

POLIMORFISME GEN COX-2 (rs20417) AND CHI3L1 (rs4950928) PADA PASIEN KANKER KOLOREKTAL DI BALI

Ni Nyoman Ayu Dewi,^{1,a)} Ni Putu Ekawati,^{2,b)} I Made Mulyawan,^{3,c)} I Wayan Ardyan Sudharta Putra,^{1,d)}

¹Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

²Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

³Departemen Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

Email

a) Corresponding author: ayudewi@unud.ac.id

b)niputu.ekawati@yahoo.com

c)mulyawanm@yahoo.com

d)wayan_ardyan@student.unud.ac.id

ABSTRAK

Kondisi pro-inflamasi memiliki peran penting dalam perkembangan, invasi, dan metastasis kanker kolorektal (KKR). Beberapa penelitian mengungkapkan berbagai gen pro-inflamasi dalam karsinogenesis KKR, termasuk *cyclooxygenase-2* (COX2) dan *Chitinase-3-like protein 1* (CHI3L1). Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi polimorfisme gen COX-2 dan CHI3L1 pada pasien KKR di Bali. Data berasal dari 39 sampel pasien KKR, termasuk usia, jenis kelamin, diagnosis patologi, *grade*, dan lokasi tumor. DNA diekstraksi dari sampel FFPE. Genotipe SNP COX-2 (rs20417) dan CHI3L1 (rs4950928) diidentifikasi menggunakan *real time quantitative PCR* menggunakan primer spesifik (rhAmp™ SNP Genotyping System kit, IDT Technologies). Semua data dianalisis dengan SPSS versi 21. Hasil penelitian menunjukkan bahwa usia rata-rata adalah 59,82±11,35 tahun, lebih tinggi pada kelompok usia di atas 50 tahun sebanyak 31 sampel (79,5%). Sebagian besar sampel berjenis kelamin laki-laki sebanyak 24 sampel (61,5%) serta adenokarsinoma sebagai diagnosis patologis terbanyak sebanyak 32 sampel (82,1%). Selain itu, sebagian besar sampel menunjukkan *low grade* sebanyak 33 sampel (74,4%) dan lokasi tumor pada sisi kiri sebanyak 24 sampel (61,5%). Analisis hubungan SNP COX-2 (rs 20417) serta SNP CHI3L1 (rs4950928) dengan diagnosis patologi, *grade* dan lokasi menunjukkan nilai $p>0,05$. Secara keseluruhan, dapat disimpulkan bahwa kasus CRC lebih tinggi pada usia di atas 50 tahun, jenis kelamin laki-laki, *low grade* dan tumor sisi kiri. Dalam penelitian ini tidak ditemukan hubungan yang signifikan antara genotipe COX-2 dan CHI3L1 dengan diagnosis patologi, *grade*, dan lokasi tumor.

Kata kunci : CHI3L1., COX-2., SNP.

ABSTRACT

The pro-inflammatory condition has a critical role in promoting the progression, invasion, and metastasis of colorectal cancer (KKR). Several studies revealed various pro-inflammatory genes in CRC carcinogenesis, including cyclooxygenase-2 (COX2) and Chitinase-3-like protein 1 (CHI3L1). This study aimed to identify COX-2 and CHI3L1 gene polymorphism of KKR in Bali. Data was from 39 CRC patients, including age, sex, pathology diagnosis, histological grade, and tumor location. DNA was extracted from the FFPE samples. SNP genotyping of COX-2 (rs20417) and CHI3L1 (rs4950928) was identified using real-time quantitative PCR (qPCR) using allele-specific primer by rhAmp™ SNP Genotyping System kit (IDT Technologies). All data were analyzed by SPSS version 21. The results showed that the average age was 59.82 ± 11.35 years, higher in the age group above 50 years as many as 31 samples (79.5%). Most of the samples were male, 24 samples (61.5%) and adenocarcinoma as the most pathological diagnosis, 32 samples (82.1%). In addition, most of the samples showed low levels in 33 samples (74.4%) and the location of the tumor was on the left side in 24 samples (61.5%). Analysis of the relationship between SNP COX-2 (rs 20417) and SNP CHI3L1 (rs4950928) with pathological diagnosis, grade and location showed a value of $p>0.05$. Taken together, it can be concluded that CRC cases are higher in those over 50 years of age, male gender, low grade and left sided tumors. In this study, no significant association was found between COX-2 and CHI3L1 genotypes with pathological diagnosis, grade, and tumor location.

