Rev Esp Med Nucl. 2009; 28(1): 11-14

Original

La expresión inmunohistoquímica intensa de ciclooxigenasa 2 se asocia inversamente con los valores máximos de SUV en la ^{18}F-FDG-PET de pacientes afectados de carcinomas no microcíticos de pulmón. Relación con otros factores biológicos

A. Ruibal[a,*], I. Abdulkader[b], F. Gude[c], M. Pombo[a], L. León[d], J. Barandela[a] y A. Sánchez-Salmón[a]

[a]*Servicio de Medicina Nuclear, Complejo Hospitalario Universitario, Facultad de Medicina, Santiago de Compostela, A Coruña, España*
[b]*Servicio de Anatomía Patológica, Complejo Hospitalario Universitario, Facultad de Medicina, Santiago de Compostela, A Coruña, España*
[c]*Servicio de Epidemiología Clínica, Complejo Hospitalario Universitario, Facultad de Medicina, Santiago de Compostela, A Coruña, España*
[d]*Servicio de Oncología Médica, Complejo Hospitalario Universitario, Facultad de Medicina, Santiago de Compostela, A Coruña, España*

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:
Recibido el 12 de marzo de 2008
Aceptado el 10 de septiembre de 2008

Palabras clave:
COX-2
Carcinomas no microcíticos de pulmón
SUV
p16
MIB1
EGFR

RESUMEN

Objetivo: estudiar la expresión de COX-2 y sus posibles relaciones con el valor de captación estándar (SUV, *standardized uptake value*, valor de captación estándar) máximo-FDG-PET y la expresión de MIB1, p16 y receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) en pacientes afectados de carcinoma no microcítico de pulmón (CPNM).
Material y método: se incluyó 45 pacientes (12 adenocarcinomas y 33 carcinomas escamosos) en los que se analizó, mediante *tissue-arrays,* la expresión de los factores biológicos. Los valores de SUV se obtuvieron 60 min después de la administración del radiofármaco y la imagen se efectuó en un PET Advanced System (GE).
Resultados: la expresión de COX-2 se apreció en 35/45 casos, y fue muy importante (> ++) en 12. Los valores de SUV fueron menores (p = 0,059) en los casos COX-2 > ++ que en los restantes (13,4 ± 1,2 frente a 12,9 frente a 17,1 ± 1,5). La expresión de COX-2 > ++ no se correlacionó con el estadio, ni tampoco lo hizo el SUV. La expresión de COX-2 > ++ se correlacionó positivamente con la de p16 (r = 0,36; p = 0,014) y negativamente con la de MIB1 (r = –0,32; p = 0,041), mientras que la SUV lo hizo positivamente con la del EGFR (r = 0,44; p = 0,004) y negativamente con la de p16 (r = –0,29; p = 0,041).
Conclusiones: a) la expresión intensa (> ++) de COX-2 se constata en el 26,6% de los CPNM y es independiente del estadio clínico; *b)* los valores de SUV tampoco se relacionaron con el estadio y fueron menores en los tumores COX-2++ que en el resto de casos, y *c)* este comportamiento diferente de ambos parámetros se podría explicar por sus distintas relaciones con la proliferación celular (MIB1) y la expresión de EGFR y p16.

© 2008 Elsevier España S.L. y SEMN. Todos los derechos reservados.

The immunohistochemical expression of cyclooxygenasa 2 is inversely associated with ^{18}F-FDG-PET SUV values in non-small cell lung cancers. Initial results

Keywords:
COX-2
NSCLC
SUV
p16
MIB1
EGFR

ABSTRACT

Objective: To study the expression of COX-2 and its possible relationship with the maximum *standardized uptake value* (SUV) in FDG-PET, and EGFR, p16 and MIB1 expression in patients with NSCLC.
Material and method: 45 patients (12 adenocarcinomas and 33 squamous cell carcinomas) were included in this study; the immunohistochemical expression of COX-2, MIB-1, p16 and EGFR was determined using tissue-array. Each PET was performed 60 minutes after the i.v. administration of 350-518 MBq of FDG on an Advance system (GE) in 2D acquisition mode.
Results: COX-2 expression was detected in 35 out of 45 cases, and was very significant (> ++) in 12 of them. SUV values were lower in the COX-2 > ++ cases that in the remaining cases (13.4 ± 1.2 vs. 12.9 vs. 17.1 ± 1.5; p = 0.059). COX-2 > ++ expression and maxSUV values were not correlated with the clinical stage. The expression of COX-2 > ++ was correlated positively with p16 (r = 0.36; p = 0.014) and negatively with MIB1 (r = –0.32; p = 0.041) expression, whereas the SUV was correlated positively with EGFR (r = 0.44; p = 0.004) and negatively with p16 (r = –0.29; p = 0.041) expression.

