

## **ASPIRINA I ANTIINFLAMATORIS NO ESTEROÏDALS EN LA PREVENCIÓ DEL CÀNCER COLORECTAL**

RAMON BARTRONS, ESTHER CASTAÑO, GLÒRIA PUEYO\* I JOAN GIL

*Departament de Ciències Fisiològiques. Campus de Bellvitge. Universitat de Barcelona*  
*\*Divisió Consumer Care. Química Farmacèutica Bayer, S.A.*

Adreça per a la correspondència: Unitat de Bioquímica. Campus de Bellvitge. Universitat de Barcelona. Feixa Llarga, s/n. Pavelló Central. 08907 L'Hospitalet (Barcelona). Adreça electrònica: [bartrons@bellvitge.bvg.ub.es](mailto:bartrons@bellvitge.bvg.ub.es)

### **RESUM**

L'aspirina i altres drogues antiinflamatòries no esteroïdals (AINE) han mostrat efectes benèfics en la quimioprevenió del càncer. Diferents estudis epidemiològics han demostrat que el consum regular d'aspirina redueix la incidència de càncer colorectal (reducció d'un 40-50 %). El mecanisme específic de l'efecte anticarcinogènic de l'aspirina i d'altres drogues antiinflamatòries no esteroïdals es desconeix, però les dades experimentals suggereixen dues possibles vies: la primera seria a través de la inhibició dels isoenzims ciclooxigenasa (COX-1 i COX-2) que disminuiria, com a conseqüència, la concentració de prostaglandines. L'altra podria afectar la funció de diferents factors de transcripció que modulen gens necessaris per als processos de proliferació i apoptosi.

### **SUMMARY**

Aspirin and non steroidal antiinflammatory drugs (NSAID) are among the few agents known to be useful for the chemoprevention of neoplasia. Different epidemiological studies have reported that the regular use of Aspirin has the ability to prevent or reduce (40-50 % reduction) the occurrence of colorectal cancer. The mechanism of the anticarcinogenic effect of Aspirin and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs is not known, but the present data have involved two different hypothesis: the property to inhibit cyclooxygenase isozymes and thereby cause a subsequent reduction in the levels of prostaglandins, or the inhibition of different transcription factors that regulate important genes for the control of cell proliferation and apoptosis.

## INTRODUCCIÓ

El primer estudi epidemiològic (Melbourne Colorectal Cancer Study) que va relacionar el consum d'aspirina amb una reducció de la incidència de càncer colorectal va ser realitzat a Austràlia per Kune i col·laboradors, l'any 1988, i va demostrar que l'ús regular d'aspirina disminuïa un 47 % la incidència en el càncer colorectal (Kune *et al.*, 1988). Altres estudis epidemiològics han descrit resultats semblants i han mostrat que l'ús d'aspirina o d'altres drogues antiinflamatòries no esteroïdals (AINE) té un efecte protector enfront del càncer colorectal (Rosenberg *et al.*, 1991; Thun *et al.*, 1991; Suh *et al.*, 1993; Gridley *et al.*, 1993; Peleg *et al.*, 1994; Giovannucci *et al.*, 1994, 1995). S'han fet, també, estudis que correlacionen l'ús de diferents AINE i prevenció d'altres tipus de càncers, tals com de mama, pròstata, pulmó, bufeta o ronyó, i no s'han trobat resultats significatius (Schreinemacher i Everson, 1994; Rosenberg, 1995; Egan, 1996). L'estudi més ampli (Rosenberg *et al.*, 1991) ha analitzat el consum d'aspirina i la incidència de càncer colorectal en 600.000 persones. La dosi ingerida no era del tot precisa però es va estimar que el risc relatiu de càncer de còlon per a aquells que ingerien aspirina, setze o més vegades al mes, era de 0,60 per als homes i 0,58 per a les dones. Contràriament, l'ús d'acetaminofèn no variava la incidència. El seguiment d'aquesta població va demostrar també una disminució dels càncers d'esòfag, estómac i recte, a més del de còlon (Thun *et al.*, 1993). La reducció del risc de càncer era dosiddependent i augmentava en aquelles persones que portaven més anys de tractament.

L'aspirina i NSAID són drogues inhibidores del creixement de tumors de còlon induïts per carcinogènesi química (Narisawa *et al.*, 1981; Rubio, 1984; Reddy *et al.*, 1987; Reddy *et al.*, 1993; Craven *et al.*, 1992; Mereto *et al.*, 1994). S'han utilitzat també en tracta-

ments d'adenomes de còlon i recte en humans (Waddell i Loughry, 1983; Rigau *et al.*, 1991; Giardiello *et al.*, 1993). Encara que se sap que aquestes drogues inhibeixen la ciclooxigenasa, no es coneix quin és el mecanisme molecular d'aquest efecte benèfic sobre el càncer colorectal.