Keywords : CHI3L1., COX-2., SNP.

PENDAHULUAN

Kanker kolorektal (KKR) merupakan beban kesehatan di seluruh dunia, dan merupakan kanker urutan ketiga dan kedua pada pria dan wanita.¹ Kondisi pro-inflamasi sangat penting dalam mendorong perkembangan, invasi, dan metastasis KKR. Peradangan sangat berkontribusi untuk menginisiasi terjadinya tumor, mengakumulasi mutasi gen dan perubahan epigenetik.² Beberapa penelitian mengungkapkan peran berbagai gen pro-inflamasi dalam karsinogenesis KKR, termasuk *cyclooxygenase-2* (COX2) dan *Chitinase-3-like protein 1* (CHI3L1).^{3,4}

Enzim *cyclooxygenase-2* (COX-2) menghasilkan mediator inflamasi dari asam arakidonat, yang pada akhirnya menghasilkan prostaglandin.⁵ Prostaglandin E2 (PGE2) berperan dalam mengatur berbagai sel imun, kemudian didegradasi oleh *NAD+-dependent 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase* (15-PGDH).⁶ Studi terbaru mengungkapkan peran PGE2 dalam perkembangan KKR, kanker prostat, kanker payudara, kanker lambung, dan kanker paru-paru.⁷⁻⁹ Penelitian sebelumnya menemukan bahwa penurunan perkembangan KKR dapat terjadi dengan cara menghambat PGE2 atau COX-2. Selain itu, pasien KKR mengekspresikan COX-2 secara berlebihan.^{10,11}

CHI3L1 adalah protein yang ditemukan pada tahun 1992 dalam *cell line* osteosarkoma manusia MG-63; selain itu, dikenal sebagai *human cartilage glycoprotein-39* (HC-gp-39) atau YKL-40.⁴ Secara fisiologis, protein YKL-40 berperan untuk memperbanyak dan membedakan perubahan jaringan pada embrio dan janin.¹² Sebaliknya, protein YKL-40 ditemukan meningkat dalam kondisi peradangan, seperti penyakit radang usus, kolitis ulseratif, penyakit Crohn, dan KKR.¹³⁻¹⁶ Beberapa penelitian menemukan ekspresi berlebih dari YKL-40 yang merangsang KKR menjadi lebih invasif dan lebih berisiko metastasis. Sel-sel epitel kolon mengalami peradangan dengan aktivasi NF- κ B dan peningkatan ekspresi IL-8 yang diinduksi oleh YKL-40; selain itu, YKL-40 mendukung terjadinya displasia sel kolon.¹⁶⁻¹⁸

Peran penting COX-2 dan CHI3L1 dalam karsinogenesis KKR menunjukkan bahwa penelitian terkait variasi genetik (*single nucleotide polymorphism*/SNP) dari kedua gen ini sangat penting, yang dapat menjadi dasar implikasi klinis bagi pasien KKR. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi polimorfisme gen COX-2 (rs20417) dan CHI3L1 (rs4950928) pada pasien KKR di Bali.

BAHAN DAN METODE

Ekstraksi DNA

DNA diekstraksi dari 39 sampel FFPE yang disimpan di Departemen Patologi Fakultas Kedokteran sesuai protokol kit (*Thermo Scientific GeneJET FFPE DNA Purification Kit*