*Autor para correspondencia.
Correo electrónico: alvaro.ruibal.morell@sergas.es (A. Rubial).

0212-6982/$ - see front matter © 2008 Elsevier España, S.L. y SEMN. Todos los derechos reservados

Conclusions: Our results suggest that: *a)* the expression of COX-2 > ++ is often found in this kind of lung cancer and is not associated with the clinical stage; *b)* the maxSUVs were not related to the stage and were lower in COX-2 > ++ tumours than in the other cases; and *c)* the different behaviour of both parameters can be explained by their correlation with cell proliferation (MIB1), EGFR and p16 expression.
© 2008 Elsevier España, S.L. and SEMN. All rights reserved.

Introducción

La ciclooxigenasa 2 (COX-2) es una isoforma de la enzima ciclooxigenasa, que interviene en la conversión del ácido araquidónico en prostaglandina H, permitiendo la síntesis de mediadores bioquímicos que favorecen la inflamación crónica y la transformación tumoral[1]. La isoforma 1 (COX-1) está ampliamente distribuída a nivel tisular y sus concentraciones y actividad permanecen constantes, mientras que la COX-2 cursa con valores tisulares nulos o muy bajos en la mayoría de los tejidos, y es inducible tras ciertos estímulos. Sólo los riñones, los testículos y el sistema nervioso central tienen siempre altas concentraciones de la enzima. Los principales inductores de la COX-2 son los polisacáridos bacterianos, las interleucinas 1β y 2, y el factor de necrosis tumoral alfa (TNFα). También la estimulan el factor de crecimiento epidérmico (EGF), el derivado de las plaquetas (PDGF) y ciertos promotores tumorales. Por el contrario, la inhiben las interleucinas 13, 10 y 4, así como los corticosteroides[2].

La sobreexpresión de COX-2 se asocia a la de prostaglandina E2, y ambas están involucradas en la génesis de los carcinomas no microcíticos de pulmón (CPNM), merced a una resistencia a la apoptosis, la inhibición del sistema inmune y un incremento de la angiogénesis, todo lo cual contribuye a potenciar la invasión y la metastatización tumoral[3-5]. Recientemente, se ha visto que ciertos polimorfismos de la COX-2 se relacionan con el hábito tabáquico[6] y que la enzima es también la mediadora de los efectos oncogénicos del factor de crecimiento de los hepatocitos (HGF) en los tumores pulmonares[7].

En los CPNM el papel fisiopatológico de la COX-2 es superior en los adenocarcinomas, se asocia con la mayor expresión de ciertas metaloproteasas de matriz, como la MMP2[8] y el oncogén erbB2[9], sus valores son independientes de la expresión del receptor del EGF (EGFR)[10] y, para algunos grupos, se comporta como factor pronóstico, preferentemente en varones y en el subtipo adenocarcinoma[10-13]. Sin embargo, otros autores no lo han podido constatar[12,14].

La COX-2 se ha utilizado como diana terapéutica[3,15], y se ha comprobado que su inhibición se acompaña de mayor apoptosis y un descenso del porcentaje de células en las fases S y G2-M[16]. Asimismo, determina una reducción muy notable del factor de crecimiento del endotelio vascular A (VEGFA)[17]. Se ha visto que el efecto inhibidor de la COX-2 se realiza induciendo la expresión de p21[18] y que los inhibidores aumentan la respuesta del tumor a la radioterapia y quimioterapia[19,20], y además, posee un efecto protector sobre de la aparición de un cáncer de pulmón[21].

