

COX-2, ALOX12 ve iNOS genlerinin nazal polipozisteki rolü

The role of COX-2, ALOX12 and iNOS genes in nasal polyposis

Dr. Volkan Ergin,¹ Dr. Akın Yılmaz,¹ Dr. Fatih Çelenk,² Dr. Sabri Uslu,² Dr. Fikret İleri,² Dr. Adnan Menevşe¹

¹Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye;

²Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Amaç: Çalışmamızda çeşitli enflamatuvar hastalıklarda etkileri bilinen siklooksijenaz-2 (COX-2), arachidonat 12-lipoksijenaz (ALOX12) ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) genlerinin nazal polip (NP) olgusunda etkisinin olup olmadığı araştırıldı ve enflamasyonun oluşumuna ya da sürdürülmesine nasıl bir katkıda buldukları gösterildi.

Hastalar ve Yöntemler: On hastadan (4 kadın, 6 erkek; ort. yaş 40.2 yıl; dağılım 21-54 yıl) elde edilen NP ve sağlıklı nazal mukozada dokularında, gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Real-time PCR) yöntemi ile COX-2, ALOX12 ve iNOS genlerinin mRNA ifadenme düzeyleri araştırıldı.

Bulgular: Nazal poliplerde gözlenen COX-2 ifadenmesinin mRNA düzeyinin kontrol dokusuna göre kısmen artmış olduğu saptandı ($p>0.05$). ALOX12 ifadenmesinin NP'lerde kısmen düştüğü ($p>0.05$), iNOS mRNA ifadenme düzeyinin ise istatistiksel açıdan önemli ölçüde arttığı bulundu ($p<0.05$).

Sonuç: Bu veriler, üst solunum yollarında iNOS gen ürünü nitrik oksit (NO) yalnızca fizyolojik rol oynamadığı, ayrıca NP'de enflamatuvar süreçler ile de ilişkili olduğunu akla getirmektedir.

Anahtar Sözcükler: ALOX12; COX-2; iNOS; nazal polipozis; gerçek zamanlı PCR.

Objectives: The aim of this study was to investigate whether cyclooxygenase-2 (COX-2), arachidonate 12-lipoxygenase (ALOX12) and inducible nitric oxide synthase (iNOS) which are well-known mediators in inflammatory process play a role in nasal polyposis (NP) and to show their roles in initiation and progression of inflammation.

Patients and Methods: We investigated the expression levels of COX-2, ALOX12 and iNOS genes by Real-time polymerase chain reaction (PCR) method in NP and healthy nasal mucosa tissues obtained from 10 patients (4 females, 6 males; mean age 40.2 years; range 21 to 54 years).

Results: The mRNA levels of COX-2 expression observed in NP was found to be relatively increased, compared to the control tissue ($p>0.05$). The ALOX12 levels were relatively decreased ($p>0.05$), while the expression level of iNOS mRNA was significantly higher in NP tissue ($p<0.05$).

Conclusion: These data suggest that nitric oxide (NO), a gene product of iNOS, may play a physiological role in the upper airways and also NO is associated with inflammatory processes in the airways.

Key Words: ALOX12; COX-2; iNOS; nasal polyposis; real-time PCR.

