

EXPRESIÓN DE COX-2 Y BCL-2 EN LESIONES DE LIQUEN PLANO BUCAL Y REACCIONES LIQUENOIDES

Alven J Arreaza¹, Helen Rivera², María Correnti³

¹ Cátedra de Farmacología y Terapéutica Odontológica, Facultad de Odontología Universidad Central de Venezuela, Caracas.

² Laboratorio de Histopatología Instituto de Investigaciones Odontológicas "Raúl Vincentelli" Facultad de Odontología Universidad Central de Venezuela, Caracas.

³ Instituto de Investigaciones Odontológicas "Raúl Vincentelli" Facultad de Odontología Universidad Central de Venezuela, Caracas.

¹Corresponding author

AJA: arreazamedicinabucal@gmail.com +58-412-2525872
HR: riverahelen2@gmail.com +58-414-2461936
MC: tina.correnti@gmail.com +58-414-2773504

Resumen

El Liquen Plano Bucal y las Reacciones Liquenoides Bucales son condiciones inflamatorias de la mucosa bucal de naturaleza autoinmune con características clínicas e histológicas similares. Datos recientes sugieren que las Reacciones Liquenoides Bucales (RLB) tienen mayor porcentaje de transformación maligna que el Liquen Plano Bucal (LPB).

Objetivo: comparar la expresión de Bcl-2 y COX-2 en las lesiones de LPB y RLB.

Métodos: La población a estudiar consistió en 65 casos; 34 casos diagnosticados como RLB y 31 como LPB. En una evaluación retrospectiva se semicuantificó la inmunoreacción para los marcadores Bcl-2 y COX-2 (DAKO®) en laminas provenientes de bloques de parafina.

Resultados: 53% (18/34) de las muestras de RLB resultaron positivas para COX-2. Mientras que en el grupo de LPB el 81% de las muestras (25/31) resultaron positivas para COX-2. La prueba exacta de Fisher para la expresión de COX-2 reveló que existen diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos $P = 0,035$. Con respecto a la expresión de la proteína Bcl-2; 76% (26/34) de las muestras con RLB resultaron positivas en el inmunomarcaje, mientras que 97% (30/31) resultaron positivas en el grupo con LPB. La prueba exacta de Fisher para la expresión de bcl-2 reveló que existen diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos $P = 0,028$.

Conclusión: La expresión de Bcl-2 y COX-2 fue mayor y con una diferencia estadísticamente significativa en las lesiones de LPB cuando se comparó con las RLB.

Introducción

El Liquen Plano (LPB) es una entidad mucocutánea, relativamente frecuente, que puede presentar manifestaciones bucales. Tiene una variedad de presentaciones clínicas: lesiones papulo-reticulares, placas lineales, erosiones, úlceras, y menos frecuente; máculas hipercrómicas, hipocrómicas o mixtas. La prevalencia de esta condición es de 1-4% de la población mundial sin una predisposición racial aparente con predilección por el género femenino (1,2).

Por otra parte, la Reacción Liquenoide Bucal (RLB) es un término que se utilizan para describir lesiones clínica e histopatológicamente similares al LPB pero con un factor etiológico identificable, Las RLB tienden a ser unilaterales y erosivas, con un infiltrado linfocítico un poco más difuso, con más eosinófilos, plasmocitos y cuerpos citoides que el LPB aunque es frecuente encontrar características similares en las dos entidades. (1, 2, 3).

El potencial de malignización del LPB y las RLB es aún controversial. Datos recientes sugieren que las RLB tienen mayor porcentaje de transformación maligna que el LPB y aunque la asociación entre cáncer y LPB ha sido documentada en reportes científicos, no existe asociación entre el carcinoma de células escamosas y el Liquen Plano cutáneo (4,5,6).

La ciclooxigenasa 2 (COX-2) que es la forma inducible de esta enzima, juega un papel importante en la inflamación y en la carcinogénesis. La sobreexpresión de COX-2 es importante en el crecimiento de tumores, invasión y metástasis, angiogenesis, y en la inhibición de la apoptosis, todos pasos importantes en el desarrollo del cáncer. El incremento en la expresión de COX-2 ha sido reportado en lesiones precancerosas y en varias formas de cáncer, incluyendo en carcinoma de células escamosas y también en LPB (7).

La proteína Bcl-2 (B-cell lymphoma-2), descrito en 1984 por Tsujimoto y col (con la participación de Peter C. Nowell, quien describió el cromosoma Filadelfia) fue la primera proteína que se relacionó con traslocaciones y que se identificó en linfoma folicular. La proteína Bcl-2 se localiza en la membrana interna mitocondrial y en menor proporción en la membrana nuclear y el retículo endoplásmico y juega un papel fundamental en la protección celular contra la apoptosis. El crecimiento de los queratinocitos es regulado por un delicado balance entre moléculas que controlan la supervivencia celular como bcl-2 y la muerte celular como p53. Bcl-2 es una molécula antiapoptótica que esta inversamente relacionada con p53 ya que su expresión previene la apoptosis celular modulando la liberación de citocromo c por parte de la mitocondria (8, 9).