## SÍNTESI D'ICOSANOIDES

Els productes que s'obtenen del metabolisme de l'àcid araquidònic (vint carbonis), tals com les prostaglandines, tromboxans i àcids 15-hidroxiicosatetranoics (HETE), s'anomenen icosanoides, derivatiu del grec *εικοσι*, que significa vint. Aquests productes participen en processos com la inflamació, l'ovulació, la modulació de la resposta immunitària o la mitogènesi. El control de la síntesi d'aquests metabòlits és molt important en la regulació de tots aquests processos i hi ha diferents possibles enzims reguladors. El primer punt de control es produeix en l'alliberament d'àcid araquidònic dels fosfolípids de la membrana i és catalitzat per la fosfolipasa A<sub>2</sub>. Aquest enzim pot induir-se per acció de diferents estímuls (factors de creixement, citoquines, leucotriens, histamina, trombina...) i sintetitzar senyals

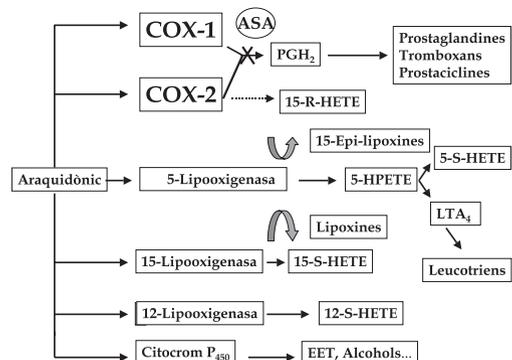


FIGURA 1. Biosíntesi d'icosanoides a partir d'àcid araquidònic.

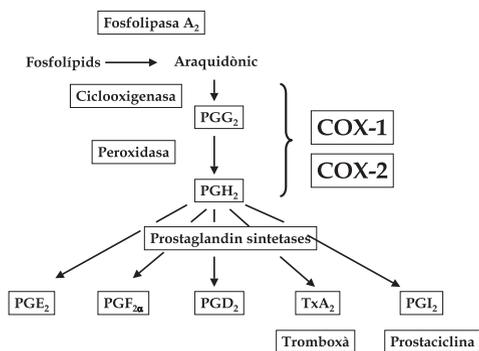


FIGURA 2. Biosíntesi de prostaglandines, prostaciclina i tromboxà.

que poden modular diferents processos cel·lulars.

Una vegada l'àcid araquidònic és alliberat dels fosfolípids de les membranes, aleshores pot ser metabolitzat (figura 1): a) per la ciclooxigenasa (COX), que dona prostaglandines i tromboxans (Vane i Botting, 1995); b) per les lipooxigenases que formen àcids hidroxiicosatetranoics (HETE), amb la posterior síntesi de leucotriens i lipoxines (Samuelsson *et al.*, 1987); c) o bé per la citocrom p450 monooxigenasa, que genera àcids epoxiicosatrienoics (Capdevila *et al.*, 1992). Cadascuna de les vies dona lloc a diferents productes. La ciclooxigenasa té dues activitats catalítiques diferents. Una és la ciclooxigenasa que cicla i oxigena l'àcid araquidònic i forma  $PGG_2$ , i l'altra és la peroxidasa que redueix  $PGG_2$  per formar  $PGH_2$ . Aquestes dues activitats poden independentment estar implicades en altres reaccions i ser inhibides per diferents substàncies. Finalment, a partir de  $PGH_2$ , diferents sintetases catalitzen la formació de les prostaglandines (figura 2).

L'enzim COX existeix en dues formes isoenzimàtiques: COX-1 i COX-2, les quals difereixen l'una de l'altra en la regulació de la seva expressió, llur distribució tissular i localització cel·lular (Herschman, 1994; Wi-

lliams i DuBois, 1996). Tot i que ambdues semblen coexpressar-se, almenys són detectables, en la majoria de cèl·lules i teixits (Gustafson-Svärd *et al.*, 1997), l'isoenzim COX-1 s'expressa constitutivament i alguns estudis indiquen que pot ser responsable de la producció de prostaglandines en el reticle endoplàsmic, que posteriorment sortiran de la cèl·lula per actuar sobre receptors de la membrana cel·lular. En canvi, l'expressió de COX-2, caracteritzada l'any 1989 per Simmons *et al.*, és induïble i regulada per estímuls específics (Vane, 1994; Herschman, 1994; Williams i DuBois, 1996; Smith *et al.*, 1996). Els factors de creixement i promotors tumorals indueixen l'expressió de COX-2 en fibroblasts, fet que dona suport a la hipòtesi que l'isoenzim COX-2 està implicat en la mitogènesi (Kujubu *et al.*, 1991, 1993). La COX-2 seria la responsable de la síntesi augmentada de prostaglandines en resposta a diferents citoquines, factors de creixement i mitògens, i tindria un paper clau en els processos inflamatoris (figura 3).

Les citoquines IL-4 i IL-10 i els glucocorticoides bloquegen la seva expressió, acció que explica part dels efectes antiinflamatoris d'aquestes substàncies. La seva localització en la membrana nuclear ha suggerit un paper important en la proliferació induïda per diferents factors de creixement a través

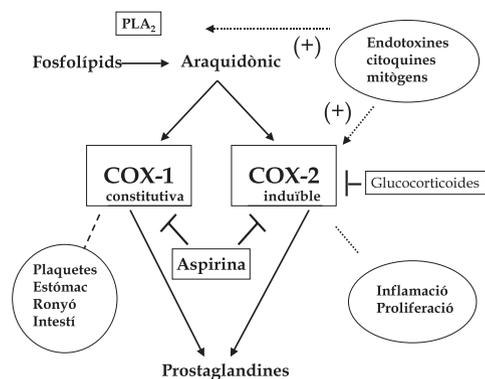


FIGURA 3. Isoenzims de la ciclooxigenasa.

de la síntesi de prostaglandines dirigides al nucli de la cèl·lula amb funcions moduladores de la diferenciació, replicació o mort cel·lular (Williams i DuBois, 1996; Smith *et al.*, 1996). S'han suggerit possibles efectes dels productes de COX-2 des del punt de vista nuclear, ja que diferents prostaglandines poden funcionar com a lligands pels receptors activats del proliferador peroxisomal nuclear (PPAR) (Forman *et al.*, 1997; Jiang *et al.*, 1998; Ricote *et al.*, 1998).