#K0882). Secara singkat, jaringan FFPE dipotong menggunakan mikrotom (2-3 bagian, setiap bagian setebal 5 μ m) ditambahkan dengan 200 μ L buffer lisis ke dalam tabung mikrosentrifus. Sampel diinkubasi pada suhu 90°C selama 3 menit. Sampel kemudian didinginkan hingga suhu kamar dan selanjutnya diinkubasi pada suhu 65 ° C selama 50 menit dalam *termoshaker* (300-400 rpm). Setelah menginkubasi sampel pada suhu 90°C selama 40 menit, sentrifugasi dilakukan pada 6000 \times g selama 1 menit dan 200 μ L lisat dipindahkan ke tabung mikrosentrifus 1,5 mL yang baru. Sebanyak 10 μ L larutan RNase A ditambahkan dan divorteks. Setelah 10 menit inkubasi pada suhu kamar, ditambahkan 200 μ L *binding buffer* dan 400 μ L etanol (96-100%). Lisat kemudian dipindahkan ke *spin column* dan disentrifugasi selama 1 menit pada 6000 \times g. Tahap pencucian dilakukan dengan menggunakan 500 μ L *wash buffer 1* dan 500 μ L *wash buffer 2* secara berurutan. DNA dimurnikan menggunakan 60 μ L buffer elusi. Konsentrasi DNA diukur menggunakan SimpliNano (Biochrom). DNA disimpan pada suhu -20°C sampai digunakan.

SNP Genotyping

Genotipe SNP dari COX-2 (rs20417) dan CHI3L1 (rs4950928) diidentifikasi menggunakan qPCR mengikuti protocol dari *rhAmp™ SNP Genotyping System kit* (IDT). Pewarna FAM dan VIC/HEX/JOE digunakan untuk alel referensi dan alel alternatif.

Master mix 2x dan *reporter mix 40x* (rasio 20:1) digabungkan dan dicampur untuk campuran reaksi total 10ul dengan rumus berikut: *master mix* dan *reporter mix* sebanyak 5,3 μ l, SNP *rhAmp™* assay sebanyak 0,5 μ l (20x) dan *nuclease-free water* sebanyak 2,2 μ l. Untuk amplifikasi, 8 μ l campuran reaksi digabungkan dengan 2 μ l DNA (10ng/ul) dan dijalankan untuk qPCR (qTower, Analytic Jena) dengan program sebagai berikut: aktivasi enzim pada 95°C selama 10 menit, diikuti 40 siklus yang terdiri dari denaturasi pada 95°C selama 10 detik, *annealing* pada 60°C selama 30 detik dan ekstensi pada 68°C selama 20 detik.

Analisis statistik

Uji Fisher exact digunakan untuk menganalisis hubungan antara polimorfisme gen COX-2 and CHI3L1 dengan diagnosis patologi, *grade*, dan lokasi tumor. Nilai p di bawah 0,05 menunjukkan perbedaan yang signifikan.

HASIL

Dari 39 sampel ditemukan bahwa rerata usia adalah 59,82 \pm 11,35 tahun, yang dominan pada kelompok usia di atas 50 tahun (79,5%). Sebagian besar sampel berjenis kelamin laki-laki (61,5%), adenokarsinoma (82,1%), *low grade* (84,6%) dan lokasi kanker di sisi kiri (61,5%) (Tabel 1).

Tabel 1. Karakteristik pasien KKR

Variabel	Nilai (n=39)
Umur (tahun)	59,82±11,348
≤50	8 (20,5%)
>50	31 (79,5%)
Jenis kelamin	
Laki-laki	24 (61,5%)
Perempuan	15 (38,5%)
Diagnosis patologi	
Adenokarsinoma	32 (82,1%)
<i>Mucinous Carcinoma</i>	5 (12,8%)
<i>Signet Ring Carcinoma</i>	2 (5,1%)
Grade	
<i>Low</i>	33 (84,6%)
<i>High</i>	6 (15,4%)
Lokasi tumor	
Kiri	24 (61,5%)
Kanan	15 (38,5%)

Data SNP gen COX-2 (rs20417) dan SNP gen CH3L1 dan lokasi tumor dapat dilihat pada Tabel 2 dan Tabel 3. (rs4950928) berdasarkan diagnosis patologi, *grade*

Tabel 2. Distribusi genotipe COX-2 (rs20417) berdasarkan diagnosis patologi, *grade* dan lokasi tumor