En relación con la biología de los CPNM, merece destacarse, además, que la inhibición de las señales celulares mediadas por el EGFR incrementa notablemente la 15-OH-prostaglandina dehidrogenasa, enzima que metaboliza la PGE2 en esos tumores[22], lo cual puede explicar su diferente comportamiento clínico[13]. Asimismo, la inhibición de la bombesina, hormona involucrada en la génesis de estos carcinomas pulmonares, está ligada, entre otros factores, a la supresión de la COX-2[23]. La proteína p16, inhibidor del ciclo celular, es de gran valor en estos tumores, pues se comporta con gen tumorsupresor y sus alteraciones (preferentemente hipermetilación de su promotor, deleciones, mutaciones, etc.) se asocian con un mayor riesgo de desarrollarlos. Asimismo, su pérdida de expresión se puede apreciar también en las lesiones bronquiales preneoplásicas[24] y en pacientes fumadores[25].

La tomografía por emisión de positrones (PET) con 18F-fluordeoxiglucosa (FDG) constituye una técnica habitual en el estudio del paciente afectado de CPNM, y es especialmente útil en la estadificación/reestadificación, el control evolutivo, la planificación de la radioterapia y la respuesta al tratamiento[26-28].

Debido a la escasa bibliografía que hay, a su importante interés fisiopatológico y a su vinculación con la angiogénesis, se ha querido analizar, en pacientes con CPNM, la expresión de COX-2 y su posible relación con el valor de captación estándar (SUV, *standardized uptake value*) máximo en la FDG-PET, el EGFR, la p16 y la proliferación celular (MIB1), con la finalidad de obtener conclusiones que pudiesen ser de utilidad clínica.

Material y método

El grupo de estudio incluyó a 45 pacientes (41 varones y 4 mujeres), de edades comprendidas entre 41 y 82 años (63,4 ± 11,5; mediana: 66) y afectados de CPNM (12 adenocarcinomas y 33 carcinomas escamosos). En función del estadio clínico, los pacientes se clasificaron del siguiente modo: estadio IA, 1; IB, 8; IIA, 1; IIB, 8; IIIA, 9; IIIB, 9; IV, 9. Se ha utilizado el Tissue Arrayer Device (Beecher Instruments. Sun Prairie. WI) para construir los *tissue microarrays* bloques, siguiendo protocolos convencionales[29]. Todos los casos se revisaron histológicamente y las áreas más representativas fueron marcadas en los bloques de parafina. Se escogieron 2 cilindros seleccionados de 1 mm de diámetro de 2 áreas diferentes de cada tumor. Se incluyeron controles internos y externos en cada *tissue microarrays*. Cada bloque se cortó en secciones de 4 μm. El estudio inmunohistoquímico se realizó sobre secciones de parafina de 4 μ de espesor, utilizando el kit de un anticuerpo secundario universal que incluye un polímero de dextrano ligado a peroxidada (DAKO EnVision Peroxidase/DAB; DAKO. Glostrup. Denmark) para evitar la interpretación errónea de la biotina endógena como positiva. La COX-2 se analizó mediante un anticuerpo monoclonal (COX-2; M, SP21, MD335QD de Master Diagnóstica; Granada, España) prediluido. Se consideró positiva la tinción citoplasmática. Se clasificaron como positivos +) los tumores con un porcentaje de células teñidas comprendido entre el 10 y el 30%; positivos ++ los que presentaban un porcentaje comprendido entre el 30 y el 60%, y positivos +++ aquellos con un porcentaje > 60% (fig. 1). Hemos analizado, además, la expresión inmunohistoquímica de p16, EGFR y el antígeno de proliferación celular MIB1, utilizando anticuerpos monoclonales (tabla 1).

Tras una anamnesis, la determinación de la glucemia (máximo valor aceptado, 160-180 mg/dl) y la administración de un miorrelajante en una sala con una temperatura de 22-24 °C, se inyectó en la extremidad superior contralateral a la lesión, 350-518 MBq de ^{18}F-FDG; los pacientes estaban en ayuno de 6 h, como mínimo. La imagen se obtuvo 60 min después en un PET Advanced System (General Electric Medical Systems) con una adquisición en 2D.

