3-T4)		36 (%40.9)	

Sonuçlar

Kontrol ve hasta gruplarının klinik değerleri

Kontrol grubu ile BHK'li hasta grubu arasında yaş, cinsiyet, VKİ ve sigara kullanımı açısından anlamlı bir farklılık saptanmadı (Tablo 2).

COX-2 genotip dağılımı ve BHK arasındaki ilişki

Çalışmamız, kontrol ve hasta grubunda, COX-2 G-765C polimorfizmi açısından Hardy-Weinberg denkleminde uygunluk gösterdi (p=0.439). Türk

Düşük ve yüksek dereceli tümör açısından incelendiğinde, COX-2 G-765C gen polimorfizminde genotip dağılımı ve allel sıklıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (Tablo 4). COX-2 G-765C gen polimorfizminde genotip dağılımı ile tümörün düşük ve yüksek klinik T evresi açısından incelendiğinde, genotip ve allel sıklıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (Tablo 4).

Tablo 3: Kontrol ve böbrek hücreli karsinomlu hasta gruplarında COX-2 G-765C gen polimorfizminin genotip dağılımı ve allel sıklığı.

	Kontrol n (%)	Hasta n (%)	OR(95% CI)	p
COX-2 G-765C				
GG	92 (58.6)	56 (63.6)	Referans	
GC	60 (38.2)	30 (34.1)	0.61 (0.29-1.26)	0.185
CC	5 (3.2)	2 (2.3)	0.65 (0.12-3.50)	0.483
GC+CC	65 (41.4)	32 (36.4)	0.80 (0.47-1.38)	0.439
Allel				
G	244 (77.7)	142 (80.7)	Referans	
C	70 (22.3)	34 (19.3)	0.83 (0.32-1.32)	0.439

OR (Odds oranı) ve CI (95% güven aralığı) yaş, cinsiyet, VKİ ve sigara kullanımına göre ayarlandı.

Tablo 4: Böbrek hücreli karsinomlu hasta grubunda COX-2 G-765C gen polimorfizmi ile tümör derece ve evresi arasındaki ilişki.

	Düşük Dereceli n (%)	Yüksek Dereceli n (%)	OR (95% CI)	p
COX-2 G-765C				
GG	35 (63.6)	21 (63.7)	Referans	
GC	19 (34.5)	11 (33.3)	1.08 (0.28-4.18)	0.909
CC	1 (1.9)	1 (3.0)	1.66 (0.09-28.0)	0.720
GC+CC	20 (36.3)	12 (36.3)	1.00 (0.40-2.45)	1.000
Allel				
G	89 (80.9)	53 (80.3)	Referans	
C	21 (19.1)	13 (19.7)	1.04 (0.48-2.24)	0.921
	Düşük Evre n (%)	Yüksek Evre n (%)		
GG	29 (55.8)	27 (75.0)	Referans	
GC	22 (42.3)	8 (22.2)	0.34 (0.07-1.57)	0.328
CC	1 (1.9)	1 (2.8)	1.07 (0.064-8.0)	0.960
GC+CC	23 (44.2)	9 (25.0)	0.42 (0.16-1.06)	0.065
Allel				
G	80 (76.9)	62 (86.1)	Referans	
C	24 (23.1)	10 (13.9)	0.53 (0.23-1.20)	0.129

Düşük dereceli tümör: 1-2; Yüksek dereceli tümör; 3-4; OR: Odds oranı; CI: %95 güven aralığı;
Düşük evre: T1-T2; Yüksek evre: T3-T4.

Tartışma

Son yıllarda COX-2'nin karsinogenezde önemli bir rol oynadığı belirtilmektedir. COX-2 ekspresyonunun hücreler arası adezyonu ve apoptozu azalttığı, anjiyogenez ve hücre proliferasyonunu arttırdığı ileri sürülmektedir (16-20).