Variabel	rs20417		P
	CG	CC	
Diagnosis patologi			
Adenokarsinoma	27 (84,4%)	5 (71,4%)	0,466
<i>Mucinous Carcinoma</i>	4 (12,5%)	1 (14,3%)	
<i>Signet Ring Carcinoma</i>	1 (3,1%)	1 (14,3%)	
Grade			
<i>Low</i>	28 (87,5%)	5 (71,4%)	0,286
<i>High</i>	4 (12,5%)	2 (28,6%)	
Lokasi tumor			
Kiri	21 (65,6%)	3 (42,9%)	0,242
Kanan	11 (34,4%)	4 (57,1%)	

Tabel 3. Distribusi genotipe CHI3L1 (rs4950928) berdasarkan diagnosis patologi, *grade* dan lokasi tumor

Variabel	rs4950928		P
	CC & CG	GG	
Diagnosis patologi			
Adenokarsinoma	23 (85,2%)	9 (75,0%)	0,087
<i>Mucinous Carcinoma</i>	4 (14,8%)	1 (8,3%)	
<i>Signet Ring Carcinoma</i>	0 (0,0%)	2 (16,7%)	
Grade			
<i>Low</i>	24 (88,9%)	9 (75,0%)	0,081
<i>High</i>	3 (11,1%)	3 (25,0%)	
Lokasi tumor			
Kiri	18 (66,7%)	6 (50,0%)	0,323
Kanan	9 (33,3%)	6 (50,0%)	

PEMBAHASAN

Dalam penelitian ini ditemukan bahwa pasien KKR sebagian besar berusia di atas 50 tahun dan berjenis kelamin laki-laki. Adenokarsinoma dan *low grade* paling banyak ditemukan pada sampel serta lokasi tumor di sebelah kiri. Genotipe COX-2 dan CHI3L tidak berhubungan dengan karakteristik klinikopatologi, seperti diagnosis patologi, *grade*, dan lokasi tumor.

Usia rerata penderita KKR adalah sekitar 60 tahun, dengan pria cenderung memiliki prevalensi yang lebih tinggi daripada wanita.¹ Data ini juga didukung oleh data GLOBOCAN, di mana wanita memiliki insiden yang lebih rendah daripada pria. Selain itu, prevalensi KKR meningkat >90% setelah usia 50 tahun.¹⁹ Sebuah penelitian sebelumnya di Bali menunjukkan bahwa diagnosis pasien KKR paling banyak adalah adenokarsinoma (98%). Selain itu, rektum adalah tempat yang paling banyak terkena kanker.²⁰

Siklooksigenase memainkan peran penting dalam proses inflamasi dengan mengubah asam arakidonat menjadi prostaglandin, suatu proses inflamasi yang ditemukan pada kanker.^{5,7-9} Moatter dkk menemukan hubungan yang signifikan antara haplotype rs68965G-689466A-20417C (OR 2,909; IK 95% 1,3776.327; p=0,007) dan kanker payudara dalam analisis varian alel gabungan.²¹ Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa terdapat overekspresi COX- 2 pada lebih dari 72% kasus KKR.²² Namun, suatu studi polimorfisme gen COX-2 pada populasi di Brasil tidak menemukan adanya hubungan antara polimorfisme COX-2 1195A>G dan 8473T>C dengan risiko KKR.²³

Chitinase-3-like 1 (CHI3L1) atau YKL-40 ditranskripsi dari gen *Chitinase-3-like 1* yang terletak pada kromosom 1q32.1.4 Sebuah studi prospektif berbasis populasi umum Denmark menemukan delapan SNP gen CHI3L1 yang berkorelasi dengan kadar plasma YKL-40.²⁴ YKL-40 berperan dalam proses proliferasi sel, anti-

apoptosis, dan angiogenesis, terutama pada kanker.²⁵ Penelitian menunjukkan CHI3L1 SNPs rs6691378 dan rs10399805 dikaitkan dengan perkembangan lesi pra-kanker serviks dan kanker invasif.²⁶ Juga, pasien kanker payudara dengan CHI3L1 rs4950928 memiliki peningkatan risiko yang signifikan (p=0.025).²⁷ Penelitian di Mesir yang mengevaluasi 77 pasien KKR dan 36 pasien sehat menemukan bahwa alel C rs4950928 lebih banyak diekspresikan pada kanker rektal daripada kanker usus besar. Selain itu, alel C dikaitkan dengan peningkatan serum TGF-beta1 dan YKL-40. Namun, frekuensi alel dan genotipe CHI3L1 tidak ditemukan perbedaan yang signifikan antara pasien KKR dan kontrol yang sehat.²⁸