Se realizó estudio semicuantitativo mediante la determinación de los índices SUV máximo de cada lesión observada, considerando el SUV como la captación de la región de interés con relación a la dosis inyectada y el peso corporal en gramos. No se han realizado estudios secuenciales y sólo se valoró el SUV máximo obtenido en la exploración PET. La presentación del estudio se realizó empleando imágenes tomográficas axiales, coronales sagitales y mediante la proyección volumétrica. El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS for Windows. Las variables continuas se expresan con la media ± error estándar. Para verificar la existencia de diferencias estadísticamente significativas se ha utilizado la prueba de $\chi 2$ (con la corrección

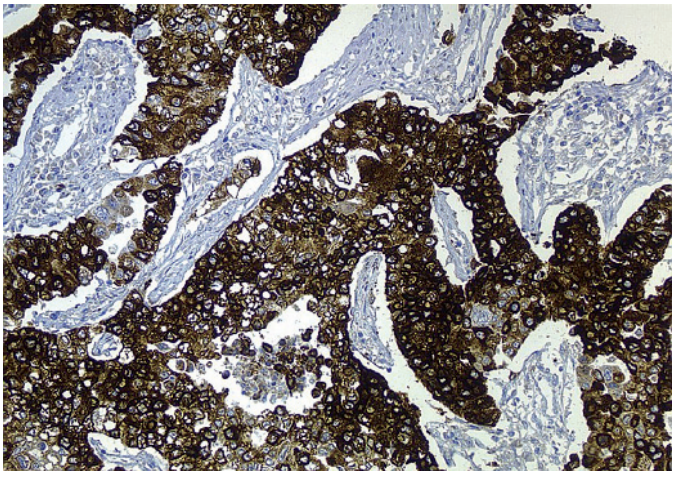

Figura 1. Expresión inmunohistoquímica de ciclooxinesa 2 (COX-2) en un carcinoma escamoso de pulmón (x20).

Tabla 1
Parámetros biológicos analizados mediante *tissue arrays* en los carcinomas no micrcíticos pulmonares

Parametro	Casa comercial	Anticuerpo	Dilución
COX-2[a]	Master Diagnostic	SP21 (MD335QD)	Prediluido
MIB-1[b]	Dako	Ki-67(M-7240)	1/200
EGFR[c]	Dako	Kit phamDX (K-1494)	Prediluido
p16[a]	MTM	KitphmaDX (OA 315)	Prediluido

COX-2: ciclooxigenasa 2; EGFR: receptor del factor de crecimiento epidérmico.
[a]Tinción citoplasmática.
[b]Tinción nuclear.
[c]Tinción membrana.

Tabla 2
Correlaciones estadísticamente significativas de la ciclooxigenasa 2 (COX-2) y valor de captación estándar (SUV) con los diferentes parámetros biológicos analizados

	Parámetro	r	p
COX-2	MIB1	–0,32	0,041
	p16	0,36	0,014
SUV	EGFR	0,44	0,004
	p16	–0,29	0,042

EGFR: receptor del factor de crecimiento epidérmico.

de Yates) en el caso de variables cualitativas y la t de Student para las continuas, así como el análisis de la varianza cuando se ajustaron por el estadio clínico. La valoración entre variables se efectuó mediante el coeficiente de correlación de Spearman. Para la comparación de la supervivencia entre los grupos se han utilizado las curvas de Kaplan-Meier y la prueba de rangos logarítmicos. Se considero que una diferencia era significativa cuando $p < 0,05$.

Resultados

La expresión inmunohistoquímica de COX-2 se apreció en 35 de los 45 casos (77,8%), y fue importante (> ++) en 12 de ellos (26,6 %). Dado el número de casos estudiados y el valor clínico de la enzima, se han comparado los casos COX-2 > ++ con el resto de tumores.

Los valores de SUV fueron menores en los 12 casos COX-2 > ++ que en los 33 restantes (13,4 ± 1,2; mediana: 12,9 frente a 17,1 ± 1,5; mediana: 15,5; p = 0,059). La expresión de COX-2 > ++ no se correlacionó con el estadio tumoral (I-II: 4/18 frente a III-IV: 8/27), ni tampoco lo hizo el SUV (I-II: 17,2 ± 2,4 frente a III-IV: 15,3 ± 1,2). Independientemente del estadio clínico, los valores de SUV tuvieron tendencia a ser menores en los casos COX-2 > ++ que en el resto de casos (estadios I-II: COX–/+: 18,3 ± 3,0; COX > ++: 13,2 ± 1,5; estadios III-IV: COX–/+: 16,2 ± 1,5; COX > ++; 13,4 ± 1,7; p = 0,097).