Nazal polip (NP) olgusu, burun ve paranasal sinüslerde mukoz membranların kronik enflamasyonu şeklinde tanımlanmaktadır. Özellikle eozinofil gibi enflamatuvar hücre gruplarının ve salınan kimyasal araçların birikmesi ile oluşan mukozal ödem, yerçekimine uygun olarak burun boşluğuna veya paranasal sinüslere sarkan benign karakterli kitleleri meydana getirir.^[1] Burun tıkanıklığı, burun akıntısı, koku alma bozukluğu ve baş ağrısı NP'lerin en belirgin semptomlarıdır. Toplumda görülme sıklığı %2-5 arasında değişmekte olup, erkeklerde kadınlardan 2-4 kat daha fazla görülmektedir.^[1,2] Nazal polipler multifaktöriyel bir hastalık olarak kabul edilmektedir. Günümüze kadar NP oluşumunun altında yatan nedenler hakkında kronik enfeksiyon, aspirin duyarlılığı, epitel hücre hasarları gibi birçok mekanizma gündeme getirilmiş, ancak poliplerin etyopatogenezi hakkında halen kesin bir bilgi elde edilememiştir. Bu konudaki genel kanı, nazal poliplerin "birçok hastalığın ortak son noktası", "bir hastalık değil, hastalığa bir yanıt olduğu" yönündedir.^[2] Enflamatuvar bir olgu olması nedeniyle nazal polipler enflamasyonun oluşmasına aracılık eden hücreler ve moleküller açısından sıklıkla irdelenmektedir. Enflamasyon: enfeksiyon, alerjen veya yaralanmalar gibi çeşitli uyaranlara karşı oluşturulan bir doku yanıtıdır. Hasarlı bölgeye artan kan akışı, ateşlenme, kızarıklık, şişme-kabarma ve ağrı ile karakterize bir olgudur. Çalışmamıza konu olan cyclooxygenase-2 (COX-2) ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) genleri ile çeşitli araşidonat lipoksijenaz (ALOX) genleri enflamasyon sürecine etkileri bakımından önemli roller üstlenirler. COX-2 ve ALOX enzimleri 20 karbonlu bir yağ asiti olan araşidonik asidi (AA), enflamasyonun gelişim sürecine katkıda bulunan çeşitli biyoaktif metabolitlere dönüştürür. Ayrıca iNOS ve dolayısıyla iNOS ürünü olan nitrik oksit (NO) enflamasyonun bazı aşamalarında etkindir. Çalışmamızın amacı çeşitli enflamatuvar hastalıklarda etkileri kanıtlanmış olan bu genlerin, NP olgusunda etkisinin olup olmadığını araştırmak ve enflamasyonun oluşumuna ya da sürdürülmesine nasıl bir katkıda bulunduğunu göstermektir.

HASTALAR VE YÖNTEMLER

Gazi Üniversitesi yerel etik kurulu tarafından onaylanan ve Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı'na başvuran aspirin duyarlılığı ve astımı olmayan NP'li 10 hasta (4 kadın, 6 erkek; ort yaş 40.2 yıl; dağılım 21-54 yıl) çalışmaya dahil edildi. Hastalardan

polipektomi uygulanarak steril bir şekilde alınan NP dokuları ve aynı hastaya ait kontrol (nazal mukoza) dokuları, sıvı nitrojen içerisinde taşınarak, kullanılmaya kadar -80 °C'de muhafaza edildi. Total RNA izolasyonu, üreticinin önerdiği protokol doğrultusunda guanidyum tiosiyanat-fenol-kloroform (peqGOLD TriFast; Peqlab, Erlangen, Almanya) kullanılarak gerçekleştirildi. Elde edilen total RNA'nın saflığı ve miktarı spektrofotometre (Nano-Drop, Thermo Scientific, ABD) ile ölçüldü. Total RNA'dan 1 µg alındı ve rastgele (random) hegzamerler kullanılarak, ilk zincir (first strand) cDNA Sentez Kiti (Roche Diagnostics, Mannheim, Almanya) yardımıyla cDNA sentezi yapıldı. Daha sonra her bir örneğin ilgili genlerinin mRNA ifadenme düzeylerini ölçmek için, 1 µl cDNA, 0,5 µl ileri (F) ve geri (R) primerler (COX-2 F:5'-TCACGCATCAGTTTTCAAGA-3' R:5'-TCACCGTAAATATGATTTAAGTCCAC-3', ALOX12 F:5'-CCAGTATCACTTGCTGAACACG-3' R:5'-GATATGGGGGATCAGGA ACTT-3', iNOS F:5'-TCCTGGTTTGACTGTCCTTACC-3' R:5'-TTGAGCTCAGATGTTCTTCACGT-3', HPRT F:5'-AACCTCCTCTTGCTGCTG-3' R:5'-AATGGAGAGAGGGTGGCTCT-3), 1 µl LC FastStart DNA SYBR Green I karışımı, 1,2 µl MgCl₂ ve toplam hacim 10 µl olacak şekilde saf su karıştırılarak gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Real-time PCR) reaktanları hazırlandı. Real-time PCR cihazında (LightCycler 1.5, Roche Diagnostics, Mannheim, Almanya) 95 °C'de 10 dakikalık ön inkübasyonu takiben, 55 tekrarlı 95 °C 10 saniye, 60 °C 20 saniye, 60 °C 1 saniyelik döngü sonucu elde edilen döngü eşiği (threshold cycle; Ct) değerleri kaydedildi. COX-2 ALOX12 ve iNOS mRNA ifadenmeleri HPRT mRNA düzeyine göre normalize edildikten sonra relatif gen ifadenmesinin istatistiksel sonuçları REST programı (Relative Expression Software Tool) kullanılarak "Pfaffl" matematiksel yöntemi ile hesaplandı.^[3]