La importancia de la proteína Bcl-2 en la muerte celular y la apoptosis en varias enfermedades bucales como carcinoma de células escamosas, leucoplasia y otras displasias epiteliales así como LPB ha sido materia de estudio (10).

Los reportes sugieren que el LPB y/o las RLB son lesiones potencialmente malignas y que ambas lesiones pueden estar involucradas en el mantenimiento de la inflamación crónica, condición que puede llevar a la transformación del LPB y las RLB en carcinoma de células escamosas (11, 12). La expresión de Bcl-2 en LPB y RLB no está del todo establecida debido a reportes contradictorios (13).

El objetivo de este estudio es comparar la expresión de Bcl-2 y COX-2 en las lesiones de LPB y RLB.

Métodos

La población del estudio consistió en 65 casos, 34 diagnosticado con RLB and 31 casos de LPB del laboratorio de histopatología de la Facultad de odontología de la Universidad Central de Venezuela (UCV) durante los años 2003-2012. Todos los casos fueron clasificados histológicamente según las normas de Van der Waal and Van der Meij in 2003 (14).

Se obtuvieron secciones de tejido embebidas en parafina (3 μ m) se desparafinaron y la recuperación antigénica se llevó a cabo usando una solución comercialmente disponible (DAKO®, Carpintería, CA, USA), a pH 6 por una hora. La peroxidasa endógena fue bloqueada usando metanol y H₂O₂ al 3 % por 30 minutos. Se usaron anticuerpos primarios para bcl-2 clon 124 y para COX-2 clon CX-294 (DAKO®) a la dilución de 1:50 por 30 minutos, como sistema de detección se usó Envision® (DAKO®) y la inmunoreacción se visualizó usando diaminobenzidina (DAB) por 10 minutos. Se usaron también controles positivos y negativos adecuados.

Las láminas con el tejido se examinaron al microscopio óptico. La inmunoreacción se semicuantificó de acuerdo al número de células positivas en un campo de observación a 40X: < 1% de las células con marcaje positivo fue considerada negativa; (+) <30% de células positivas; (++) 30-70% de células positiva; (+++) > 70% de células positivas. Del mismo modo, la localización de la inmunoreacción fue examinada según su localización histológica en: basal, suprabasal y submucosa. La intensidad de la inmunotinción fue registrada como leve, moderada o fuerte.

El análisis estadístico fue realizado usando las pruebas exacta de Fisher, $p < 0.05$ fue considerada como estadísticamente significativa.

Resultados

La distribución de los grupos LPB y RLB según la edad fue de 59,53 SD \pm 11,74 en LPB y 56,97 SD \pm 15,06 en el grupo de RLB. Con respecto al género, la distribución fue de 79,41% (27/34) correspondiente al género femenino y 20,58% (7/34) al género masculino en el grupo de RLB y 84,64% (25/31) femeninos para el grupo de LPB, mientras que 19,35% (6/31) fueron del género masculino en dicho grupo.

La mucosa de la cara interna de los carrillos fue la localización anatómica más común, presentándose de forma bilateral en los pacientes del grupo de LPB y unilateral en el grupo de RLB.

Con respecto al análisis inmunohistoquímico, 53% (18/34) de las muestras de RLB resultaron positivas para COX-2. Mientras que en el grupo de LPB el 81% de las muestras (25/31) resultaron positivas para COX-2. La prueba exacta de Fisher para la expresión de COX-2 reveló que existen diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos $P = 0,035$.

En relación a la expresión de la proteína Bcl-2, 76% (26/34) de las muestras con RLB resultaron positivas en el inmunomarcaje, mientras que 97% (30/31) resultaron positivas para la proteína Bcl-2 en el grupo con LPB. La prueba exacta de Fisher para la expresión de Bcl-2 reveló que existen diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos $P = 0,028$.