La expresión de COX-2 se correlacionó estadísticamente y de forma positiva con la de p16 y negativamente con la de MIB1. Por el contrario, los valores de SUV se correlacionaron estadística y positivamente con la del EGFR y negativamente con la de la p16 (tabla 2).

El tiempo de seguimiento de los pacientes osciló entre 1 y 78 meses, con una mediana de 21. Tras el análisis multivariado, sólo el estadio clínico fue factor pronóstico

Discusión

Dentro de la fisiopatología de los CPNM, la COX-2 posee un gran interés, pues no sólo está involucrada en la génesis, sino que también es diana de nuevas terapéuticas con finalidad preventiva y curativa. Así, se sabe que estimula la proliferación celular, la resistencia a la apoptosis, la inhibición de la respuesta inmune y la angiogénesis a través de diferentes mecanismos que incluyen la producción del VEGF. La íntima relación entre angiogénesis y la COX-2 se ha demostrado ampliamente en muchos tumores[30]. Asimismo, su expresión se asocia con la de otros factores que, de un modo directo o indirecto, contribuyen a explicar el comportamiento ulterior[13].

La PET con 18F-FDG se ha convertido en una exploración rutinaria en los pacientes afectados de esos tumores, y es de gran valor en la estadificación y, sobre todo, en la evaluación de la actividad terapéutica. Uno de los parámetros utilizados para evaluar la exploración PET en la clínica diaria es el SUV que intenta reflejar la concentración tisular del radiofármaco, teniendo presente sus características y las del paciente, así como errores en la inyección del radiofármaco[31]. Independientemente de su repercusión clínica, se ha intentado analizar qué factores biológicos pueden influir en los valores SUV. Así, se sabe que pueden relacionarse con la p53, la proliferación celular y ciertos transportadores de la glucosa. Incluso su captación en la médula ósea se relaciona con las concentraciones séricas de TGF-β, pero no de VEGF o G-CSF[32]. No obstante, quedan muchos aspectos desconocidos. Asimismo, su papel como factor pronóstico en este tipo de tumores está sujeto a cierta controversia[33]. Esto hizo que se quisiera comparar la expresión de COX-2 con los valores de SUV y otros factores biológicos de interés en la génesis y evolución de estos tumores, como el EGFR, la proliferación celular mediada con el anticuerpo MIB1 y la p16, componente del ciclo celular y considerado, junto a la p53, uno de los genes supresores de tumor más importantes en oncología.

Usando técnicas inmunohistoquímicas, se pudo ver que la expresión de COX-2 se constataba en el 78% de los pacientes, y era muy intensa (> ++) en el 27% de ellos. El subtipo adenocarcinoma cursó con mayor positividad para la isoenzima (15/15 frente a 20/30; p = 0,016) y ello coincide con lo descrito en la bibliografía[12]. Para los estudios estadísticos y de correlación con los otros parámetros clinicobiológicos, se consideraron como positivos los tumores COX-2 > ++, y el resto de casos se agruparon como negativos. La isoenzima no se correlacionó con el estadio clínico y ni se comportó como factor pronóstico, lo cual no está en contradicción con su papel fisiopatológico.

El valor máximo de SUV fue menor en los casos COX-2 > ++ que en los negativos, y ello fue independiente del estadio clínico. Es decir, hay una correlación inversa entre la expresión intensa (> ++) de COX -2 y el consumo celular de glucosa reflejado por el SUV. Lo más interesante de nuestro trabajo fue constatar que la expresión de COX-2 se correlacionó significativa y positivamente con la de p16 y negativamente con la de MIB1, indicador de proliferación. Por el contrario, los valores de SUV se correlacionaron positivamente con el EGFR y negativamente con la p16. En relación con la MIB-1, muchos autores han descrito su relación con los valores de SUV en ciertos tumores[34,35], lo que sugiere que la captación del radiofármaco está ligada a la proliferación celular. Apoyaría este hecho, además, que la expresión de EGFR se correlaciona estadística y significativamente con la proliferación[33-37]. Asimismo, recientemente Van Dyke et al[13] han observado, en pacientes con adenocarcinomas, que la expresión de EGFR tuvo un

comportamiento opuesto al de la COX-2 en relación con la evolución del tumor.