BULGULAR

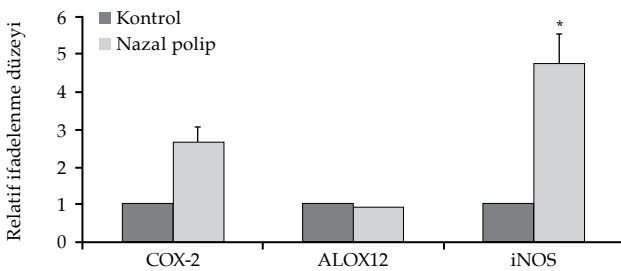
Çalışmamızda COX-2, ALOX12 ve iNOS genlerinin NP olgusundaki ifadenme seviyeleri araştırıldı ve genlerin ürünü olan enzimlerin katalizlediği tepkimeler sonucu oluşturulan metabolitlerin, enflamasyonun oluşumuna ya da sürdürülmesine nasıl bir etkide bulunduğu gösterilmek istendi. Araşidonik asit metabolizmasının önemli bileşenlerinden olan COX-2 ve ALOX12 geninin ifadenmesi, diğer birçok enflamasyon ve kanser olgularında kat kat artarken, çalışmamızda COX-2 için 2.6 katlık

artış ($p=0.219$) ve ALOX12 için 1.1 katlık bir azalma ($p=0.988$) gözlenmesi NP olgusunun karmaşıklığını vurgulamaktadır ve diğer hastalıklardan farklı olarak ele alınmasını gerektirmektedir. Araştırılan bir diğer gen olan iNOS ise NP dokusunda, sağlıklı nazal mukoza dokusuna göre yaklaşık 4.8 katlık bir artış göstermiştir ($p=0.042$; Şekil 1). Bu veri NP olgusunda NO'ya bağlı olarak gelişen serbest radikal hasarının varlığını doğrulamaktadır.

TARTIŞMA

Eozinofil gibi enflamatuvar hücrelerin birikmesi ve ödem ile karakterize edilen NP'ler, enflamasyonun oluşmasına aracılık eden moleküller açısından sıklıkla irdelenmektedir.^[4-7] Bu çalışmada, enflamatuvar yönden etkinlikleri bilinen COX-2, iNOS ve ayrıca ALOX12 genlerinin NP dokusundaki ifadenme seviyeleri araştırılmıştır.

İlk olarak COX-2'nin NP oluşumundaki rolüne değinecek olursak, bu konuda çok sayıda ve çelişkili literatür verileri ile karşılaşmaktayız. Birçok enflamatuvar hastalıkta ifadenmesi kat kat artan COX-2 enzimi, NP gibi yine enflamatuvar bir olguda düşük seviyede bulunabilmektedir.^[4-6] Buna karşın bazı araştırmacıların verileri ise NP dokusunda COX-2 ifadenmesinin arttığı ya da değişmediği yönündedir.^[7,8] Adamusiak ve ark.^[9] aspirin duyarlılığı olan bireylerin NP'lerinde, sağlıklı nazal mukoza dokusuna göre daha düşük COX-2 ifadenmesi gözlemişlerdir. Schmid ve ark.^[10] ile Roca-Ferrer ve ark.^[11] aspirin duyarlılığı olan bireylerden alınan NP'lerde, aspirin duyarlılığı olmayan bireylere oranla daha düşük prostaglandin içeriği saptamışlardır. Aspirin duyarlılığı olan hastalarda gösterilen düşük