Tots els AINE són inhibidors de la COX, tot i que hi ha diferències significatives en relació a la inhibició selectiva i mecanisme d'inhibició de COX-1 i COX-2. L'aspirina, no obstant, és un exemple particular en el sentit que modifica irreversiblement el centre actiu de la ciclooxigenasa, mentre altres AINE competeixen amb l'àcid araquidònic pel centre actiu dels isoenzims (Vane i Botting, 1995). La naturalesa irreversible d'aquesta inhibició significa que només es recupera l'activitat quan es sintetitzen noves molècules de COX. Aquest mecanisme permet explicar els avantatges de baixes dosis d'aspirina enfront d'altres AINE en diferents tipus de terapèutiques. A més, mentre el tractament amb dosis baixes d'aspirina inhibeix completament l'activitat COX-1 ( $IC_{50}$  30  $\mu$ M), els efectes sobre COX-2 requereixen altes concentracions ( $IC_{50}$  1,1 mM), modifiquen el centre catalític d'aquest segon isoenzim i el converteixen en una lipoxigenasa amb capacitat de formació d'àcids 15R-hidroxiicosatetranoics (HETE) que tenen accions inhibidores de la proliferació (Clària *et al.*, 1995, 1996) (figura 1). L'activitat antiinflamatòria dels AINE prové majoritàriament de la inhibició de COX-2, mentre que els efectes benèfics (cardiovasculars, etc.) i perjudicials (úlceres gàstrics, hemorràgies digestives, toxicitat renal etc.) estan associats a la inhibició de COX-1. En els darrers anys s'han desenvolupat inhibidors més específics de la COX-2 amb potent acció

antiinflamatòria i baixa incidència d'accions perjudicials digestives (Masferrer *et al.*, 1994; Kurumbail *et al.*, 1996). De totes maneres, les seves possibles funcions i la seva utilitat terapèutica s'aniran veient en els propers anys.

Tot i que els resultats obtinguts amb inhibidors de la COX-2 reforcen la hipòtesi que l'activitat COX-2 és proinflamatòria i la COX-1 és citoprotectora, els experiments amb ratolins sense els gens *COX-1* i *COX-2* semblen contradir aquests supòsits. Sorprenentment, els ratolins sense el gen de *COX-1* sobreviuen bé, no tenen alteracions gàstriques i són menys sensibles que els controls a desenvolupar úlceres gàstriques induïdes per indometacina (Langerbach *et al.*, 1995). En canvi, els ratolins homozigots sense el gen de *COX-2* comencen a morir a les vuit setmanes a causa d'una nefropatia produïda per la manca de desenvolupament de les nefrones. També, tot i no tenir *COX-2*, no exhibeixen diferències significatives en la resposta inflamatòria al tetradecanoil forbol acetat (TPA) o a l'àcid araquidònic en relació als ratolins control, i desenvolupen fibrosi cardíaca i defectes en l'ovari (Dinchuk *et al.*, 1995; Morham *et al.*, 1995).

## CICLOOXIGENASA, PROSTAGLANDINES I CÀNCER DE CÒLON

Nombrosos treballs han relacionat l'enzim COX amb l'iniciació de la carcinogènesi a través de diferents mecanismes. Un d'ells és el d'activar carcinògens ingerits amb els aliments. Tot i que l'activitat ciclooxigenasa de la COX és específica per a l'àcid araquidònic i algun altre àcid poliinsaturat, l'activitat peroxidasa té una menor especificitat i altres substrats, com fenols, amines aromàtiques, pesticides halogenats..., poden també ser reduïts. S'han descrit nom-

brosos exemples de carcinògens activats per l'enzim COX i que poden unir-se i modificar el DNA (Eling *et al.*, 1990). Igualment, aquesta activitat pot generar malondialdehid i radicals peròxid que poden estar implicats en l'iniciació de la carcinogènesi.

Un altre mecanisme a través del qual els AINE poden afectar la gènesi de tumors podria ser mitjançant l'àcid araquidònic, els productes del qual es troben implicats en la carcinogènesi (Lupulescu, 1978). Els tumors de còlon humans (Bennett *et al.*, 1977; Rigas *et al.*, 1993; Hendrickse *et al.*, 1994), com també els obtinguts en models animals (Reddy *et al.*, 1993; Yamaguchi *et al.*, 1991) produeixen quantitats augmentades de prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>). Tot i que no coneixem encara prou bé el paper de la PGE<sub>2</sub> en la carcinogènesi, sembla tenir-lo en la resposta immunològica (Arvind *et al.*, 1995) i en el control de la proliferació cel·lular (Lupulescu, 1978; Qiao *et al.*, 1995).