SIMPULAN DAN SARAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa kasus CRC lebih tinggi pada usia di atas 50 tahun, jenis kelamin laki-laki, *low grade* dan tumor sisi kiri. Dalam penelitian ini tidak ditemukan hubungan yang signifikan antara genotipe COX-2 (rs 20417) serta SNP CHI3L1 (rs4950928) dengan diagnosis patologi, *grade*, dan lokasi tumor. Penelitian lebih lanjut terkait patogenesis molekuler KKR perlu dilakukan untuk memahami karsinogenesis KKR sehingga dapat bermanfaat untuk kepentingan klinis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Nyoman Sri Handayani dan Ni Ketut Nanik Astuti, laboran di Unit Laboratorium Terpadu FK Unud, atas bantuan teknis di laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

1. Yu H, Hemminki K. 2019. Genetic epidemiology of colorectal cancer and associated cancers. *Mutagenesis*;35(3):207–19.
2. Schmitt M, Gretten FR. 2021. The inflammatory pathogenesis of colorectal cancer. *Nat Rev Immunol*;21(10):653–67. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41577-021-00534-x>
3. Mizuno R, Kawada K, Sakai Y. 2019. Prostaglandin E2/EP Signaling in the Tumor Microenvironment of Colorectal Cancer. *Int J Mol Sci*;20(24):6254. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31835815>
4. Szymańska-Chabowska A, Juzwiszyn J, Jankowska-Polańska B, Tański W, Chabowski M. 2020. Chitinase 3-Like 1, Nestin, and Testin Proteins as Novel Biomarkers of Potential Clinical Use in Colorectal Cancer: A Review [Internet]. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. Springer International Publishing; p. 1–8. Available from: http://dx.doi.org/10.1007/5584_2020_506
5. Ricciotti E, Fitzgerald GA. 2011. Prostaglandins and inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*;31(5):986–1000. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21508345>
6. Kalinski P. 2012. Regulation of immune responses by prostaglandin E2. *J Immunol*;188(1):21–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22187483>
7. Backlund MG, Mann JR, Holla VR, Buchanan FG, Tai H-H, Musiek ES, dkk. 2005. 15-Hydroxyprostaglandin dehydrogenase is down-regulated in colorectal cancer. *J Biol Chem*;280(5):3217–23. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15542609>
8. Tai H-H, Tong M, Ding Y. 2007. 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase (15-PGDH) and lung cancer. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*;83(3):203–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17481556>
9. Myung SJ, Kim IH. 2008. Role of prostaglandins in colon cancer. *Korean J Gastroenterol Taehan Sohwagi Hakhoe chi*;51(5):274–9.
10. Brown JR, DuBois RN. COX-2: A Molecular Target for Colorectal Cancer Prevention. *J Clin Oncol*. 2005;23(12):2840–55. Available from: <http://dx.doi.org/10.1200/jco.2005.09.051>
11. Arber N, Eagle CJ, Spicak J, Rác I, Dite P, Hajer J, dkk. Celecoxib for the Prevention of Colorectal Adenomatous Polyps. *N Engl J Med*. 2006;355(9):885–95. Available from: <http://dx.doi.org/10.1056/nejmoa061652>
12. Johansen JS, Høyer PE, Larsen LA, Price PA, Møllgård K. 2007. YKL-40 Protein Expression in the Early Developing Human Musculoskeletal System. *J Histochem & Cytochem*;55(12):1213–28. Available from: <http://dx.doi.org/10.1369/jhc.7a7245.2007>
13. Kamba A, Lee IA, Mizoguchi E. 2013. Potential association between TLR4 and chitinase 3-like 1 (CHI3L1/YKL-40) signaling on colonic epithelial cells in inflammatory bowel disease and colitis-associated cancer. *Curr Mol Med*;13(7):1110–21. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23170831>
14. Koutroubakis IE, Petinaki E, Dimoulios P, Vardas E, Roussomoustakaki M, Maniatis AN, et al. 2003. Increased serum levels of YKL-40 in patients with inflammatory bowel disease. *Int J Colorectal Dis*;18(3):254–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s00384-002-0446-z>
15. Vind I, Johansen J, Fischerhansen B, Price P, Munkholm P. 2001. Serum YKL-40 in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*;120(5):A276–A276. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/s0016-5085\(01\)81368-8](http://dx.doi.org/10.1016/s0016-5085(01)81368-8)
16. Chen C-C, Pekow J, Llado V, Kanneganti M, Lau CW, Mizoguchi A, dkk. 2011. Chitinase 3-like-1 expression in colonic epithelial cells as a potentially novel marker for colitis-associated neoplasia. *Am J Pathol*;179(3):1494–503. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21763261>
17. Popivanova BK, Kitamura K, Wu Y, Kondo T, Kagaya T, Kaneko S, dkk. 2008. Blocking TNF-alpha in mice reduces colorectal carcinogenesis associated with chronic colitis. *J Clin Invest*;118(2):560–70. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18219394>
18. Kawada M, Seno H, Kanda K, Nakanishi Y, Akitake R, Komekado H, dkk. 2012. Chitinase 3-like 1 promotes macrophage recruitment and angiogenesis in colorectal cancer. *Oncogene*;31(26):3111–23. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22056877>
19. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. 2014. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*;136(5):E359–86. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/ijc.29210>
20. Anthonysamy MA, Indrayani Maker LPL, Gotra IM, Saputra H. 2020. Prevalence of colorectal carcinoma based on microscopic type, sex, age and anatomical location in Sanglah General Hospital. *Intisari Sains Medis*;11(1):272. Available from: <http://dx.doi.org/10.15562/ism.v10i2.171>
21. Moatter T, Aban M, Iqbal W, Pervez S. 2014. Cyclooxygenase-2 Polymorphisms and Breast Cancer Associated Risk in Pakistani Patients. *Pathol & Oncol Res*;21(1):97–101. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s12253-014-9792-8>
22. Kim NK, Park JK, Shin E, Kim YW. 2014. The combination of nuclear factor kappa B, cyclo-oxygenase-2 and vascular endothelial growth factor expression predicts poor prognosis in stage II and III colorectal cancer. *Anticancer Res*;34(11):6451–7.
23. Tomitão MTP, Nahas SC, Kubrusly MS, Furuya TK, Diniz MA, Marie SKN, dkk. 2017. Cyclooxygenase-2 gene polymorphisms and susceptibility to colorectal cancer in a Brazilian population. *J Gastrointest*