Şekil 1. Astım ve aspirin duyarlılığı olmayan hastaların nazal polip ve sağlıklı kontrol dokularındaki cyclooxygenase-2 (COX-2), arasıdonat 12-lipoksijenaz (ALOX12) ve induklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) genlerinin göreceli mRNA ifadenme seviyeleri. Genlerin kontrol dokusundaki ifadenme düzeyi 1 birim kabul edilerek, NP dokusundaki değişimleri gösterilmiştir. * iNOS'un nazal polip dokusundaki artışı istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p=0.042$).

COX-2 ifadenmesi çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilen düşük seviyede PGE2 üretimini açıklamaktadır.^[11-13] Öte yandan çeşitli araştırmacılar tarafından COX-2'nin NP dokusunda, enflamatuvar tabiatına uygun olarak yüksek seviyede ifadelendiği dile getirilmiştir. Gosepath ve ark.^[14] NP'lerde COX-2 ifadenmesinin arttığını bildirmişlerdir. Bu sonuç Pinto ve ark.^[15] bulguları ile de uyumludur. Owens ve ark.^[16] aspirin duyarlılığı olan ve aspirin duyarlılığı olmayan hasta gruplarının NP epitel hücrelerinde ve submukozal bezlerinde artmış COX-2 ifadenmesi gözlemişlerdir. Liu ve ark.^[17] immünohistokimyasal olarak inceledikleri NP fibroblast hücrelerinde sağlıklı nazal fibroblastlara nazaran daha fazla COX-2 proteini gözlemişlerdir.

COX-2 ifadenmesinin NP dokusunda arttığı yönündeki görüşler çalışmamızın sonuçları ile uyumludur. Çalışmamızda, NP dokusunda kontrol dokusuna oranla 2.6 katlık artış gözlemledik. Henüz, NP çalışmalarında COX-2'nin neden farklı düzeylerde ifadelendiğine ilişkin moleküler açıdan somut bir neden ortaya konulamamaktadır. COX-2'nin enflamatuvar ve anti-enflamatuvar etkiye sahip olabildiğini göz önünde bulundurursak, enflamasyonun aşamasına uygun olarak COX-2 geninin ifadenmesi düzenleniyor diyebiliriz. Gilroy ve ark.^[18] yaptıkları bir çalışmada, sıçanlarda enflamasyonu indükleyerek ilk iki saat içerisinde maksimum COX-2 ifadenmesi ve PGE2 üretimi gözlemişlerdir. Yazarlar, COX-2'nin enflamatuvar özelliğine uygun olan bu duruma karşın, 48 saat sonra COX-2 ifadenmesi seviyesinde ikinci bir yükselme, ancak düşük seviyede PGE2 oluşumu gözlemlemiş ve bu sırada anti-enflamatuvar etkili prostaglandinlerden PGJ2'nin maksimum seviyede üretildiğini tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Bu veriler COX-2'nin enflamasyonun başlatılması ve çözülmesi sırasında yüksek seviyede ifadelendiğini, ancak her iki durumda farklı fizyolojik etkide bulunduğunu göstermektedir.^[18] COX-2, PGE2 aracılığıyla enflamasyonun oluşturulması aşamasında bir proenflamatuvar gibi davranırken, PGJ2 aracılığı ile de enflamasyonun çözülmesi sırasında bir anti-enflamatuvar olarak davranmaktadır.^[19] Bu durum, NP'lerde COX-2'nin ifadenme profiline ilişkin çelişkili verilerin nedeni olabileceğini akla getirmektedir, ayrıca COX-2'nin anti-enflamatuvar etki gösteriyor olması, çeşitli durumlarda COX-2 inhibitörü ilaçların kullanımına rağmen, tedavide sonuç alınamamasını açıklayabilir. Anti-enflamatuvar işlev sergilediği

bir sırada COX-2'yi inhibe etmek, enflamasyonun devam etmesine neden olacaktır.