La concentració de PGE<sub>2</sub> està augmentada en els adenomes de còlon humans (Eberhart *et al.*, 1994), en el còlon de rates exposades a carcinògens (Reddy *et al.*, 1993; Rao *et al.*, 1996) i en els ratolins Min que tenen una mutació dominant en el gen supressor tumoral APC (*Adenomatous Polyposis Coli*), que també està mutat a la poliposi adenomatosa familiar humana (FAP), que els produeix adenomes gastrointestinals als tres mesos d'edat (Jacoby *et al.*, 1996; Boolbol *et al.*, 1996). Aquest augment de PGE<sub>2</sub> en les cèl·lules intestinals seria conseqüència d'un increment en l'activitat ciclooxigenasa. Això planteja la qüestió de quin d'ambdós isoenzims és el responsable d'aquest augment. Resultats d'aquests darrers anys ens indiquen que l'expressió de COX-2 està augmentada en els càncers colorectals (Eberhart *et al.*, 1994; Sano *et al.*, 1995; Kargman *et al.*, 1995; Kutchera *et al.*, 1996). També en les cèl·lules epitelials neoplàstiques de l'intestí dels ratolins Min hi ha concentracions aug-

mentades de proteïna i RNA missatger de COX-2. En canvi, no es troben variacions significatives de COX-1 en tots aquests models. En aquesta mateixa línia, s'han publicat resultats que mostren que la incubació de cèl·lules derivades de càncer de còlon amb inhibidors selectius de COX-2 n'inhibeix el creixement (Reddy *et al.*, 1996; Sheng *et al.*, 1997). Aquests resultats suggereixen que algun factor afavoreix la sobreexpressió de la COX-2 en aquestes cèl·lules i fa que el seu paper esdevingui essencial en la producció augmentada de PGE<sub>2</sub>.

Les cèl·lules epitelials intestinals estan programades per dividir-se, diferenciar-se i morir en el procés que les porta des de les criptes cap a la superfície de l'intestí. El nombre de cèl·lules depèn de la capacitat de proliferació, diferenciació i de la velocitat de mort induïda per apoptosi. Qualsevol alteració en aquests processos pot donar lloc a l'acumulació de cèl·lules, la formació de pòlips i tumors. Elder *et al.* (1996) han demostrat que els salicilats indueixen una parada del cicle cel·lular en la fase G<sub>0</sub>-G<sub>1</sub> i indueixen apoptosi en diferents línies cel·lulars. En els darrers anys s'ha comprovat que la sobreexpressió de COX-2 en les cèl·lules intestinals pot induir característiques que augmenten el potencial tumorigènic (Tsuji i Dubois, 1995; Dubois *et al.*, 1996), entre les quals podem trobar disminució del procés d'apoptosi i d'expressió de certs receptors de factors de creixement i molècules d'adhesió. L'apoptosi és un mecanisme bàsic per mantenir un ràpid recanvi de l'epiteli intestinal i una disminució de l'activitat apoptòtica pot resultar en una supervivència augmentada de les cèl·lules anormals. Aquest és un dels mecanismes que explicarien l'acumulació de cèl·lules de l'epiteli i la formació de pòlips i tumors. Shiff *et al.* (1995) han demostrat que diferents AINE redueixen la proliferació, augmenten el nombre de cèl·lules en fase G<sub>0</sub>-G<sub>1</sub> i augmenten també el procés d'apop-

tosí. En aquest sentit, s'han publicat resultats que mostren que sulindac sulfur i sulindac sulfona indueixen apoptosi en cèl·lules de carcinoma de còlon humà HT-29 (Piazza *et al.*, 1995; Shiff *et al.*, 1995). També diferents AINE, però no l'aspirina, causen apoptosi en fibroblasts embrionaris de pollastre (Lu *et al.*, 1995). Recentment, el nostre grup ha descrit que aspirina i salicilat sòdic indueixen apoptosi en cèl·lules de leucèmia limfàtica crònica de tipus B (Bellosillo *et al.*, 1998). El mecanisme responsable d'aquest efecte apoptòtic dels AINE no és clar, tot i que s'ha descrit que la sobreexpressió de COX-2 en cèl·lules epitelials intestinals de rata inhibeix l'apoptosi i que aquesta es pot restaurar administrant inhibidors de COX-2 (Tsuji i DuBois, 1995).

El ratolí Min és un model animal de tumorigènesi intestinal que s'assembla a la forma de poliposi adenomatosa familiar humana (FAP). Els individus amb FAP tenen una mutació en un al·lel del gen *APC* que els produeix adenomes intestinals múltiples després d'una mutació somàtica o pèrdua del segon al·lel. S'ha vist que les cèl·lules intestinals alterades dels ratolins Min, amb el gen *APC* (*Adenomatous Polyposis Coli*) mutat, tenen una apoptosi disminuïda, però si se'ls administren AINE (sulindac) recuperen la capacitat d'induir mort cel·lular programada, al mateix temps que disminueix el contingut de COX-2 i PGE<sub>2</sub> d'aquestes cèl·lules, la qual cosa suggereix que l'efecte sobre l'apoptosi podria ser degut a la inhibició de COX-2 i a la disminució de la formació de PGE<sub>2</sub> (Boolbol *et al.*, 1996). D'altra banda, Reddy *et al.* (1996) han demostrat que els inhibidors específics de COX-2 inhibeixen la formació de pòlips en models animals de carcinogènesi i han suggerit que l'isoenzim COX-2 fa un paper important en aquest procés. A més, s'ha demostrat també que l'anul·lació del gen de COX-2 o bé el tractament amb inhibidors selectius de COX-2 su-

