

Perbedaan Ekspresi Cox-2 pada Beberapa Parameter Kliniko-patologi Adenokarsinoma Kolorektal

I Made Gotra, Moestikaningsih

Bagian Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana
RSUP. Sanglah Denpasar

ABSTRAK

Latar belakang

Cox-2 dapat diekspresikan pada berbagai kanker pada manusia termasuk kanker kolorektal. Cox-2 dapat berperan dalam terjadinya dan progresivitas kanker kolorektal, sehingga ekspresi Cox-2 akan berkaitan dengan derajat diferensiasi, kedalaman infiltrasi dan stadium Dukes adenokarsinoma kolorektal. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui persentase ekspresi Cox-2 pada adenokarsinoma kolorektal dan hubungannya dengan beberapa parameter klinikopatologi seperti derajat diferensiasi, kedalaman infiltrasi dan stadium Dukes, sehingga dapat dipakai untuk penanganan klinis.

Metode

Penelitian ini dilakukan secara potong lintang, dengan sampel adenokarsinoma kolorektal yang telah dilakukan pemeriksaan histopatologi di Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Sanglah Denpasar sejak 1 Januari 2008-31 Maret 2011. Sediaan Hemaktosilin-Eosin kemudian dievaluasi parameter klinikopatologinya dan blok parafinnya dipotong untuk pulasan Cox-2. Penilaian skor imunohistokimia dihitung secara semikuantitatif, tanpa mengetahui data parameter klinikopatologi pasien. Karakteristik sampel dianalisis secara deskriptif, sedangkan perbedaan ekspresi Cox-2 pada berbagai parameter klinikopatologi dianalisis dengan uji X^2 dengan tingkat kemaknaan $\alpha < 0,05$.

Hasil dan kesimpulan

Didapatkan sebanyak 64 sampel, 10 sampel dari bahan biopsi dan 54 sampel dari bahan operasi yang dapat dianalisa. Rata-rata umur penderita 52,3 tahun (rentang umur 20-80 tahun). Dari 64 sampel didapatkan 71,9% (46/ 64) kasus menunjukkan ekspresi Cox-2 positif. Tidak ada perbedaan bermakna ekspresi Cox-2 dengan derajat diferensiasi ($p= 0.114$). Demikian pula dengan kedalaman infiltrasi tumor ($p= 0,128$), dan dengan stadium Dukes ($p= 0,053$).

Kata kunci : Adenokarsinoma kolorektal, ekspresi Cox-2, derajat diferensiasi, kedalaman infiltrasi, stadium Dukes.

ABSTRACT

Background

Expression of cyclooxygenase-2 (Cox-2) could be demonstrated in various human cancers including colorectal cancer. The overexpression of Cox-2 may involve in the growth and progression of colorectal cancer, and hence influence the degree of, depth of infiltration and Dukes stadium. The aims of this study are to know the percentage of Cox-2 expression in adenocarcinoma colorectal as well as in various clinicopathology parameters i.e degree of differentiation, depth of infiltration and Dukes stadium, so it can be applied in clinical management.

Method

This research is a cross-sectional study with colorectal adenocarcinoma samples from January 1-March 31, 2011. The clinicopathological parameters were evaluated and. Immunohistochemistry scores of Cox-2 staining were counted semiquantitatively, blindly clinicopathological. Sample characteristics were analyzed descriptively, while the difference of Cox-2 overexpression in various clinicopathological parameters were analyzed by X^2 test with significance value $\alpha < 0.05$.

Result and conclusion

64 samples (10 from biopsy and 54 from operation) that can be analyzed. The average of age was 52.3 years (range 28-80 years). 71.9% (46/64) cases showed Cox-2 overexpression. There were no significance differences of Cox-2 expression in various degree ($p = 0.114$), and also in depth of infiltration ($p= 0.128$), as well as in Dukes stadium ($p= 0.053$).

Key words : Adenocarcinoma colorectal, Cox-2 expression, differentiation degree, depth of infiltration, Dukes stadium.