La localización más frecuente del inmunomarcaje para Bcl-2 en el grupo con LPB fue el infiltrado inflamatorio en banda de la unión corión-epitelio presentándose solamente en dicha localización o concomitantemente en la submucosa (tabla 1) (figura 1 y 2). Del mismo modo la localización más frecuente del inmunomarcaje para COX-2 fue el infiltrado inflamatorio en banda en el grupo de muestras de RLB. Sin embargo, este marcador también se observó en la capa basal y en la submucosa. (tabla 1) (figura 3 y 4)

Con respecto a la extensión de la inmunoreacción por campo evaluado, la mayoría de las muestras de RLB positivas para ambos marcadores presentaron una extensión de menos de 30% (+), observándose en 4 casos para Bcl-2 (++) y en tres casos para COX-2 (++)). En relación a las muestras de LPB se presentó una extensión de inmunomarcaje que osciló entre (+) y (++) en la mayoría de los casos para ambos marcadores. En las muestras positivas para COX-2 no se observó extensión de (+++). Sólo en las muestras positivas para Bcl-2 se detectó una extensión de (+++): 7 casos con LPB y 5 con RLB. (tablas 2)

Referente a la intensidad de la inmunotinción, la mayoría de los casos presentaron una intensidad moderada para ambos marcadores, sin embargo la expresión de la proteína Bcl-2 fue intensa y extensa en ambas lesiones. (tabla 3)

Discusión

Con respecto a la distribución por edad y género en el presente estudio las mujeres de la quinta década de la vida fueron el género y la edad más afectada, estos datos coinciden con los reportes previos en la literatura con respecto a la epidemiología del LPB y las RLB (1, 2, 3). Referente a la localización anatómica, la mucosa de la cara interna de carrillos fue la más afectada en ambos grupos tal y como lo reseña la mayoría de los autores (1, 2, 3, 4). Del mismo modo, la aparición bilateral de las lesiones en el LPB fue la presentación clínica más frecuente tal como lo describen Carrozo y Thrope en el 2009 (1).

Se ha demostrado que la proteína Bcl-2 juega un papel importante en la etiopatogenia de algunas enfermedades inflamatorias autoinmunes, así como en neoplasias hematopoyéticas como el linfoma de células B, en la leucemia promielocítica aguda y en neoplasias no hematopoyéticas como el cáncer de páncreas de células beta (8).

La regulación de la muerte celular es fundamental en el mantenimiento de la inmunocompetencia. En la respuesta inflamatoria normal, las células inmunocompetentes se destruyen por apoptosis después de la fase aguda de la inflamación, pero en algunas enfermedades la inflamación continúa de forma recurrente (15).

El papel de la apoptosis en la eliminación de las células inflamatorias infiltradas se ha observado en varias enfermedades inflamatorias, como la vasculitis leucocitoclástica cutánea y la Enfermedad de Behçet (15). En los linfocitos B la sobreexpresión de Bcl-2 se ha relacionado con actividad antinuclear como ocurre en el lupus (16). La sobreexpresión de este oncogén parece desempeñar un papel en la transformación y desarrollo maligno de las enfermedades autoinmunes (15).

Las alteraciones del mecanismo apoptótico en el estadio de maduración y diferenciación linfocítica pueden relacionarse con episodios autoinmunes debido a la no eliminación de clones linfocíticos autoreactivos (15). La apoptosis periférica inadecuada de linfocitos CD4 produce un aumento de la supervivencia de los linfocitos T y aumenta la producción de autoanticuerpos (15).

El rol de la apoptosis es de suma importancia para la eliminación de los linfocitos autoreactivos y por ende para impedir la autoinmunidad. Los linfocitos que escapen a este proceso de selección durante su desarrollo, pueden ser controlados por células T reguladoras (Treg) que expresan el factor de transcripción Foxp3 (forkhead box P3) una proteína llamada escurfina, involucrada en la respuesta inmune y cuya deficiencia se ha asociado con la autoinmunidad (16, 17). La muerte celular regulada por la vía intrínseca de la apoptosis (vía Bcl-2) es relevante para el desarrollo normal y la función de estas células Treg. Las variaciones en la expresión de la familia Bcl-2 pueden incidir en la susceptibilidad relativa a muerte celular por parte de las células Treg, especialmente bajo ciertas señales de stress de importancia fisiopatológica, como los provocados por la presencia de glucocorticoides o la ausencia de ciertas citoquinas, ocasionando la falta de control sobre los linfocitos autoreactivos (16, 17).

Como se observa en los resultados del presente estudio; el mantenimiento de un infiltrado inflamatorio linfocítico en banda a nivel de toda la unión corión-epitelio que se observa en el LPB, RLB y otras enfermedades autoinmunes puede estar relacionado con la sobreexpresión de la proteína Bcl-2 y la capacidad que le imprime a éstas células de mantener una respuesta inflamatoria sin sufrir apoptosis, esta respuesta inflamatoria pasa por la producción de COX-2 y sus productos metabólicos derivados del ácido araquidónico, no solamente en ese

infiltrado, sino a lo largo de la capa basal e incluso en estratos epiteliales superiores. Ambas moléculas se han relacionado también con alteraciones genéticas que conllevan a la malignización (8, 18).