primeixen la formació de tumors en un altre model de poliposi induïda per la supressió del gen *APC*, fet que posa en evidència la relació entre expressió de COX-2 i la formació de pòlips (Oshima *et al.*, 1996). En aquest model, els adenomes han perdut ambdues còpies del gen *APC* i sobreexpressen COX-2. La qüestió bàsica és si aquests dos processos estan relacionats. S'ha vist que en el teixit normal, proper a l'adenoma, no hi ha augment de COX-2. Això suggereix que la inducció d'aquest isoenzim es produeix després de la pèrdua del segon al·lel del gen *APC*. A favor d'aquesta hipòtesi hi ha el fet que la proteïna COX-2 no es detecta en pòlips més petits de 2 mm, cosa que indicaria que el tumor s'ha iniciat abans que s'expressés COX-2 (Oshima *et al.*, 1996). No obstant, altres investigadors han mostrat en ratolins Min que l'epiteli pròxim al tumor té l'isoenzim COX-2 augmentat. El mecanisme a través del qual COX-2 facilitaria el creixement es desconeix, tot i que s'ha vist que disminueix la resposta apoptòtica. Les dades de COX-2 en el càncer de còlon plantegen la qüestió de si la presència d'aquest isoenzim és del tot necessària. La resposta sembla que és que no. En el treball d'Oshima *et al.* (1996) es demostra que en els ratolins deficientes en COX-2 el nombre de pòlips es redueix al 86 %, però no arriba al 100 %. Això significa que hi ha altres vies que afavoreixen la formació de tumors, independents de COX-2. En aquest sentit recentment s'ha descrit que l'anul·lació del gen de COX-1 en els ratolins Min també disminueix el nombre d'adenomes espontanis (Chulada *et al.*, 1998).

Un altre dels mecanismes proposats per explicar l'efecte antitumoral de l'aspirina és la modulació de la proliferació cel·lular. Per tal d'estudiar aquest efecte hem utilitzat el cultiu de fibroblasts Swiss 3T3 de ratolí, ja que és un model molt útil per identificar els factors extracel·lulars que regulen el creixement i per conèixer els senyals i fenòmens

moleculars que condueixen a la mitogènesi. Aquestes cèl·lules poden mantenir-se quiescents en la fase  $G_0-G_1$  del cicle cel·lular en un medi lliure de factors de creixement exògens. L'addició de sèrum fresc o de determinats factors mitogènics induïx la síntesi de DNA i llur divisió. Aquest és un dels sistemes cel·lulars en què millor s'han estudiat els mecanismes a través dels quals els factors de creixement, generant senyals intracel·lulars, induïxen la divisió cel·lular. L'addició d'aspirina als cultius inhibeix significativament la síntesi de DNA induïda per dos factors de creixement: bombesina i PDGF (*platelet-derived growth factor*).

Els resultats obtinguts (Castaño *et al.*, 1997) demostren que l'aspirina té en cèl·lules Swiss 3T3 acció antiproliferativa. Les dades experimentals indiquen que l'aspirina només inhibeix l'acció mitogènica de factors de creixement que alliberen àcid araquidò-

nic, el substrat de COX, i que l'efecte antiproliferatiu de l'aspirina es pot revertir amb prostaglandina E2 exògena, el derivat majoritari de la via de la COX en aquestes cèl·lules (figura 4). L'explicació més senzilla per descriure els efectes de l'aspirina és que alguns productes de la COX podrien estar implicats en la inducció de la síntesi de DNA.

Una hipòtesi alternativa per explicar l'acció inhibidora de l'aspirina sobre la síntesi de DNA i la proliferació cel·lular és que l'aspirina afecti directament les vies de transducció de senyals que controlen aquests processos. Els nostres resultats indiquen que probablement hi hagi dos mecanismes diferents: un dependent de la inhibició de ciclooxigenasa (COX) i un altre independent.

El mecanisme dependent de COX té lloc a concentracions d'aspirina inferiors a 1 mM i es reverteix parcialment per PGE2 (Castaño *et al.*, 1997). Una explicació d'aquests resultats és que PGE2 i/o altres icosanoides derivats de la PGH2 participen en les vies de transducció de senyals estimulats per PDGF i bombesina, ja sigui potenciant alguna de les vies conegudes o bé activant noves vies no identificades. També és possible que els senyals induïts per PGE2 actuïn mantenint més temps els senyals induïts per PDGF i bombesina (figura 5). El mecanisme de l'acció antimitogènica de l'aspirina és diferent per a bombesina i PDGF. L'aspirina disminueix l'efecte mitogènic de la bombesina a concentració saturant, però només disminueix la mitogènesi de concentracions de PDGF subsaturants. Resultats semblants s'han aconseguit amb altres AINE (Mehmet *et al.*, 1990; Rozengurt *et al.*, 1983; Martínez *et al.*, 1997). Aquestes dades suggereixen que les prostaglandines són essencials per a l'acció mitogènica màxima de la bombesina. En canvi, altes concentracions de PDGF poden generar un senyal que sobrepassi la inhibició induïda per l'aspirina.