El hecho de que los valores de SUV se correlacionen inversamente con la p16, cuyo gen está inactivado en muchos tumores, incluidos los pulmonares[38-40], contribuye a explicar que la proliferación celular juegue un papel importante en la captación del radiofármaco y que puedan asociarse con un peor pronóstico, pues la negatividad de la p16 sí es factor pronóstico independiente[25,41,42]. Por el contrario, la p16 se correlaciona directamente con la expresión de COX-2, como se ha visto en otros tumores, y ello podría contribuir a explicar que esta última y la SUV tengan un comportamiento opuesto.

Nuestros resultados, preliminares por el reducido número de pacientes incluídos, sugieren: a) la expresión intensa (> ++) de COX-2 se constató en el 26,6% de los CPNM y fue independiente del estadio clínico; *b)* los valores de SUV tampoco se relacionaron con el estadio y fueron menores en los tumores COX-2 > ++ que en el resto de casos, y *c)* este comportamiento diferente de ambos parámetros podría explicarse por sus distintas relaciones con la proliferación celular (MIB1) y la expresión de p16.

Bibliografía

1. Lee JM, Yanagawa J, Peebles KA, Sharma S, Mao JT, Dubinett SM. Inflammation in lung carcinogenesis: new targets for lung cancer chemoprevention and treatment. Crit Rev Oncol Hematol. 2008;66:208-17.
2. Zha S, Yegnasubramanian V, Nelson WG, Isaacs WR, de Marzo AM. Cyclooxygenases in cancer: progress and perspective. Cancer Lett. 2004;215:1-20.
3. Lee JM, Mao JT, Krysan K, Dubinett SM. Significance of cyclooxigenase-2 in prognosis, targeted therapy and chemoprevention of NSCLC. Future Oncol. 2007;3:149-53.
4. Hazra S, Dubinett SM. Ciglitazone mediates COX-2 dependent suppression of PGE2 in human non-small cell lung cancer cells. Prostaglandins, Leukot Essent Faty Acids. 2007;77:51-8.
5. Patel S, Chiplunkar S. Role of cyclooxygenase-2 in tumor progression and immune regulation in lung cancer. Indian J Biochem Biophys. 2007;44:419-28.
6. Vogel U, Christensen J, Wallin H, Friis S, Nexo B, Raaschou-Nielsen O, et al. Polymorphisms in COX-2 and PPAR-gamma interact with NSAID use or smoking in relation to risk of lung cancer in a prospective study of Danes. Toxicol Lett. 2007;172 Suppl 1:S174-5.
7. Siegfried JM, Gubish CT, Rothstein ME, Queiroz de Oliveira PE, Stabile LP. Signaling pathways involved in cyclooxigenase-2 induction by hepatocyte growth factor in non small cell lung cancer. Mol Pharmacol. 2007;72:769-79.
8. Byun JH, Lee MA, Roh SY, Shim BY, Hong SH, Ko YH, et al. Association between cyclooxigenase -2 and matrix metalloproteinase-2 expression in non-small cell lung cancer. Jpn J Clin Oncol. 2006;36:263-8.
9. Brattstram D, Wester K, Bergqvist M, Hesselius P, Malmsarram PU, Nordgre H, et al. HER-2, EGFR, COX-2 expression status correlated to microvessel density and survival in resected non-small cell lung cancer. Acta Oncol. 2004;43:80-6.
10. Richardson CM, Richardson D, Swinson DEB, Swain WA, Cox G, O'Byrne KJ. Cyclooxigenase-2 protein levels are independent of epidermal growth factor receptor expression or activation in operable non-small cell lung cancer. Lung Cancer. 2005;48:47-57.
11. Laga AC, Zander DS, Cagle PT. Prognostic significance of cyclooxigenase 2 expression in 2549 cases of non-small cell lung cancer. Arch Pathol Lab Med. 2005;129:113-7.