PENDAHULUAN

Tumor ganas dari epitel kolon dan rektum kira-kira 8,5% dari seluruh kanker di dunia pada tahun 2000, dengan 94.500 kasus baru setiap tahunnya. Karsinoma kolorektal menempati urutan ke 3 dari seluruh kanker pada wanita dan laki-laki.^{1,2} Di Indonesia dan di Bali khususnya menempati urutan ketiga sesudah kanker leher rahim dan kanker payudara.³ Kanker kolorektal paling sering terjadi secara sporadis. Lainnya berhubungan dengan keturunan seperti *hereditary non polyposis colorectal cancer (HNPCC)* atau *Lynch syndrome* kira-kira 3-4% dan *familial adenomatous polyposis (FAP)* kira-kira 1%.⁴ Banyak hal yang berperan pada terjadinya adenokarsinoma kolorektal, salah satunya adalah *Cyclooxygenase-2 (Cox-2)*.⁵ Cox-2 mengalami overekspresi pada 80-85% adenokarsinoma.^{6,7} Cox-2 dilaporkan meningkat secara signifikan di atas 85% pada karsinoma kolorektal sporadis pada manusia.^{7,8} Ekspresi Cox-2 berhubungan dengan peningkatan pertumbuhan dan metastasis sel tumor.⁹ Peranan Cox-2 adalah merangsang jalur *WNT*, yang berimplikasi pada berbagai proses biologi. Deregulasi dari jalur ini menghasilkan ekspresi yang tidak sesuai pada gen sehingga terjadi karsinogenesis. Prognosis dari pasien dengan kanker kolorektal diprediksi berdasarkan beberapa parameter klinikopatologi seperti umur penderita, lokasi tumor, derajat histopatologi, kedalaman infiltrasi, invasi ke organ sekitar serta adanya metastase. Derajat diferensiasi dari jaringan tumor merupakan salah satu bahan pertimbangan untuk menentukan derajat keganasan tumor dan digunakan secara rutin dalam pemeriksaan histopatologi.¹⁰ Dalam menentukan stadium dari tumor harus dilihat sampai dimana sel-sel tumor menginfiltrasi jaringan, seperti contoh mukosa, submukosa, muskularis propria, serosa, peritoneum atau organ sekitar. Di samping itu harus dilihat infiltrasi sel-sel tumor sampai ke kelenjar getah bening dan adanya metastase yang jauh.¹¹

Masalah pada penelitian ini adalah apakah ada perbedaan ekspresi Cox-2 pada berbagai derajat diferensiasi, kedalaman infiltrasi sel-sel tumor dan stadium Dukes adenokarsinoma kolorektal.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui persentase ekspresi Cox-2 dan perbedaan ekspresi Cox-2 pada berbagai derajat diferensiasi, kedalaman infiltrasi sel-sel tumor dan

stadium Dukes adenokarsinoma, sehingga sebagai pertimbangan para klinisi untuk pemberian obat anti inflamasi non steroid, suatu inhibitor Cox-2 yang dapat menekan inflamasi dan merupakan kemopreventif dari kanker kolon.^{6,12}

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan cara potong lintang (*cros sectional*), kasus-kasus kolorektal yang berasal dari hasil operasi atau biopsi dari penderita dengan diagnosis patologi anatomik adenokarsinoma kolorektal di Bagian Patologi Anatomik Fakultas Kedokteran Universitas Udayana/RSUP Sanglah Denpasar sejak tanggal 1 Januari 2008-31 Maret 2011. Sampel yang memenuhi kriteria inklusi antara lain, sampel dengan diagnosis adenokarsinoma klasik, karsinoma musinus dan karsinoma sel cincin. Jumlah kasus yang memenuhi kriteria inklusi sebanyak 64 kasus dan sampel yang bisa dievaluasi kedalaman infiltrasinya dan stadium Dukesnya sebanyak 54 sampel.

Interpretasi ekspresi Cox-2 dilakukan oleh peneliti dan dosen pembimbing secara terpisah tanpa mengetahui data klinikopatologi pasien. Penilaian ekspresi Cox-2 dibuat berdasarkan analisis persentase sel tumor yang positif dan intensitas pewarnaan. Ekspresi Cox-2 diberi skor 0 (< 6%), +1 (6-25%), +2 (26-50%), dan +3 (51-75%) dan +4 (76-100%) dari seluruh sel-sel tumor. Intensitas pulasan diberi skor 0 (negatif), 1 (lemah), 2 (sedang) dan 3 (kuat). Jumlah skor dari sel tumor yang terpulas dan intensitas pewarnaan antara 0 sampai 7. Untuk menyimpulkan hasil dari pulasan imunohistokimia Cox-2 yaitu skor dengan jumlah lebih dari atau sama dengan tiga (≥ 3) dianggap positif, sedangkan skor kurang dari tiga dianggap negatif.⁶