- Oncol.*;8(4):629–35. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28890812>
24. Kjaergaard AD, Johansen JS, Nordestgaard BG, Bojesen SE. 2013. Genetic variants in *CHI3L1* influencing YKL-40 levels: resequencing 900 individuals and genotyping 9000 individuals from the general population. *J Med Genet.*;50(12):831–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1136/jmedgenet-2013-101908>
25. Lee CG, Da Silva CA, Dela Cruz CS, Ahangari F, Ma B, Kang MJ, dkk. 2011. Role of chitin and chitinase/chitinase-like proteins in inflammation, tissue remodeling, and injury. *Annu Rev Physiol.*;73:479–501. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21054166>
26. Lin YS, Liu YF, Chou YE, Yang SF, Chien MH, Wu CH, dkk. 2014. Correlation of chitinase 3-like 1 single nucleotide polymorphisms and haplotypes with uterine cervical cancer in Taiwanese women. *PLoS One.*;9(9):e104038–e104038. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25203433>
27. Shaker OG, Senousy MA. 2019. Association of SNP-SNP Interactions Between RANKL, OPG, CHI3L1, and VDR Genes With Breast Cancer Risk in Egyptian Women. *Clin Breast Cancer.*;19(1):e220–38. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clbc.2018.09.004>
28. Abd El-Fattah AA, Sadik NAH, Shaker OG, Kamal AM. 2016. Are SMAD7 rs4939827 and CHI3L1 rs4950928 polymorphisms associated with colorectal cancer in Egyptian patients? *Tumor Biol.*;37(7):9387–97. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s13277-016-4813-8>