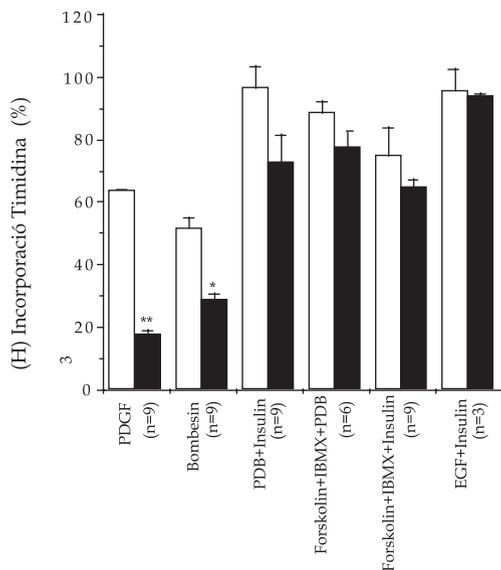


FIGURA 4. Efectes d'aspirina sobre la síntesi de DNA estimulada per diferents factors de creixement. Les cèl·lules Swiss 3T3 han estat incubades amb els factors de creixement indicats i en presència (negre) o absència (blanc) d'aspirina 1 mM (Castaño *et al.*, 1997).

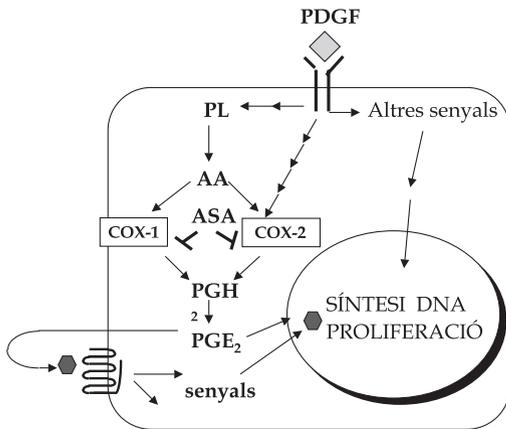


FIGURA 5. Mecanisme d'inhibició de la proliferació.

Existeixen dues vies de transducció de senyals que poden ser activats després de la unió de PGE<sub>2</sub> a diferents subtipus de receptors. Els receptors EP<sub>2</sub> i EP<sub>3</sub> estan acoblats a l'adenilat ciclase, mentre que el subtipus EP<sub>1</sub> estimula la fosfolipasa C (Halushka *et al.*, 1989). En les cèl·lules Swiss 3T3, alguns autors han descrit que PGE<sub>2</sub> augmenta els nivells d'AMP cíclic (Millar i Rozengurt, 1988; Rozengurt *et al.*, 1983), mentre que d'altres han descrit que PGE<sub>2</sub> no incrementa significativament els nivells d'AMP cíclic i suggereixen una activació de la proteïna quinasa C (Danesh *et al.*, 1994; Otto *et al.*, 1982). El nostre grup ha descrit que l'efecte inhibidor de l'aspirina pot ser contrarestat per agents que incrementen els nivells d'AMP cíclic però no per aquells que activen la proteïna quinasa C (Castaño *et al.*, 1997).

Recentment Chan i col·l. (1998) han mostrat que els efectes protectors dels AINE podrien ser deguts al bloqueig de COX que produiria un augment en la concentració d'àcid araquidònic i activació de l'enzim esfingomielinasa, i donaria lloc a la producció de ceràmida, que és un potent inductor d'apoptosi. Els autors lliguen aquesta hipòtesi amb les

dades que constaten que les mutacions de la fosfolipasa A<sub>2</sub> soluble (PLA<sub>2</sub>) donen lloc a augments en la incidència dels tumors (MacPhee *et al.*, 1995) i també amb el fet que la composició lipídica de la dieta pot afectar el risc de càncer, ja que s'han associat dietes riques en greixos insaturats amb baixa incidència de càncer colorectal (Reddy, 1994). Calen estudis més específics per conèixer el paper de l'àcid araquidònic afavorint la promoció tumoral en diferents cèl·lules i teixits o bé facilitant l'apoptosi en d'altres.

Els estudis epidemiològics demostren que petites dosis d'aspirina tenen un efecte benèfic en el càncer colorectal. Les concentracions que es poden assolir amb aquestes dosis en el teixit digestiu poden afectar ambdós isoenzims de COX però, tenint en compte les constants d'inhibició que demostren que COX-1 és unes cinquanta vegades més sensible que COX-2, seria l'isoenzim COX-1 el més fàcilment inhibible. Els nostres resultats demostren que els efectes màxims de l'aspirina s'aconsegueixen durant les dues primeres hores d'incubació de les cèl·lules en presència de factors de creixement, temps en el qual contenen principalment l'isoenzim COX-1. És a partir de les dues hores d'incubació amb bombesina o PDGF que augmenten significativament els nivells de COX-2. Durant aquest període l'aspirina té encara un efecte inhibidor en presència de PDGF, però no de bombesina. Aquestes dades suggereixen que l'efecte de l'aspirina en els cultius de cèl·lules 3T3 es produeix principalment com a conseqüència de la inhibició de COX-1. En aquest mateix sentit, Jang *et al.* (1997) han mostrat que el resveratrol, aïllat del raïm, móres, cacauts i fins a setanta-dues espècies diferents de plantes, té una acció inhibidora de la iniciació, promoció i progressió tumorals. Un dels possibles mecanismes moleculars d'aquest compost és el d'inhibir COX-1 sense modificar COX-2. Aquestes dades po-

drien també explicar diferents efectes benèfics del raïm i del vi en la prevenció de malalties cardiovasculars. Els efectes inhibitoris sobre COX-1 podrien modular directament l'expressió de COX-2, ja que recentment Tjandrawinata *et al.* (1997) han demostrat que PGE<sub>2</sub> indueix l'expressió de COX-2 en diferents tipus cel·lulars.