Penilaian derajat diferensiasi tumor adalah: Derajat 1, tumor dengan diferensiasi baik menunjukkan bentukan kelenjar lebih dari 95%. Derajat 2, tumor dengan diferensiasi sedang mempunyai bentukan kelenjar 51-95%. Derajat 3, tumor dengan diferensiasi jelek mempunyai bentukan kelenjar 5-50% termasuk tumor dengan tipe musinus dan tipe sel cincin. Tumor dengan derajat 4 (tak berdeferensiasi) bentukan kelenjar kurang 5%. Tumor dengan derajat 1 dan 2 dikelompokkan dalam *low grade*, tumor

dengan derajat 3 dan 4 dikelompokkan menjadi *high grade*.^{1,13}

Kedalaman infiltrasi: T1 sel-sel tumor sudah infiltrasi pada sub mukosa, T2 sel-sel tumor sampai di muskularis propia, T3 sel-sel tumor infiltrasi melewati muskularis propia sampai sub serosa dan T4 sel-sel tumor infiltrasi sampai organ sekitar atau peritoneum viseralis.^{14,15}

Stadium Dukes: A adalah sel-sel tumor infiltrasi pada kedalaman T1 dan B adalah sel-sel tumor pada kedalaman infiltrasi T2 dan C adalah infiltrasi sel-sel tumor pada kedalaman T1, T2, T3 disertai adanya metastase ke kelenjar getah bening (KGB) dan D adalah sampai T4 atau metastase ke organ yang jauh.^{11,14,16} Karakteristik sampel dianalisis secara deskriptif, sedangkan perbedaan ekspresi Cox-2 pada berbagai parameter klinikopatologi dianalisis dengan uji X^2 dengan tingkat kemaknaan $\alpha < 0,05$

HASIL

Karakteristik Subyek Penelitian

Jumlah sampel yang memenuhi kriteria inklusi untuk sebanyak 64 sampel. Dari 64 sampel, 54 diantaranya adalah hasil operasi dan 10 hasil biopsi. Menurut jenis kelamin, 40 (62,5%) sampel berjenis kelamin laki-laki dan sebanyak 24 (37,5%) sampel perempuan. Umur rata-rata adalah 52,3 tahun, dengan umur termuda 28 tahun dan umur tertua adalah 80 tahun. Distribusi umur terbanyak pada umur diatas 60 tahun, karakteristik sampel penelitian lebih jelasnya dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1: Jumlah dan persentase adenokarsinoma kolorektal menurut jenis kelamin, umur, derajat diferensiasi, ekspresi Cox-2, lokasi tumor, kedalaman infiltrasi dan stadium Dukes

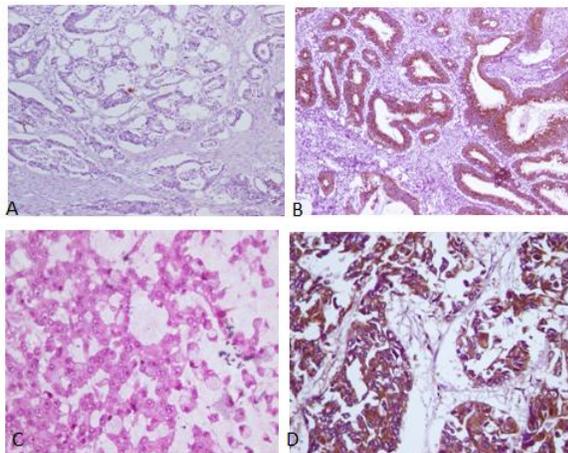
Karakteristik	N	%
Jenis kelamin		
- Laki-laki	40	62,5
- Perempuan	24	27,5
Umur		
- ≤ 30 th	3	4,7
- 31-40 th	9	14,1
- 41-50 th	12	18,8
- 51-60 th	18	28,1
- ≥ 60 th	22	34,3
Derajat diferensiasi tumor. ¹		
- Baik (<i>Low-grade</i>)	47	73,4
- Buruk (<i>High-grade</i>)	17	26,6
Ekspresi Cox-2		
- Positif	46	71,9
- Negatif	18	28,1
Lokasi tumor		
- Kolon (saekum, asenden, transversum,desenden)	30	46,9
- Rektum (rektum,sigmoid,rektosigmoid)	34	53,1
Kedalaman infiltrasi tumor		
- T1-T2	8	14,8
- T3-T4	46	85,2
Stadium Dukes		
- A	6	11,1
- B	29	53,7
- C + D	19	35,2