Araşidonik asit metabolizmasında etkili olan bir diğer genin, ALOX12'nin NP olgusundaki rolüne değinecek olursak, bu konuda çok sınırlı literatür bilgisiyle karşılaşmaktayız. ALOX5, ALOX15 gibi enflamasyon olgularında sıklıkla çalışılan genlere karşın, ALOX12'ye dair bilgiye kanser araştırmaları dışındaki çalışmalarda pek fazla rastlanmamaktadır.

ALOX12'nin ve majör ürünü olan 12-HETE (12-Hydroxyeicosatetraenoic acid)'nin solunum yolu enflamasyonlarındaki rolü henüz tam olarak açıklık kazanmamıştır. Owens ve ark.^[16] yaptıkları çalışmada immünohistokimyasal olarak, NP epitelinde ve submukozal bezlerinde artmış ALOX12 ifadenmesi bildirmişlerdir. Buna karşın Pinto ve ark.^[15] 100 mg sağlıklı nazal mukoza dokusunda 42.4 ng, NP dokusunda ise 10.6 ng ALOX izoformları tarafından oluşturulan metabolik ürünleri tespit etmişlerdir, dolayısıyla buradan NP'lerde ALOX izoformlarının düşük seviyede ifadeleniği sonucu çıkarılmaktadır. Yapılan bir çalışmada ALOX12 ürünü 12-HETE'nin bağırsak epitelinde enflamasyon bölgesine nötrofil göçünü sağladığı gösterilmiştir.^[20] Bir diğer çalışmada ise Mrsyn ve ark.^[21] bağırsak enfeksiyonlarına bağlı gelişen enflamatuvar yanıtta ALOX12'yi inhibe ederek bölgeye nötrofil göçünü engellediklerini gözlemlemişlerdir. Nazal poliplerin eozinofilik bir enflamatuvar olgu olduğu göz önünde bulundurulursa, poliplerdeki kısmen düşük ALOX12 ifadenmesi bu veriler ile doğrulanmaktadır. Çalışmamızda NP dokusundaki ALOX12 ifadenmesinin sağlıklı nazal mukoza dokusuna göre 1.1 katlık azalma gösterdiğini belirledik.

Son olarak iNOS ve NP ilişkisini ele alacak olursak, iNOS'nin ve dolayısıyla nitrik oksitin nazal mukoza ve poliplerdeki varlığı birçok çalışma ile gösterilmiştir. Watkins ve ark.^[22] immünohistokimyasal ve semi-kantitatif olarak, polipin epitel yüzeyinde lokalize olmak üzere artmış iNOS ifadenmesi göstermişlerdir. Ramis ve ark.^[23] üst solunum yollarının hem sağlıklı hem de enflamatuvar durumlarında NOS aktivitesi gözlemişlerdir, ancak hasta ve sağlıklı dokular arasındaki farkın ifadelenen NOS tipleri olduğunu belirlemişlerdir. Sağlıklı nazal mukozada total NOS miktarının tamamı enzimin konstitütif formları iken, NP dokusunda total NOS miktarının %80'i iNOS geriye kalan %20'si ise konstitütif NOS enzimleridir.