## MECANISMES INDEPENDENTS DE CICLOOXIGENASA

S'han publicat diferents treballs que contradueixen les dades que COX té un paper central en els efectes antitumorals d'aspirina i AINE. En primer lloc, hi ha dades que mostren que les prostaglandines poden inhibir el creixement cel·lular (Santoro *et al.*, 1976). També, que la inhibició de la proliferació cel·lular induïda per AINE no es correlaciona amb la inhibició de COX, ni pot revertir-se amb prostaglandines (De Mello *et al.*, 1980; Hanif *et al.*, 1996). Igualment, s'ha demostrat que sulindac sulfona inhibeix la carcinogènesi induïda en rates i té efectes antiproliferatius i indueix apoptosi en cèl·lules derivades de càncer de còlon, sense modificar COX (Piazza *et al.*, 1995, 1997; Hanif *et al.*, 1996). Aquests darrers resultats mostren que la inhibició de la proliferació es produïa tant en cèl·lules que sintetitzen prostaglandines (HT-29), com en d'altres que no tenen constitutivament COX (HCT-15) i, per tant, no produeixen prostaglandines (Hanif *et al.*, 1996). També els resultats del nostre grup mostren que la inhibició de COX no és suficient per induir l'apoptosi de cèl·lules de leucèmia limfàtica crònica de tipus B (Bellosillo *et al.*, 1998).

Els resultats obtinguts en cèl·lules 3T3 mostren que l'acció mitogènica a concentracions de PDGF saturants és totalment inhibida per l'aspirina 5 mM (taula 1). Existeixen tres diferents arguments que indiquen

TAULA 1. Efecte d'aspirina 5 mM en la síntesi de DNA

Addició	Aspirina (5mM)	Incorporació 3H-Timidina (%)
PDGF	-	93 ± 2
	+	2 ± 0.4
EGF + insulín	-	98 ± 5
	+	11 ± 7

Cèl·lules Swiss 3T3 es varen incubar amb factors de creixement i en presència o absència d'aspirina 5 mM. La concentració de PDGF era 0,4 nM, insulina 170 mM i EGF 8 nM. Els valors representen percentatges respecte a la resposta màxima obtinguda amb 10 % sèrum fetal boví (Castaño, 1997).

que aquest efecte a concentracions altes no és mitjançat inhibició de COX: a) l'aspirina 5mM inhibeix també l'efecte mitogènic d'EGF més insulina, els quals no indueixen alliberament d'àcid araquidònic; b) l'efecte inhibidor de l'aspirina (5 mM) en la mitogènesi estimulada per PDGF no és contrarestat per PGE<sub>2</sub> exògena; c) la corba dosi resposta d'aspirina per inhibir la síntesi de DNA és bifàsica amb un pla entre 0,5 i 2 mM, cosa que suggereix dos mecanismes diferents. El mecanisme d'inhibició de la proliferació cel·lular independent de COX, a concentracions d'aspirina superiors a 2 mM, es desconeix. Una possibilitat és que s'estigui inhibint una via comuna a PDGF, bombesina i altres factors de creixement. Hi ha altres dades que podrien explicar accions de l'aspirina independents de COX. Una de les descrites és a través del factor de transcripció AP-1. Aquest factor està format per membres de les famílies d'oncògens Jun i Fos, i és activat per diferents estímuls tals com els esters de forbol (TPA), el factor de creixement epidèrmic, TNF $\alpha$ , etc. L'aspirina inhibeix l'activació del factor AP-1, a les mateixes dosis que inhibeix la transformació induïda per TPA, a través d'un mecanisme independent de COX i que els autors suggereixen que és dependent de les modificacions de pH induïdes per l'aspirina i el salicilat (Dong *et al.*, 1997).

S'han descrit altres efectes de l'aspirina

sobre altres vies de transducció de senyals. Així, s'ha demostrat que l'aspirina inhibeix l'activació del factor de transcripció NF- $\kappa$ B a través de mecanismes independents de COX (Kopp i Ghosh, 1994). Aquest factor de transcripció és essencial per a l'expressió de diferents gens implicats en inflamació, immunitat i adhesió.

Un altre mecanisme podria ser la inhibició de quinases dependents de ciclines, que impedeix la progressió en el cicle cel·lular i afavoreix l'apoptosi. Shiff *et al.* (1996) han trobat una disminució de p33<sup>cdk2</sup> i p34<sup>cdk2</sup> després del tractament amb aspirina. La disminució de p33 i p34 correlaciona amb l'acumulació de les cèl·lules en fase G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>. També s'ha publicat que sulindac manté les cèl·lules en fase G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>. El bloqueig està associat amb modificacions de ciclines, cdks i p53 i pRb (Goldberg, 1996). Recentment s'ha descrit que el salicilat inhibeix l'activació de la quinasa activada per l'estrès (sapk/jnk) i activa la proteïna quinasa p38 MAPK (Schwenger *et al.*, 1997). Aquesta quinasa de la família MAPK és inhibidora de la proliferació cel·lular i inductora d'apoptosi, i per tant podria tenir un paper en les accions de l'aspirina. Aquesta quinasa inhibeix l'expressió de la ciclina D1 i, per tant, l'activació de les quinases dependents de ciclina D1 (cDK4/cDK6) i la posterior fosforilació de la proteïna del gen de retinoblastoma (pRb), i impedeix l'entrada de les cèl·lules en la fase S del cicle cel·lular (Lavoie *et al.*, 1996).