Pemeriksaan imunohistokimia (IHK) Cox-2 yang dikerjakan pada sampel didapatkan sebanyak 46 (71,9%) sampel dengan Cox-2 positif dan sebanyak 18 (28,1%) sampel dengan Cox-2 negatif. Pemeriksaan imunohistokimia Cox-2 pada sampel yang diteliti dihubungkan dengan derajat diferensiasi didapatkan sampel dengan diferensiasi baik (*low grade*) lebih banyak mengekspresikani Cox-2 (66%) positif dibandingkan dengan ekspresi negatif (34%). Sampel dengan diferensiasi jelek (*high grade*) cenderung menunjukkan ekspresi Cox-2 positif (88,2%) sedangkan yang menunjukkan ekspresi Cox-2 negatif sebesar (11,8%). (Tabel 2.)

Tabel 2. Perbedaan ekspresi Cox-2 pada berbagai derajat diferensiasi karsinoma kolorektal

Derajat diferensiasi	Ekspresi Cox-2		Total
	Positif	Negatif	
Dif. Baik (low grade)	31 (66%)	16 (34%)	47 (100%)
Dif. Buruk (high grade)	15 (88,2%)	2 (11,8%)	17 (100%)
Total	46 (71,9%)	18 (28,9%)	64 (100%)

$X^2 = 2,500, p = 0,114.$



Gambar 1 .Pewarnaan IHK Cox-2 pada berbagai derajat diferensiasi. A. Adenokarsinoma diferensiasi baik (*low grade*) kasus no 1518/PP/10 yang ekspresi Cox-2 negatif, B. Adenokarsinoma diferensiasi baik yang ekspresi Cox-2 positif, kasus no.2020/PP/09, C. Adenokarsinoma yang diferensiasi jelek (*high grade*) yang ekspresi Cox-2 negatif kasus no. 561/PP/10, D Adenokarsinoma diferensiasi jelek yang ekspresi Cox-2 positif, kasus no 3188/PP/09.(400x)

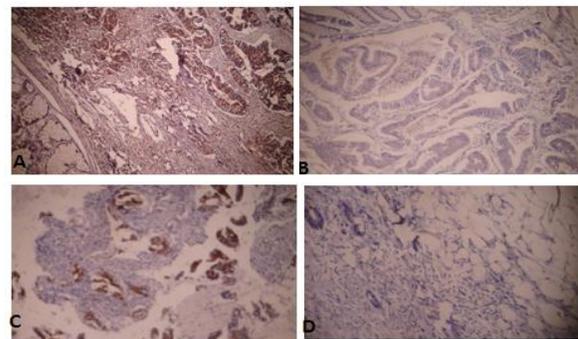
Hasil pada penelitian ini menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna ekspresi Cox-2 pada derajat diferensiasi adenokarsinoma kolorektal pada uji statistik dengan nilai $X^2=2,500$, dan $p= 0,114$.

Kedalaman infiltrasi karsinoma kolorektal (T) dengan pewarnaan imuno-histokimia Cox-2 hanya dapat dievaluasi pada 54 sampel dari bahan operasi. Pada stadium T1-T2 ekspresi Cox-2 yang positif maupun yang negatif terekspresi dalam jumlah yang sama yaitu 50%. Sedangkan infiltrasi sel-sel tumor pada kedalaman T3-T4 cenderung menunjukkan ekspresi Cox-2 positif (76,1%), dan 11 (23,9%) sampel menunjukkan ekspresi Cox-2 negatif. (Tabel 3)

Tabel 3. Perbedaan ekspresi Cox-2 pada berbagai kedalaman infiltrasi karsinoma kolorektal.

Kedalaman infiltrasi	Ekspresi Cox-2		Total
	Positif	Negatif	
T1-T2	4(50%)	4(50%)	8(100%)
T3-T4	35(76,1%)	11(23,9%)	46(100%)
Total	39(72,2%)	15(27,8%)	54(100%)

$X^2=2,312$, $p=0,128$.