Bu veri NO'nun solunum yollarında hem fizyolojik rolünün hem de enflamatuvar rolünün olduğunu göstermektedir.^[23]

Çalışmamızda, NP dokusunda iNOS mRNA ifadenmesinin, kontrol dokusuna oranla, istatistiksel açıdan anlamlı bir şekilde 4.8 kat arttığı gözlemlendi (p=0.042). iNOS, proenflamatuvar uyarıları takiben çeşitli hücrelerde ifadelenerek enflamasyonun tesis edilmesinde rol oynar. Bakteriyostatik etkisi, vazodilatasyon, eozinofillerin enflamatuvar bölgeye davetinin ve işlevlerinin doğrudan düzenlenmesi, histamin salınımının sağlanması gibi NO'nun çeşitli özellikleri NP oluşumu ile yakından ilişkilidir.^[24] Ayrıca NP dokusunda NO seviyesinin artmış olması ve buna karşın antioksidan enzimlerin ifadenmesinde azalma görülmesi, NP'lerde serbest radikal hasarının varlığını düşündürmektedir.^[25,26] Bu nedenle antioksidan terapi, NP tedavisinde veya ameliyat sonrası tekrar oluşumların engellenmesinde etkili olabilir.

Sonuç olarak, NP oluşumunun moleküler temeline dair kesin bir şey söylemek şu an için oldukça güç görünmektedir. Çok yönlü moleküler çalışmaların yapılması ve çalışılan polip dokularında bir standardın yakalanmasıyla daha homojen sonuçlar elde edilebilecek ve böylece NP tedavisinde yeni ve daha kesin yaklaşımlar gündeme gelebilecektir.

Çıkar çakışması beyanı

Yazarlar bu yazının hazırlanması ve yayınlanması aşamasında herhangi bir çıkar çakışması olmadığını beyan etmişlerdir.

Finansman

Çalışmanın etik kurul onayı alınmış (01/2007-63 numaralı proje) ve Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAP) tarafından maddi olarak desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Kitapçı F, Muluk NB, Atasoy P, Koç C. Nazal polipler. Van Tıp Dergisi 2005;12:212-22.
2. Stammberger H. Rhinoscopic surgery. In: Settigane GA, Lund VJ, Bernstein JM, Tos M, editors. Nasal polyps: Epidemiology, pathogenesis and treatment. 1. Rhode Island: Oceanside Pub; 1997. p. 170.
3. Pfaffl MW, Horgan GW, Dempfle L. Relative expression software tool (REST) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. Nucleic Acids Res 2002;30:e36.
4. Jedrzejczak-Czechowicz M, Lewandowska-Polak A, Bienkiewicz B, Kowalski ML. Involvement of 15-lipoxygenase and prostaglandin EP receptors in