La proteína bcl-2 expresada en los linfocitos infiltrados puede permitirles escapar de la apoptosis y prolongar su supervivencia. Sin embargo, el presente estudio no permite determinar si el aumento de la expresión de bcl-2 es un intento para mantener la población de linfocitos activada frente a los factores etiológicos subyacentes (endógenos o exógenos) o si se trata de la alteración primaria. Son necesarios nuevos estudios para entender la importancia biológica y la significación clínica de las alteraciones linfocíticas de bcl-2 en la patogenia del LPB y RLB.

La inflamación juega un papel importante en la carcinogénesis de las enfermedades crónicas autoinmunes. La expresión de la enzima COX-2 es un evento normal en los procesos inflamatorios y está involucrada en los procesos de reparación tisular promoviendo la angiogénesis así como la proliferación y diferenciación celular, sin embargo, estos efectos pueden ser perjudiciales cuando la inflamación se hace crónica y persistente tal como ocurre en el LPB y las RLB (18).

La inflamación es común en el cáncer bucal, ésta ha sido asociada tanto a la formación como con el progreso del cáncer bucal. Polimorfismos a nivel del promotor de COX-2 pueden contribuir a la expresión diferencial de COX-2 y por ende a la variabilidad y susceptibilidad para el desarrollo de cáncer. En la cavidad bucal, distintos tipos de lesiones, incluyendo el LPB, la leucoplasia bucal y la fibrosis submucosa, tienen potencial maligno. Sin embargo, Los factores que influyen en la transformación de LPB a carcinoma de células escamosas aún no están del todo dilucidados (7). Para Lin y cols. (2008) el alelo COX-2 -765C fue un factor de riesgo en leucoplasias bucales que evolucionaron a la malignidad (19).

Existen evidencias indicadoras que la sobreexpresión de COX-2 constituye un evento temprano en la carcinogénesis epitelial, postulándose que el aumento en los niveles de COX-2 y EGFR (factor de crecimiento epidérmico) en lesiones premalignas constituyen un mecanismo de "carcinogénesis de campo" (18). En las células epiteliales normales la expresión de COX-2 es mínima, de tal manera que el efecto inflamatorio del infiltrado linfocítico mantenido por la actividad antiapoptótica de BCL-2 en las lesiones de LPB y RLB posiblemente trae como resultado la inducción de la expresión de COX-2; no solamente en el mismo infiltrado sino también en el epitelio adyacente. Esto parece ocurrir fuertemente en las dos lesiones pero según los resultados del presente estudio, en las lesiones LPB está mayormente expresada.

La investigación terapéutica con el uso de inhibidores específicos de la COX-2 para evitar la transformación maligna de estas lesiones es un campo interesante a explorar en futuros estudios (20).

Para Cortés-Ramírez y col. En el 2010 (7), la expresión de COX-2 era mayor en las lesiones de RLB que en las de LPB, los presentes datos contradicen sus resultados. Lo que lleva a considerar la necesidad de hacer un seguimiento clínico completo a las lesiones de LPB de aspecto reticular aunque se haya sugerido en varios estudios que las lesiones erosivas poseen mayor potencial de malignidad (1, 2, 3, 4).

Al igual que en el presente estudio, Cortés-Ramírez (7) encontró mayor expresión de COX-2 en el infiltrado inflamatorio de las lesiones liquenoides aunque también se pudo observar a nivel epitelial. Este patrón epitelial se observa, en el presente estudio, con mayor frecuencia en los casos de LPB; estos hallazgos sugieren que la etiología y las vías fisiopatológicas moleculares de estas lesiones son diferentes.

Conclusión

La expresión de Bcl-2 y COX-2 fue mayor en las lesiones de LPB cuando se comparó con las RLB. La expresión de BCL-2 se ubicó principalmente a nivel del infiltrado linfocítico en banda que se observa en la unión corión-epitelio. Esta alteración genética puede ser la responsable del mantenimiento de la respuesta inflamatoria crónica en ambos tipos de lesiones y junto con la expresión constante de COX-2 puede dar lugar al desarrollo y acumulación de alteraciones genéticas oncogénicas.

Conflicto de intereses

El estudio fue aprobado por el comité de bioética de la Facultad de Odontología de la Universidad Central de Venezuela. Todo paciente firmó un consentimiento informado para el procedimiento de biopsia. Los autores no reportan conflicto de interés alguno en referencia a los objetivos de la investigación.

Referencias

1. Carrozzo M, Thrope R. **Oral Lichen Planus: a review.** *Minerva Stomatol.* 2009; 58: 519-37.
2. Farhi D, Dupin N. **Pathophysiology, etiologic factors, and clinical management of oral lichen planus, part I: facts and controversies.** *Clinics in Dermatology* (2010) 28, 100–108.
3. Scully C, Carrozzo M. **Oral mucosal disease: Lichen planus.** *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 46 (2008) 15–21.
4. Bombeccari GP, Guzzi G, Tettamanti M, Gianni AB, Baj A, Pallotti F, Spadari F. **Oral lichen planus and malignant transformation: a longitudinal cohort study.** *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral RadiolEndod* 2011; 112: 328-334.
5. Rad M, Hashemipoor MA, Mojtahedi A, Zarei MR, Chamani G, Kakoei S, Izadi N. **Correlation between clinical and histopathologic diagnoses of oral lichen planus based on modified WHO diagnostic criteria.** *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral RadiolEndod* 2009; 107: 796-800.