Gambar 2. Pewarnaan IHK Cox-2 pada berbagai kedalaman infiltrasi sel-sel tumor. A. Kedalaman infiltrasi (T1-T2) yang ekspresi Cox-2 positif pada sediaan nomor 1735/PP/08, B. Tumor dengan kedalaman infiltrasi (T1-T2) yang ekspresi Cox-2 negatif pada sediaan nomor 51/PA/10, C. Tumor dengan kedalaman infiltrasi (T3-T4) yang ekspresi Cox-2 positif pada sediaan nomor 1664/PP/09, D. Tumor dengan kedalaman infiltrasi (T3-T4) yang ekspresi Cox-2 negatif pada sediaan nomor 619/PP/11(400x)

Pada penelitian ini didapatkan hasil bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna diantara ekspresi Cox-2 pada berbagai kedalaman infiltrasi adenokarsinoma kolorektal pada uji statistik dengan nilai $X^2=2,312$, dan $p= 0,128$.

Stadium Dukes, yang dapat dievaluasi yang berasal dari hasil operasi adalah sebanyak 54 pasien. Cox-2 pada stadium A sebanyak 2(33,3%) dengan ekspresi Cox-2 positif dan 4 (66,7%) negatif. Pada stadium Dukes B 21 (72,4%) dengan ekspresi Cox-2 positif sedangkan 8 sampel (27,6%) ekspresi Cox-2 negatif. Pada stadium Dukes C dan D 16 (84,2%) positif dan 3 (15,8%) ekspresi Cox-2 negatif. Pemeriksaan Cox-2 cenderung positif pada stadium Dukes B, C dan D (Tabel 4.)

Tabel 4. Ekspresi Cox-2 pada stadium Dukes

Stadium Dukes	Ekspresi Cox-2		Total
	Positif	Negatif	
A	2 (33.3%)	4(66,7%)	6(100%)
B	21(72,4%)	8(27,6%)	29(100%)
C + D	16(84,2%)	3(15,8%)	19(100%)
Total	39(72,2%)	15(27,8%)	54(100%)

$X^2: 4,377$, $p = 0,053$

Secara statistik didapatkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan ekspresi Cox-2 pada stadium Dukes adenokarsinoma kolorektal dengan uji statistik $X^2: 4,377$, $p= 0,053$

DISKUSI

Dari penelitian ini, penulis mendapatkan bahwa penderita adenokarsinoma kolorektal terbanyak dijumpai pada usia lebih dari 60 tahun (34,4%), terdapat 4,7% penderita mempunyai usia kurang dari 30 tahun, dimana rata-rata usia penderita adalah 52,3 tahun. Usia penderita adenokarsinoma kolorektal pada penelitian ini relatif lebih muda dibandingkan dengan negara-negara maju yang 80-90% penderitanya berada pada usia diatas 60 tahun.

Adenokarsinoma kolorektal yang terjadi pada usia muda dihubungkan dengan derajat diferensiasi yang lebih jelek, dan prognosis yang lebih buruk. Kanker kolorektal berhubungan dengan kebiasaan makan makanan yang berkalori tinggi, kaya daging dan lemak hewani, biasanya terjadi di negara barat, disamping itu berhubungan pula dengan alkohol dan merokok.^{1,13} Pada penelitian ini belum diketahui resiko terjadinya adenokarsinoma kolorektal pada usia muda, mungkin disebabkan oleh jenis dan kualitas makanan. Untuk itu perlu dilakukan penelitian yang lebih lanjut.

Perbandingan beberapa negara di dunia dengan insiden kanker tinggi menunjukkan lokasi kanker yang lebih sering pada rektosigmoid sedangkan negara dengan insiden yang rendah menunjukkan lokasi yang lebih sering pada kolon sebelah kanan.^{10,17} Pada penelitian ini didapatkan lokasi tumor pada rektum 53,1%, lebih banyak bila dibandingkan dengan lokasi tumor pada kolon yaitu 46,9%. Ini sesuai dengan apa yang didapatkan oleh Robert serta Halvorsen dan Seim.^{10,16}

Perbedaan ekspresi Cox-2 pada Derajat Diferensiasi

Cox-2 dilaporkan meningkat secara tajam hampir 85 % pada karsinoma kolorektal yang sporadis pada manusia.^{7,9} Pada penelitian ini, ditemukan 47 dari 64 kasus (73,4%) adenokarsinoma kolorektal dengan derajat diferensiasi baik dan 17 kasus (26,6%) dengan derajat diferensiasi jelek. Pemeriksaan imunohistokimia Cox-2 yang dikerjakan pada sampel didapatkan sebanyak 46 (71,9%) dengan Cox-2 positif dan sebanyak 18 (28,1%) dengan Cox-2 negatif.