- aspirin-triggered 15-hydroxyeicosatetraenoic acid generation in aspirin-sensitive asthmatics. *Clin Exp Allergy* 2008;38:1108-16.
5. Yoshimura T, Yoshikawa M, Otori N, Haruna S, Moriyama H. Correlation between the prostaglandin D(2)/E(2) ratio in nasal polyps and the recalcitrant pathophysiology of chronic rhinosinusitis associated with bronchial asthma. *Allergol Int* 2008;57:429-36.
 6. Higashi N, Mita H, Ono E, Fukutomi Y, Yamaguchi H, Kajiwaru K, et al. Profile of eicosanoid generation in aspirin-intolerant asthma and anaphylaxis assessed by new biomarkers. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125:1084-1091.
 7. Mastalerz L, Sanak M, Gawlewicz-Mroccka A, Gielicz A, Cmiel A, Szczeklik A Thorax. Prostaglandin E2 systemic production in patients with asthma with and without aspirin hypersensitivity. *Thorax* 2008;63:27-34.
 8. Szczeklik A, Sladek K, Dworski R, Nizankowska E, Soja J, Sheller J, et al. Bronchial aspirin challenge causes specific eicosanoid response in aspirin-sensitive asthmatics. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:1608-14.
 9. Adamusiak AM, Stasikowska-Kanicka O, Lewandowska-Polak A, Danilewicz M, Wagrowska-Danilewicz M, Jankowski A, et al. Expression of arachidonate metabolism enzymes and receptors in nasal polyps of aspirin-hypersensitive asthmatics. *Int Arch Allergy Immunol* 2012;157:354-62.
 10. Schmid M, Göde U, Schäfer D, Wigand ME. Arachidonic acid metabolism in nasal tissue and peripheral blood cells in aspirin intolerant asthmatics. *Acta Otolaryngol* 1999;119:277-80.
 11. Roca-Ferrer J, Garcia-Garcia FJ, Pereda J, Perez-Gonzalez M, Pujols L, Alobid I, et al. Reduced expression of COXs and production of prostaglandin E(2) in patients with nasal polyps with or without aspirin-intolerant asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2011;128:66-72.
 12. Pérez-Novo CA, Watelet JB, Claeys C, Van Cauwenberge P, Bachert C. Prostaglandin, leukotriene, and lipoxin balance in chronic rhinosinusitis with and without nasal polyposis. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115:1189-96.
 13. Mullol J, Fernández-Morata JC, Roca-Ferrer J, Pujols L, Xaubet A, Benitez P, et al. Cyclooxygenase 1 and cyclooxygenase 2 expression is abnormally regulated in human nasal polyps. *J Allergy Clin Immunol* 2002;109:824-30.
 14. Gosepath J, Brieger J, Gletsou E, Mann WJ. Expression and localization of cyclooxygenases (Cox-1 and Cox-2) in nasal respiratory mucosa. Does Cox-2 play a key role in the immunology of nasal polyps? *J Investig Allergol Clin Immunol* 2004;14:114-8.
 15. Pinto S, Gallo O, Polli G, Boccuzzi S, Paniccia R, Brunelli T, et al. Cyclooxygenase and lipoxygenase metabolite generation in nasal polyps. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1997;57:533-7.
 16. Owens JM, Shroyer KR, Kingdom TT. Expression of cyclooxygenase and lipoxygenase enzymes in nasal polyps of aspirin-sensitive and aspirin-tolerant patients. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2006;132:579-87.
 17. Liu CM, Hong CY, Shun CT, Hsiao TY, Wang CC, Wang JS, et al. Inducible cyclooxygenase and interleukin 6 gene expressions in nasal polyp fibroblasts: possible implication in the pathogenesis of nasal polyposis. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2002;128:945-51.
 18. Gilroy DW, Colville-Nash PR, Willis D, Chivers J, Paul-Clark MJ, Willoughby DA. Inducible cyclooxygenase may have anti-inflammatory properties. *Nat Med* 1999;5:698-701.
 19. Scher JU, Pillinger MH. 15d-PGJ2: the anti-inflammatory prostaglandin? *Clin Immunol* 2005;114:100-9.
 20. Arakawa T, Nakamura M, Yoshimoto T, Yamamoto S. The transcriptional regulation of human arachidonate 12-lipoxygenase gene by NF kappa B/Rel. *FEBS Lett* 1995;363:105-10.
 21. Mrsny RJ, Gewirtz AT, Siccardi D, Savidge T, Hurley BP, Madara JL, et al. Identification of hepoxilin A3 in inflammatory events: a required role in neutrophil migration across intestinal epithelia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:7421-6.
 22. Watkins DN, Lewis RH, Basclain KA, Fisher PH, Peroni DJ, Garlepp MJ, et al. Expression and localization of the inducible isoform of nitric oxide synthase in nasal polyp epithelium. *Clin Exp Allergy* 1998;28:211-9.
 23. Ramis I, Lorente J, Roselló-Catafau J, Quesada P, Gelpí E, Bulbena O. Differential activity of nitric oxide synthase in human nasal mucosa and polyps. *Eur Respir J* 1996;9:202-6.
 24. Nussler AK, Billiar TR. Inflammation, immunoregulation, and inducible nitric oxide synthase. *J Leukoc Biol* 1993;54:171-8.
 25. Karlidağ T, İlhan N, Kaygusuz I, Keles E, Yalçın S, Yildiz M. Roles of free radicals, nitric oxide, and scavenging enzymes in nasal polyp development. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2005;114:122-6.
 26. Sagit M, Erdamar H, Saka C, Yalcin S, Akin I. Effect of antioxidants on the clinical outcome of patients with nasal polyposis. *J Laryngol Otol* 2011;125:811-5.