6. Van de Meij EH, Mast H, Van der Waal. **The possible premalignant character of oral lichen planus and oral lichenoid lesions: A prospective five-year follow-up study of 192 patients.** *Oral Oncology* (2007) 43, 742–748
7. Cortés DA, Rodríguez MJ, Gainza ML, Martínez R, Aguirre JM. **Overexpression of cyclooxygenase-2 as a biomarker in different subtypes of the oral lichenoid disease.** *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2010;110:738-743
8. Heiser D, Labi V, Erlacher M, Villunger A. **The Bcl-2 protein family and its role in the development of neoplastic disease.** *Experimental Gerontology* 39 (2004) 1125–1135
9. Hussein MR, Al-Badaiwy ZH, Guirguis MN. **Analysis of p53 and bcl-2 protein expression in the non-tumorigenic, pre-tumorigenic and tumorigenic keratinocytic hyperproliferative lesions.** *J Cutan Pathol.* 2004;31:643-51.
10. García García I, González-Moles MA, Bascones Martínez A. **Expresión de bcl-2, ki-67 y caspasa-3 en lesiones cancerosas de la mucosa oral. Resultados preliminares.** *Av. Odontoestomatol* 2006; 22 (5): 263-269.
11. Orlando B, Bragazzi N, Nicolini C. **Bioinformatics and systems biology analysis of genes network involved in OLP (Oral Lichen Planus) pathogenesis.** *Archives of Oral Biology* 58 (2013) 664–673.
12. Abdel-Latif AM, Abuel-Ela HA, El-Shourbagy SH. **Increased caspase-3 and altered expression of apoptosis-associated proteins, Bcl-2 and Bax in lichen planus.** *Clin Exp Dermatol.* 2009 Apr;34(3):390-5
13. Leyva ER, Ledesma C, Rojo R, Vega E. **P53 and bcl-2 immunoexpression in patients with oral lichen planus and oral squamous cell carcinoma.** *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2012 Sep 1;17 (5):e745-50
14. Van der Meij E, Schepman K, Van der Waal I. **The possible premalignant character of oral lichen planus and oral lichenoid lesions: A prospective study.** *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003; 96(2):164-171.
15. Senturk N, Yildiz L, Sullu Y, Kandemir B, Turanli AY. **Expression of bcl-2 protein in active skin lesion of Behçet's disease.** *International Journal of Dermatology.* 2001; 40: 747-750.
16. Wang YH, Yan Y, Rice JS, Volpe BT, Diamond B. **Enforced expression of the apoptosis inhibitor Bcl-2 ablates tolerance induction in DNA-reactive B cells through a novel mechanism.** *Journal of Autoimmunity* 37 (2011) 18-27.
17. Tischner D, Gaggl I, Peschel I, Kaufmann M, Tuzlak S, Drach M, Thuille N, Villunger A, Wieggers GJ. **Defective cell death signalling along the Bcl-2 regulated apoptosis pathway compromises Treg cell development and limits their functionality in mice.** *Journal of Autoimmunity.* 38 (2012) 59-69
18. Prado SD, Guadalupe AG, López-Cedrún JL, Granada JF, Aparicio LA. **La ciclooxigenasa-2 (COX-2) y el factor de crecimiento epidérmico (EFG) en lesiones epiteliales orales premalignas.** *Rev Esp Cir Oral Maxilofac* 2009;31,3 (mayo-junio):170-181

19. Lin YC, Huang HI, Wang LH, Tsai CCH, Lung O, Dai CHY, Yu ML, Ho CK, Chen CC, **Polymorphisms of COX-2 -765G > C and p53 codon 72 and risks of oral squamous cell carcinoma in a Taiwan population.** *Oral Oncology* (2008) 44, 798– 804
20. Liebman TN, Stein JA, Polsky D. **Cyclo-oxygenase-2 inhibitors for chemoprevention of nonmelanoma skin cancer: Is there a role for these agents?** *J Am Acad Dermatol* 2013;68:173-6.