12. Mascaux C, Martin B, Paesmans M, Berghmans T, Dusart M, Haller A, et al. Has COX-2 a prognostic role in non-small cell lung cancer? A systematic review of the literature with meta-analysis of the survival results. Br J Cancer. 2006;95:139-45.
13. Van Dyke AL, Cote ML, Prysak G, Caléis GB, Wenzlaff AS, Murphy V, et al. COX-2/EGFR expression and survival among women with adenocarcinoma of the lung. Carcinogenesis. 2008;29:1781-7.
14. Dowell JE, Amirkhan RH, Lai WS, Frawley WH, Minna JD. Survival in small cell lung cancer is independent of tumor expression of VEGF and COX-2. Anticancer Res. 2004;24:2367-73.
15. Krysan K, Reckamp KL, Sharma S, Dubinett SM. The potential and rationale for COX-2 inhibitors in lung cancer. Anticancer Agents Med Chem. 2006;6:209-20.
16. Alam M, Wang JH, Coffey JC, Qadri SS, O'Donnell A, Aherme T, et al. Characterization of the effects of cyclooxigenase-2 inhibition in the regulation of apoptosis in human small and non-small cell lung cancer cell lines. Ann Surg Oncol. 2007; 14:2678-84.
17. Yoshinaka R, Shibata MA, Morimoto J, Tanigawa N, Otsuki Y. COX-2 inhibitor celocoxib suppresses tumor growth and lung metastasis of a murine mammary cancer. Anticancer Res. 2006;26:4245-54.
18. Han S, Roman J. COX-2 inhibitors suppress lung cancer cell growth by inducing p21 via COX-2 independent signals. Lung Cancer. 2006;51:283-96.
19. Lisao Z, Mason KA, Milas L. Cyclo-oxigenase -2 and its inhibition in cancer: is there a role? Drugs. 2007;67:821-45.
20. Grimes KR, Warren GW, Fang F, Xu Y, Clair WH. Cyclooxigenase-2 inhibitor, nimesulide, improves radiation treatment against non-small cell lung cancer both in vitro and in vivo. Oncol Rep. 2006;16:771-6.
21. Harris RE, Beebe-Donk J, Alshafie GA. Reduced risk of human lung cancer by selective cyclooxigenase 2 (COX-2) blockade: results of a case control study. Int J Biol Sci. 2007;3:328-34.
22. Yang L, Amann JM, Kikuchi T, Porta R, Guix M, González A, et al. Inhibition of epidermal growth factor receptor signalling elevates 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase in non-small cell lung cancer. Cancer Res. 2007;67:5587-93.
23. Hohla F, Schally AV, Kanashiro CA, Buchholz S, Baker B, Kannadka C, et al. Growth inhibition of non-small cell lung carcinoma by BN/GRP antagonist is linked with suppression of K-ras, COX-2 and pAkt. Proc Nat Acad Sci USA. 2007;104:18671-6.
24. Lantuéjoul S, Brambilla E. Prognostic biomarkers in non-small cell lung carcinoma. Current Diagnostic Pathology. 2006;12:418-28.
25. Georgiou E, Valeri R, Tzimagiorgis G, Anzel J, Krikelis D, Tsilikas C, et AL. Aberrant p16 promoter methylation among greek lung cancer patients and smokers: correlation with somoking. Eur J Cancer Prev. 2007;16:396-402.
26. Maldonado A, González-Alenda FJ, Alonso M, Sierra JM. Usefulness of positron emission tomography-computed tomography in respiratory medicine. Arch Bronconeumol. 2007;43:562-72.
27. Borrego Dorado I, López García C, Vázquez Albertino R, Ginel Cañamaque A, Barrot Cortés E. Evaluación de la eficacia y el impacto clínico de la FDG-PET en pacientes con cáncer no microcítico de pulmón potencialmente resecable. Rev Esp Med Nucl. 2007;26:335-44.
28. Melek H, Gunluoglu MZ, Demir A, Akin H, Olcmen A, Dincer SI. Role of positron emission tomography in mediastinal lymphatic staging of non-small cell lung cancer. Eur J Cardiothorac Surg. 2008;33:294-9.