Proinflamatuvar medyatörler, büyüme faktörleri ve sitokinler tarafından aktivitesi indüklenebilen COX-2, araşidonik asitten prostaglandin H2 (PGH2) oluşumunu katalizleyen hız sınırlayıcı bir enzimdir. PGH2, tromboksan, PGE2 ve PGI2 gibi proinflamatuvar moleküllerin prekürsörü olarak bilinmektedir. Buna bağlı olarak, COX-2 aktivitesinin hücrede fazla miktarda olması, proinflamatuvar medyatörlerin artışına neden olarak immün cevabı düzenlediği ve değişik mekanizmalarla tümörün gelişimine aracılık ettiği ileri sürülmektedir (20-22).

(Güçer ve ark. 2009) çalışmasında, BHK'li kişilerde COX-2 ekspresyonu ile klinikopatolojik parametreler arasında bir ilişki bulunamamıştır. (Yoshimura ve ark. 2004) bu çalışma da, COX-2 ekspresyonu ve tümör derece ve evresi arasında bir korelasyon olmadığını öne sürmektedirler. (Cho ve ark. 2005) ise, BHK oluşumunda COX-2 ekspresyonunun sadece tümör büyüklüğü ile ilişkili olduğunu, ancak gelişimi için etkili bir faktör olamayacağını belirtmektedirler.

COX-2 geninin promoter ve intronik bölgelerinde çeşitli polimorfizmleri saptanmış olup, bunlar deneysel ve/veya epidemiyolojik çalışmalarda böbrek dahil farklı kanser tipleriyle ilişkilendirilmiştir (7-14). COX-2G-765C gen polimorfizmi, COX-2 geninin promoter bölgesinde -765 pozisyonunda guaninin sitozine değişmesi sonucu meydana gelmiş olan fonksiyonel bir tek nükleotid polimorfizmidir. Bu polimorfizm, genin transkripsiyonel aktivitesini etkileyerek, ekspresyonunun değişmesine yol açmaktadır. Yapılan çalışmalarda, bu genin transkripsiyonunun stimülatuvar protein 1 (Sp1)'in COX-2 geninin -766 ile -761. pozisyonları arasındaki guaninden zengin promoter bölgeye bağlanmasıyla olduğu belirtilmektedir. COX-2 geninde -765. pozisyonundaki guanin yerine sitozin gelmesiyle Sp1'in buraya bağlanmadığı ve onun yerine repressör özellikte stimülatuvar protein 3 (Sp3)'ün

bağlanarak Sp1-aracılı transkripsiyonun bozulduğu ileri sürülmektedir (26-28).

COX-2 G-765C polimorfizminin çeşitli kanser türleri ile ilişkisi birçok epidemiyolojik çalışmada incelenmiş, ancak çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. COX-2 G-765C gen polimorfizminin sırasıyla oral, akciğer, prostat, kolorektal ve mesane gibi çeşitli kanser türleri için risk faktörü olduğu (5-9), ancak mide (16), kolorektal adenom (29) ve karaciğer kanseri (15,30) için bir risk faktörü olarak rol oynamadığı ileri sürülmektedir.

Bilebildiğimiz kadarıyla, literatürde BHK'li hastalarda COX-2 G-765C polimorfizmini inceleyen yalnızca bir çalışma mevcuttur. (Chang ve ark. 2014) Tayvan'da yapılan bu çalışma, 92 BHK'li hasta ve 580 sağlıklı gönüllü içermektedir. BHK'li hasta grubunda GC genotipine sahip bireylerin GG genotipi taşıyanlara kıyasla BHK oluşumu için 0.34 kat oranında daha düşük risk taşıdığı belirtilmektedir (p= 0.0082).

Bizim çalışmamızda ise, BHK'li hasta grubunda CC genotipi taşıyanların GG genotipi taşıyanlara göre 0.65 kat daha düşük risk içerdiği, ancak bu riskin anlamlı olmadığı bulundu (p=0.483). Buna ilaveten, GC+CC genotipinin ileri evre oluşumu açısından da incelendiğinde BHK gelişimi için düşük risk taşıdığı, ama bu riskin anlamlı olmadığı saptandı (p=0.065). Çalışmamızda hasta sayısının nispeten düşük olması kısıtlayıcı bir faktör olarak düşünülebilir. Bu nedenle daha yüksek örneklem sayısı ile çalışmalar yapılarak sonuçlarımızın istatistiksel gücü artırılabilir.