Figuras

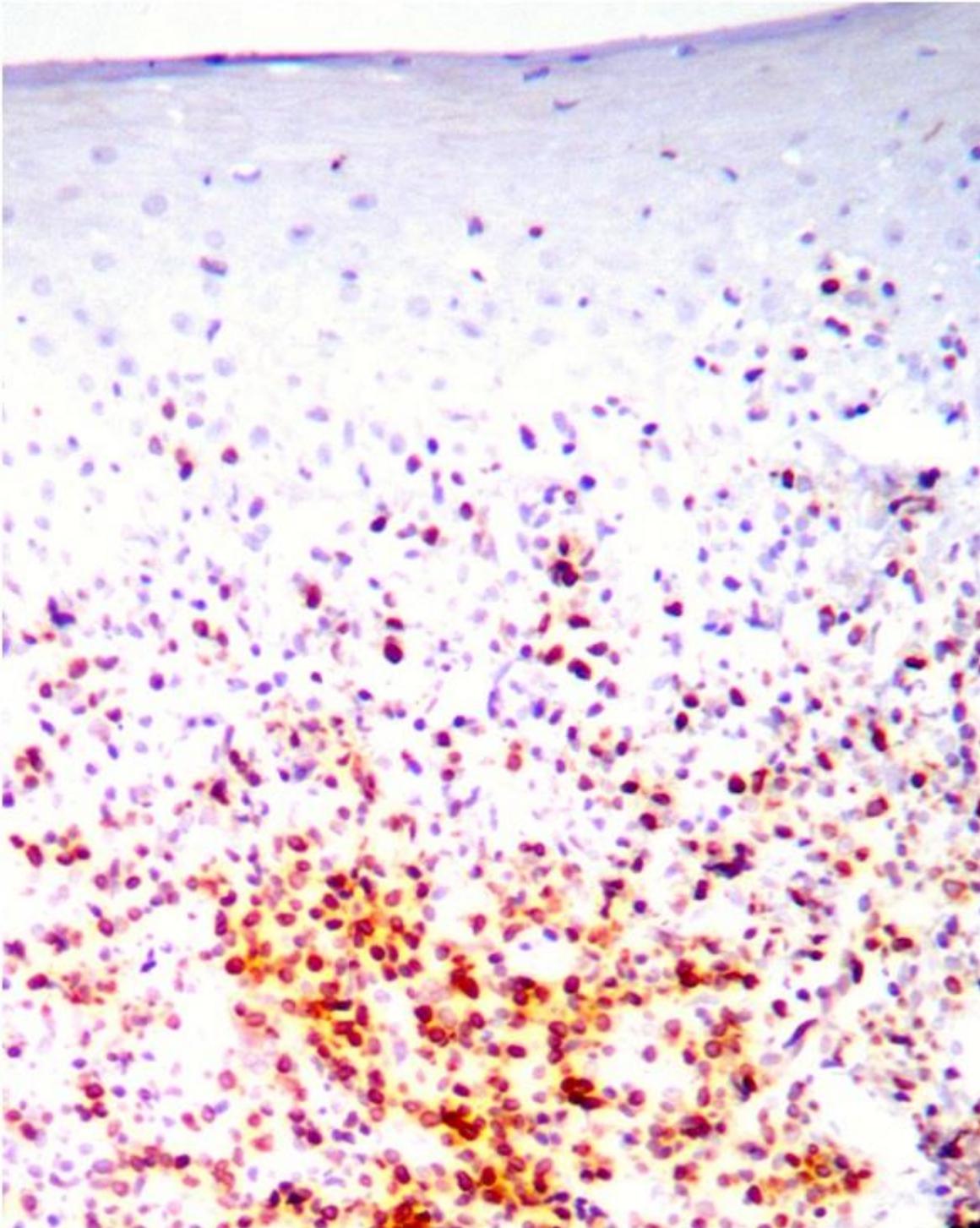


Fig. 1 Expresión de bcl-2 en el infiltrado inflamatorio y a nivel de las capas basales del epitelio.