Pada penelitian ini menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna ekspresi Cox-2 pada derajat diferensiasi baik (*low grade*) dan derajat diferensiasi yang jelek (*high grade*)

pada uji statistik dengan $X^2=2,500$, $p= 0,114$. Hasil ini mungkin disebabkan karena jumlah sampel yang bisa dievaluasi sedikit yaitu sebanyak 64 sampel tetapi masih sesuai dengan hasil penelitian Wu dkk.¹⁸ Derajat diferensiasi tumor yang lebih jelek (*high grade*) berhubungan dengan sifat tumor yang lebih agresif dan prognosis yang lebih buruk.^{1,11,18}

Peneliti lain seperti Hull dkk, (2000) meneliti 54 kasus mendapatkan tidak ada hubungan antara ekspresi Cox-2 dengan luasnya penyebaran sel-sel tumor dan derajat diferensiasi ($p= 0,97$).²²

Perbedaan ekspresi Cox-2 pada kedalaman infiltrasi

Pada penelitian ini didapatkan kedalaman infiltrasi kanker kolorektal (T) dengan pewarnaan imunohistokimia Cox-2 pada 54 sampel yang dioperasi menunjukkan pada stadium T1-T2 ekspresi Cox-2 positif sebanyak 50%. Sedangkan pada kedalaman T3-T4 dari infiltrasi kanker kolorektal menunjukkan 76,1% sampel positif ekspresi Cox-2.

Secara statistik didapatkan hasil bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna dan hal ini berbeda dengan penelitian Xiong Bin dkk (2005)¹⁴. Ini mungkin disebabkan jumlah sampel yang sedikit. Pada penelitian ini ditemukan 8 kasus (15%) dengan kedalaman infiltrasi sel-sel ganas T1-T2 dan 46 kasus (85%) dengan kedalaman infiltrasi T3-T4. Hal tersebut menunjukkan bahwa pasien karsinoma kolorektal yang datang ke rumah sakit umumnya sudah berada dalam stadium lanjut.

Tidak ada hubungan yang signifikan antara ekspresi Cox-2 dengan umur, jenis kelamin dan derajat diferensiasi ($p>0,05$).¹⁴

Perbedaan ekspresi Cox-2 pada stadium Dukes

Pada pulasan imunohistokimia Cox-2 menunjukkan pada stadium A 2(33,3%) dengan ekspresi Cox-2 positif dan 4 (66,7%) negatif. Pada stadium Dukes B 22 (73,3%) positif sedangkan 8 (26,7%) negatif. Pada stadium Dukes C dan D 16 (84,2%) positif dan 3 (15,8%) negatif. Pulasan imunohistokimia Cox-2 cenderung positif pada stadium B,C dan D. Secara statistik tidak ada perbedaan signifikan. Dengan uji statistik nilai $X^2= 4,377$ dan $p= 0,053$. Hasil ini berbeda dengan hasil penelitian Masunaga R. Dkk (2000) yang dalam penelitiannya menemukan

ada hubungan yang bermakna antara ekspresi Cox-2 dengan stadium Dukes²² ($p=0,0002$) tetapi masih sama dengan hasil penelitian Joo dkk (2002).²³ Ekspresi Cox-2 berhubungan dengan peningkatan pertumbuhan dan metastase sel tumor.^{6,17}

KESIMPULAN

Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna antara ekspresi Cox-2 pada berbagai derajat diferensiasi, kedalaman infiltrasi dan stadium Dukes. Hal ini mungkin disebabkan karena sampel yang bisa dievaluasi sedikit.