29. García JF, Camacho FI, Morente M, Fraga M, Montalbán C, Álvaro T, et al. Spanish Hodgkin Lymphoma Study Group. Hodgkin and Reed-Sternberg cells harbor alterations in the major tumor suppressor pathways and cell-cycle checkpoints: analyses using tissue microarrays. Blood. 2003;101:681-9.
30. Yamac D, Ayyıldız T, Coşkun U, Akyürek N, Dursun A, Seckin S, et al. Cyclooxygenase-2 expression and its association with angiogenesis, *Helicobacter pylori*, and clinicopathologic characteristics of gastric carcinoma. Pathol Res Pract. 2008;204:527-36.
31. Miyashita K, Takahashi N, Oka T, Asakawa S, Lee J, Shizukuiski K, et al. SUV correction for injection errors in FDG-PET examination. Ann Nucl Med. 2007;21:607-13.
32. Van de Wiele C, Vandevyrer F, Debruyne C, Philippé J, van Meerbeeck JP. FDG uptake by the bone marrow in NSCLC patients is related to TGF-beta but not to VEGF or G-CSF serum levels. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2008;35:519-22.
33. Berghmans T, Dusart M, Paesmans M, Hossein-Foucher C, Buvat I, Castaigne C, et al. Primary tumor standardized uptake value (SUVmax) measured on fluorodeoxyglucose positron emission tomography (FDG-PET) is a prognostic value for survival in non-small cell lung cancer (NSCLC): a systematic review and meta-analysis (MA) by the European lung cancer working party for the ISALC lung cancer staging project. J Thorac Oncol. 2008;3:6-12
34. Kurokawa T, Yoshida Y, Kawahara K, Tsuchida T, Okazawa H, Fujibayashi, et al. Expression of GLUT-1 glucose transfer, cellular proliferation activity and grade of tumor correlate with [F-18]-fluorodeoxyglucose uptake by positron emission tomography in epithelial tmors of the ovary. Int J Cancer. 2004;109:926-32.
35. Watanabe K, Nomori H, Ohtsuka T, Naruke T, Ebihara A, Orikasa H, et al. F-18] Fluorodeoxyglucose positron emission tomography can predict pathological tumor stage and proliferative activity determined by Ki-67 in clinical stage IA lung adenocarcinomas. Jpn J Clin Oncol. 2006;36:403-9.
36. Niemic J, Kolodziejski L, Dyczek S. EGFR LI, and Ki67 LI are independent prognostic parameters influencing survivals of surgically treated squamous cell lung cancer patients. Neoplasma. 2005;52:231-7.
37. Ahn JH, Kim SW, Hong SM, Suh C, Kim WK, Lee IC, et al. Epidermal growth factor receptor (EGFR) expression in operable non-small cell lung carcinoma. J Korean Med Sci. 2004;19:529-35.
38. Espósito V, Baldi A, de Luca A, Tonini G, Vincenzi B, Santini D, et al. Cell cycle related proteins as prognostic parameters in radically resected non-small cell lung cancer. J Clin Pathol. 2005;58:734-9.
39. Blanco D, Vicent S, Fraga MF, Fernández-García I, Freire J, Lujambio A, et al. Molecular analysis of a multistep lung cancer model induced by chronic inflammation reveals epigenetic regulation of p16 and activation of the DNA damage response pathway. Neoplasia. 2007;9:840-52.
40. Ota N, Kawakami K, Okuda T, Takehara A, Hiranuma C, Oyama K, et al. Prognostic significance of p16 (INKA4a) hypermethylation in non-small cell lung cancer is evident by quantitative DNA methylation analysis. Anticancer Res. 2006;26:3729-32.
41. Yoo J, Jung JH, Lee MA, Seo KJ, Shim BY, Kim SH, et al. Immunohistochemical analysis of non-small cell lung cancer: correlation with clinical parameters and prognosis. J Korean Med Sci. 2007;22:318-25.
42. Mohamed S, Yasufuku K, Hiroshima K, Nakajima T, Yoshida S, Suzuki M, et al. Prognostic implications of cell cycle-related proteins in primary resectable pathologic N2 non-small cell lung cancer. Cancer. 2007;109:2506-14.