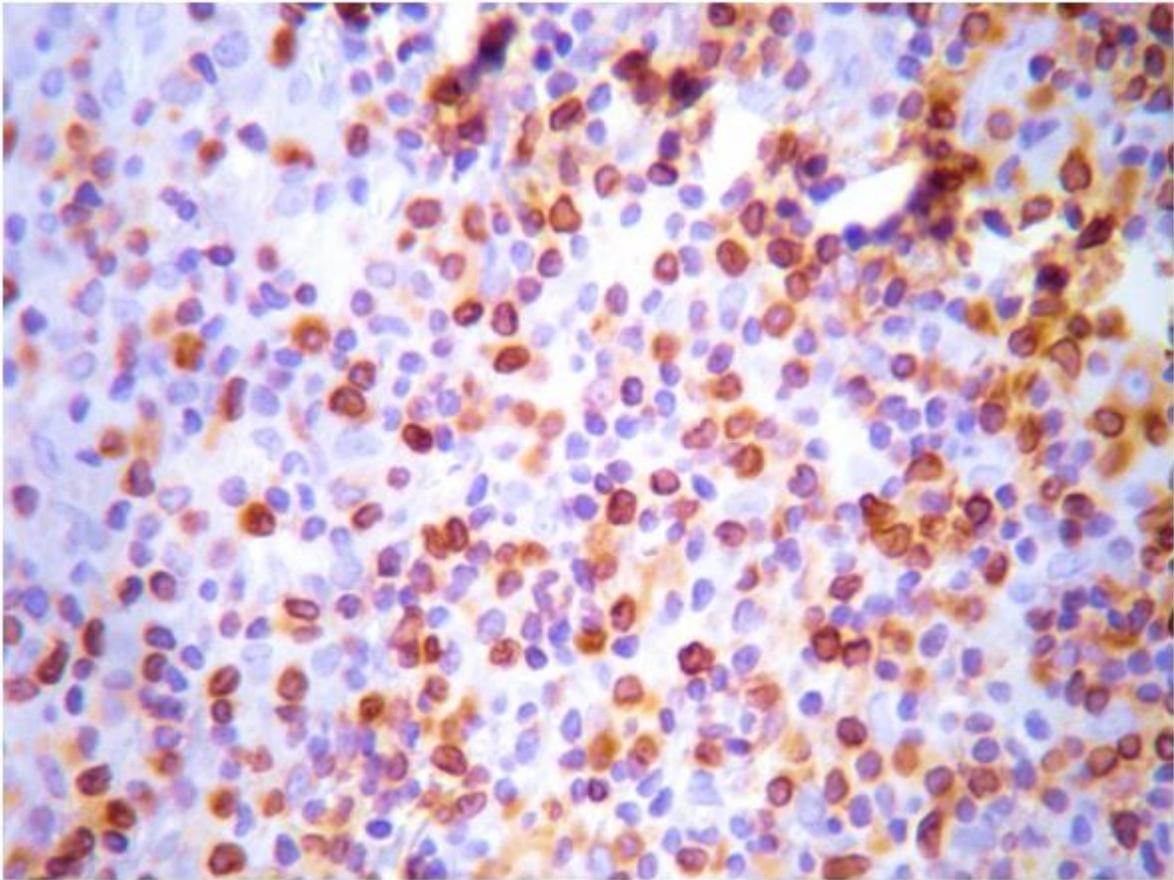


Fig. 2 Expresión de bcl-2 en los linfocitos del infiltrado inflamatorio 40X

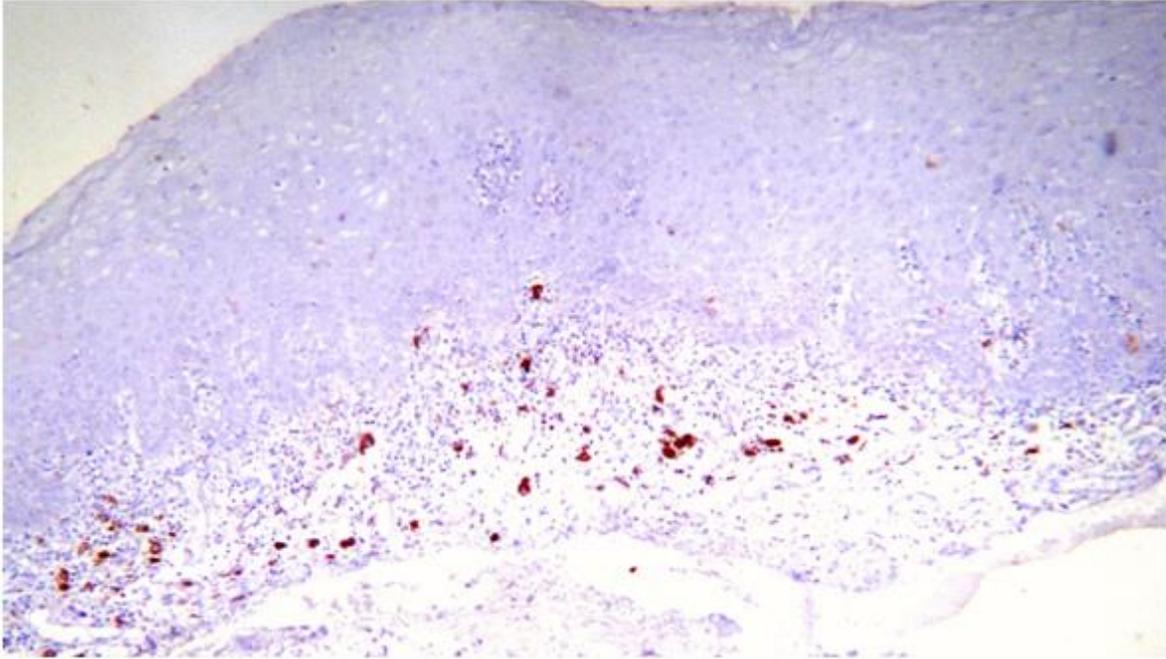


Fig. 3 Expresión de COX-2 a nivel del infiltrado inflamatorio. 10X

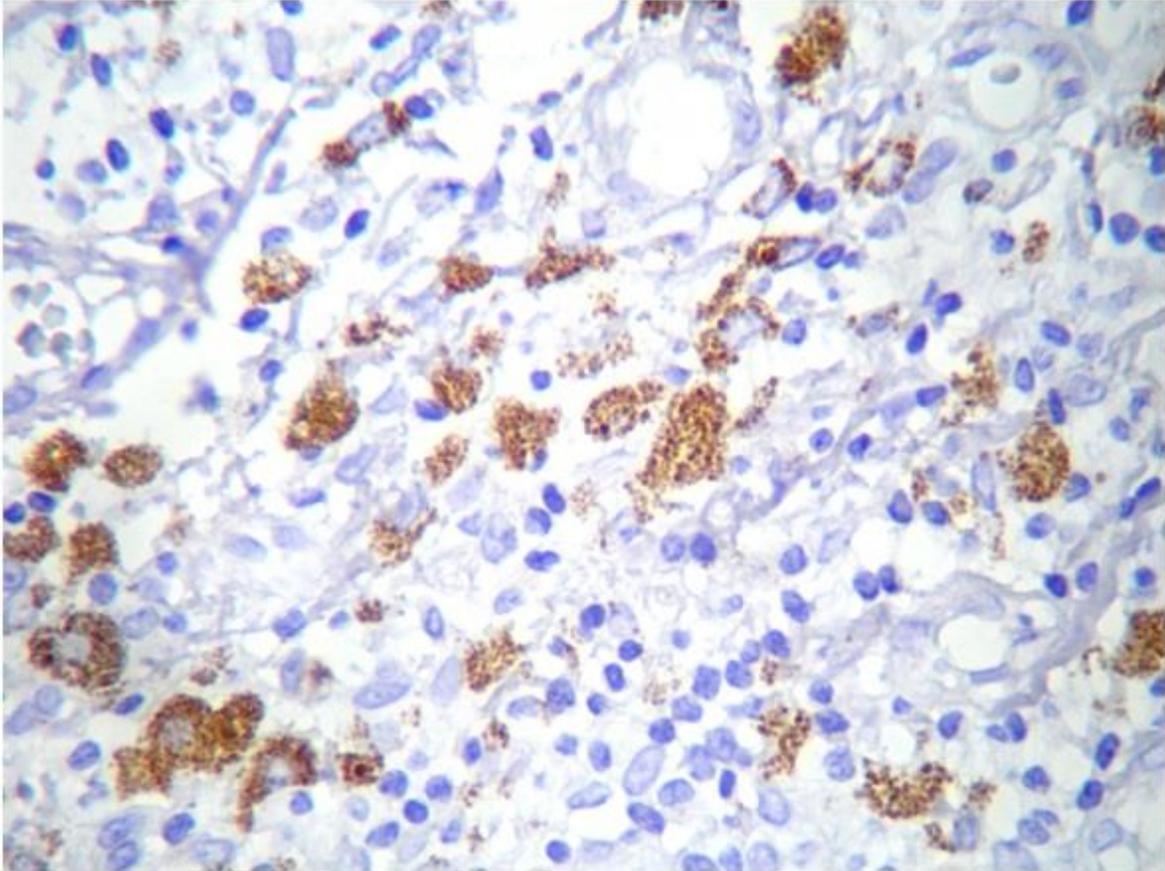


Fig. 4 Expresión citoplasmática de COX-2 en los macrófagos del infiltrado inflamatorio. 40X

Tablas

Tabla 1.- Localización del inmunomarcaje en ambos grupos.

Localización	Bcl-2 LPB	Bcl-2 RLB	COX-2 LPB	COX-2 RLB
infiltrado	26	21	12	12
Capa basal	0	0	2	2
Basal/infiltrado	0	2	6	1
Infiltrado/submucosa	1	2	2	1
Submucosa	0	0	0	1
Infiltrado/basal/submucoso	0	0	0	1

Tabla 2.- Extensión del inmunomarcaje para COX-2 y BCL-2 en ambos grupos.

	+	++	+++
BCL-2 (LPB)	10	13	7
BCL-2 (RLB)	17	4	5
COX-2 (LPB)	19	6	0
COX-2 (RLB)	15	3	0

Tabla 3.- Intensidad del inmunotinción para BCL-2 Y COX-2 en ambos grupos.

	Leve	Moderada	Intensa
BCL-2 (LPB)	10	11	9
BCL-2 (RLB)	8	10	8
COX-2 (LPB)	7	14	4
COX-2 (RLB)	8	9	1