COX-2G-765C gen polimorfizmi ile çeşitli kanser türleri arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda çelişkili sonuçların elde edilmesi etnik köken, kontrol grubunun kriterleri ve örneklem büyüklüğündeki farklılıklar ile açıklanabilir.

Bulgularımıza göre Türk toplumunda COX-2 G-765C gen polimorfizminin BHK oluşumu ve gelişimi için bir risk faktörü olmadığı ileri sürülebilir.

Teşekkür

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No:26154.

Çıkar çatışması

Yazarlar bir çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedir.

KAYNAKLAR

- 1.Ridge CA, Pua BB, Madoff DC. Epidemiology and staging of renal cell carcinoma. *Semin Intervent Radiol* 2014; 31: 3-8.
- 2.Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2015. *CA Cancer J Clin* 2015; 65: 5-29.
- 3.Linehan WM, Srinivasan R, Schmidt LS. The genetic basis of kidney cancer: a metabolic disease. *Nat Rev Urol* 2010; 7: 277-285.
- 4.Yao T, Wang Q, Zhang W, Bian A, Zhang J. Identification of gene associated with renal cell carcinoma using gene expression profiling analysis *Oncol Lett.* 2016; 12: 73-78.
- 5.Li D, Hao SH, Sun Y, Hu CM, Ma ZH, Wang ZM, Liu J, Liu HB, Ye M, Zhang YF, Yang DS, Shi G. Functional Polymorphisms in COX-2 Gene Are Correlated with the Risk of Oral Cancer. *Biomed Res Int* 2015; 2015: 580652.
- 6.Coskunpinar E, Eraltan IY, Turna A, Agachan B. Cyclooxygenase-2 gene and lung carcinoma risk. *Med Oncol* 2011; 28: 1436-1440.
- 7.Mandal RK, Mittal RD. Polymorphisms in COX-2 gene influence prostate cancer susceptibility in a northern Indian cohort. *Arch Med Res* 2011; 2: 620-626.
- 8.Cossiolo DC, Costa HCM, Fernandes KBP, Laranjeira LLS, Fernandes MTP, Poli-Frederico RC. Polymorphism of the cox-2 gene and susceptibility to colon and rectal cancer. *Arq Bras Cir Dig* 2017; 30: 114-117.
- 9.Chang WS, Tsai CW, Ji HX, Wu HC, Chang YT, Lien CS, Liao WL, Shen WC, Tsai CH, BauDT. Associations of cyclooxygenase 2 polymorphic genotypes with bladder cancer risk in Taiwan. *Anticancer Res* 2013; 33: 5401-5405.
- 10.Agachan Cakmakoglu B, Attar R, Kahraman OT, Dalan AB, Iyibozkurt AC, Karateke A, Attar E. Cyclooxygenase-2 gene and epithelial ovarian carcinoma risk. *Mol Biol Rep* 2011; 38: 3481-3486.
- 11.Chang WS, Liao CH, Miao CE, Wu HC, Hou LL, Hsiao CL, Ji HX, Tsai CW, Bau DT. The role of functional polymorphisms of cyclooxygenase 2 in renal cell carcinoma. *Anticancer Res* 2014; 34: 5481-5486.
- 12.Siddiqi A, Saidullah B, Sultana S. Anti-carcinogenic effect of hesperidin against renal cell carcinoma by targeting COX-2/PGE2 pathway in Wistar rats. *Environ Toxicol* 2018; 33: 1069-1077.
- 13.Zhu W, Wei BB, Shan X, Liu P. -765G>C and 8473T>C polymorphisms of COX-2 and cancer risk: a meta-analysis based on 33 case-control studies. *Mol Biol Rep* 2010; 37: 277-288.
- 14.Mittal M, Kapoor V, Mohanti BK, Das SN. Functional variants of COX-2 and risk of tobacco-related oral squamous cell carcinoma in high-risk Asian Indians. *Oral Oncol* 2010; 46: 622-626.
- 15.Gharib AF, Karam RA, Abd El Rahman TM, Elsayy WH. COX-2 polymorphisms 765G→C and -1195A→G and hepatocellular carcinoma risk. *Gene* 2014; 543: 234-236.
- 16.Hou L, Grillo P, Zhu ZZ, Lissowska J, Yeager M, Zatonski W, Zhu G, Baccarelli A, Chanock SJ, Fraumeni JF Jr, Chow WH. COX1 and COX2 polymorphisms and gastric cancer risk in a Polish population. *Anticancer Res* 2007; 27: 4243-4247.
- 17.Van Nes JG, de Kruijf EM, Faratian D, van de Velde CJ, Putter H, Falconer C, Smit VT, Kay C, van de Vijver MJ, Kuppen PJ, Bartlett JM. COX2 expression in prognosis and in prediction to endocrine therapy in early breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2011; 125: 671-685.
- 18.Vogel U, Christensen J, Wallin H, Friis S, Nexø BA, Tjønneland A. Polymorphisms in COX-2, NSAID use and risk of basal cell carcinoma in a prospective study of Danes. *Mutat Res* 2007; 617: 138-146.
- 19.Souza RF, Shewmake K, Beer DG, Cryer B, Spechler SJ. Selective inhibition of cyclooxygenase-2 suppresses growth and induces apoptosis in human esophageal adenocarcinoma cells. *Cancer Res* 2000; 60: 5767-5772.