DAFTAR PUSTAKA

1. Odze RD, Godblum JR, Crawford JN. Surgical Pathology of the Gastrointestinal tract. Liver, Biliary tract and Pancreas. Philadelphia : Saunders; 2004. p 431.
2. Lim SJ, Lee SH, Yung JS, Song JY. Cytoplasmic Expression of HuR is Related to Cyclooxygenase-2 Expression in colorectal Cancer. *Cancer Res Treat*, 2009; 41:87-92.
3. Direktorat Jendral Pelayanan Medik Depatemen Kesehatan RI, Badan Registrasi Kanker, Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Indonesia, Yayasan Kanker Indonesia. Data Histopatologi Kanker di Indonesia 2006. Jakarta: 2006
4. Coleman WB, Gregory TJ. Essential Concepts in Molecular Pathology. 2010; chap. 19:243-61.
5. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster J C. Robins and Cotrans, Pathologic Basis of Disease. 8th Edition. Philadelphia: Saunders; 2010.
6. Naghshvar F, Torabizadeh Zh, Emadian O, Enami K, and Gharhemani M. Correlation of Cyclooxygenase 2 Expression and Inflammatory. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 2009;12:98-100.
7. Karnes WE Jr, Shattuck-Brant R, Lawrence JB. Reduced Cox-2 Protein in Colorectal Cancer with Defective Mismatch Repair. *Cancer Research*. 1988;58:5473-7.
8. Soumaro TL, Vetake H, Higvci T, Takag Y, Enomoto M, and Sugihara K. Cox-2 Expression a Significant Prognostic Indicator for Patient with Colorectal. *Cancer Res*. 2004;10:8465-71.
9. Klintrup K, Makinen JM, Kauppila S, Vare PO and Mikko J. Inflammation and Prognosis in Colorectal Cancer. *Eur. J. Cancer*. 2005;4:2645-54.
10. Halvorsen TB, Seim E. Degree of differentiation in colorectal adenocarcinomas: a multivariate analysis of the influence on survival. *J. Clin. Pathol*. 1988; 532-7
11. Rosai J. Rosai and Ackerman's, Surgical Pathology. ninth edition, Philadelphia: Mosby; 2004. p. 2811.
12. Staton MS, and Albers DS. Current application of Selective Cox-2 inhibitors in Cancer Prevention and Treatment. *Oncology*. 2002;16:37-51.
13. Stanley HR, Aaltonen LA. Pathology and Genetics of Tumours of the Digestive System. WHO, Lyon: IARC Press; 2000. p.103-125.
14. Bin X, Sun TJ, Hu WD, Cheng FL, Mao M, Zhou YF. Expression of cyclooxygenase-2 in colorectal cancer and its clinical significance. *World J Gastroenterol*. 2005; February 28, Volume 11 Number 8
15. Fosslien E. Review: Molecular Pathology of Cyclooxygenase-2 in Cancer-induced Angiogenesis. *Annals of Clinical and Laboratory Science*. 2001;vol 31, no 4
16. Cooper HS, Intestinal Neoplasms. In: Mills SE, Carter D, Greenson JK, Oberman HA, Reuter V, Stoler MH, Editors. Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology. vol 1, 4th. Ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2004. p. 1573.
17. Robert HR, Robert EP, Gerant T W, Leslie H S. Atlas Of Tumor Pathology, Tumors of The Intestines. Third Series, AFIP: Washington DC; 2003. p 133-147
18. Wu CY, Lee WH, Wang JY, Chiang H, Chang JL, Tsai W C, et al. Tissue Microarray-determined Expression Profiles of Cyclooxygenase-2 in Colorectal Adenocarcinoma: Association with Clinicopathological Parameters. *Chinese Journal of Physiology*. 2006;49:298-30
19. Hong K S, Yunus A G, Ithnin H, Talib2 A and Seow F.H. Expression of Beta-catenin, COX-2 and iNOS in Colorectal Cancer: Relevance of COX-2 and iNOS Inhibitors for Treatment in Malaysia. *Asian Journal of Surgery*. 2004; Vol 27. no 1.

20. Hull M A, Stephen W F, Keith SC, Scott N, Giles JT and Lodge JP. Cyclooxygenase-2 expression in colorectal cancer liver metastase. *Clinical and Experimental Metastasis*. 2000;18:21-7
21. Chen WS, Wei JS, Liu JM, Hsiao M, Lin J K and Yang KW. Tumor invasiveness and liver metastasis of colon cancer correlated with Cox-2 expression and inhibited by a Cox-2-selective inhibitor. etodolac. *Int. J. Cancer*. 2001; 91:894-9
22. Masunaga R, Kono H, Kumar DD, Ohno S, Shibakita M, Kinugasa S et al. Cyclooxygenase-2 Expression Correlates with Tumor Neovascularization and Prognosis in Human Colorectal Carcinoma Patients. *Clinical Cancer Research*. 2000;6:4064-8
23. Joo YE, Kim H S, Lee, WS, Park C H, Park C S. Expression of Cyclooxygenase-2 protein in colorectal carcinomas. *Int. J. of Gastrointestinal Cancer*. 2002; Vol 31, no1-3:147-54.