20. Kujubu DA, Reddy ST, Fletcher BS and Herschman HR. Expression of the protein product of the prostaglandin synthase- 2/TIS10 gene in mitogen-stimulated Swiss 3T3 cells. *J Biol Chem* 1993; 268: 5425-5430.
21. Kawata R, Reddy ST, Wolner B and Herschman HR. Prostaglandin synthase 1 and prostaglandin synthase 2 both participate in activation-induced prostaglandin D2 production in mast cells. *J Immunol* 1995; 155: 818-825.
22. Reddy ST and Herschman HR. Ligand-induced prostaglandin synthesis requires expression of the TIS10/PGS-2 prostaglandin synthase gene in murine fibroblasts and macrophages. *J Biol Chem* 1994; 269: 15473-15480.
23. Güçer H , Şahan E, Akyıldız İğdem A, Tetikkurt Ü.S., Erdoğan N. Cox-2 Expression and Microvessel Density in Clear Cell Type Renal Cell Carcinoma *Turkish Journal of Pathology* 2009; 25:13-19.
24. Yoshimura R, Matsuyama M, Kawahito Y, Tsuchida K, Kuratsukuri K, Takemoto Y, Mitsuhashi M, Sano H, Nakatani T. Study of cyclooxygenase-2 in renal cell carcinoma. *Int J Mol Med* 2004;13: 229-233.
25. Cho DS, Joo HJ, Oh DK, Kang JH, Kim YS, Lee KB, Kim SJ. Cyclooxygenase-2 and p53 expression as prognostic indicators in conventional renal cell carcinoma. *Yonsei Med J.* 2005; 46: 133-140.
26. Papafili A, Hill MR, Brull DJ, McAnulty RJ, Marshall RP, Humphries SE, Laurent GJ. Common promoter variant in cyclooxygenase-2 represses gene expression: evidence of role in acute-phase inflammatory response. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22: 1631-1636.
27. Appleby SB, Ristimäki A, Neilson K, Narko K, Hla T. Structure of the human cyclooxygenase-2 gene. *Biochem J* 1994; 302: 723-727.
28. Yang X, Hou F, Taylor L, Polgar P. Characterization of human cyclooxygenase 2 gene promoter localization of a TGF-beta response element. *Biochim Biophys Acta* 1997; 1350: 287-292.
29. Gong Z, Bostick RM, Xie D, Hurley TG, Deng Z, Dixon DA, Zhang J, Hebert JR. Genetic polymorphisms in the cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 genes and risk of colorectal adenoma. *Int J Colorectal Dis* 2009; 24: 647-654.
30. Chang WS, Yang MD, Tsai CW, Cheng LH, Jeng LB, Lo WC, Lin CH, Huang CY, Bau DT. Association of cyclooxygenase 2 single-nucleotide polymorphisms and hepatocellular carcinoma in Taiwan. *Chin J Physiol* 2012; 55: 1-7.