## CONCLUSIONS

Queden encara moltes qüestions per respondre sobre els possibles mecanismes que tenen l'aspirina i els AINE sobre el control de la proliferació cel·lular i apoptosi, i també sobre el seu paper en la iniciació, promoció i progressió de la transformació neoplàstica. En els propers anys s'haurà de clarificar el paper de

l'aspirina i els AINE en la inhibició de COX-1 i COX-2, estudiant si l'efecte es produeix per disminució del producte de les reaccions catalitzades per aquests isoenzims (prostaglandines -PGE<sub>2</sub>, PGJ<sub>2</sub>,...-), per l'augment de la concentració de substrat (araquidònic i ceramida) o bé per la disminució de l'activació de carcinògens i producció de radicals.

Molts treballs sostenen que la modulació de l'isoenzim COX-1 pot tenir una gran importància en la prevenció del càncer colorectal. Desconeixem a través de quins mecanismes es produeix aquest efecte, tot i que sabem que inhibeix la proliferació i facilita l'apoptosi en diferents tipus cel·lulars. En relació a l'isoenzim COX-2, les dades més recents ens mostren que la seva expressió és un fet primerenc i important en el càncer de còlon, la qual cosa suggereix que les drogues que inhibeixen COX-2 haurien de ser efectives en la quimioprevenció d'aquest tipus de càncer. En el futur haurem de poder explicar com es regula l'expressió de COX-2, quins mecanismes l'activen en el procés de carcinogènesi, quins són els productes relacionats amb els seus efectes i a través de quins mecanismes i, sens dubte, conèixer l'eficàcia d'inhibidors selectius i les dosis necessàries per obtenir els efectes benèfics. També cal ressenyar la possible utilització terapèutica de l'aspirina i d'altres AINE en el tractament de diferents patologies relacionades amb inhibició d'apoptosi.

Les dades epidemiològiques ens mostren que el consum regular d'aspirina redueix el càncer colorectal, tot i que desconeixem quines són les dosis necessàries per tal d'obtenir l'efecte òptim. Un treball recent en humans (Ruffin *et al.*, 1997) demostra que amb dosis diàries de 81 mg s'inhibeix la síntesi de prostaglandines intestinals. No tenim referències de si aquesta inhibició és suficient per obtenir els efectes benèfics o bé hi ha altres factors addicionals necessaris. De tots els resultats obtinguts, el que sembla

evident és que la quimioprevençió amb dosis baixes d'aspirina, semblants a les utilitzades en la prevençió de processos cardiovasculars, semblaria raonable per a les persones amb risc de càncer de còlon, sempre que no hi hagi contraindicacions. En els altres casos sembla evident que el més recomanable és una prevençió primària amb una dieta rica en vegetals que, a més del seu ric contingut en fibra, aporten diferents substàncies (salicilats, resveratrol...) capaces d'inhibir COX i oferir una quimioprevençió natural.

## AGRAÏMENTS

Aquest treball ha estat realitzat amb un ajut de la Marató de TV3 contra el Càncer i amb la col·laboració de Química Farmacèutica Bayer S. A., Divisió Consumer Care.

## BIBLIOGRAFIA

- ARVIND, P.; E. PAPAVALIOLIOU; G. TSIOLIAS (1995). «Prostaglandin E2 down-regulates the expression of HLA-DR antigen in human colon adenocarcinoma cell lines». *Biochemistry*, núm. 34, pàg. 5604-5609.
- BELLOSILLO, B.; M. PIQUÉ; M. BARRAGÁN; E. CASTAÑO; N. VILLAMOR; D. COLOMER; E. MONTSERRAT; G. PONS; J. GIL (1998). «Aspirin and salicylate induce apoptosis and activation of caspases in B-cell chronic lymphocytic leukemia cells». *Blood*, núm. 92, pàg. 1406-1414.
- BENNETT, A.; M. DELTACCA; I. F. STAMFORD; T. ZEBRO (1977). «Prostaglandins from tumors of the large bowel». *Br. J. Surg.*, núm. 35, pàg. 882-884.
- BOOLBOL, S. K.; A. J. DANNENBERG; A. CHADBURG; C. MARTUCCI; X. J. GUO; J. T. RAMONETTI; M. ABREU-GORIS; H. L. NEWMARK; M. L. LIPKIN; J. J. DECOSSE; M. M. BERTAGNOLLI (1996). «Cyclooxygenase-2 overexpression and tumor formation are blocked by sulindac in a murine model of familial adenomatous polyposis». *Cancer Res.*, núm. 56, pàg. 2556-2560.
- CAPDEVILA, J. H.; J. R. FALCK; R. W. ESTABROOK (1992). «Cytochrome P450 and the arachidonate cascade». *FASEB J.*, núm. 6, pàg. 731-736.
- CASTAÑO, E.; M. DALMAU; M. MARTÍ; F. BERROCAL; R. BARTONS; J. GIL (1997). «Inhibition of DNA synthesis by aspirin in swiss 3t3 fibroblasts». *J. Pharmacol. Exp. Therapeutics*, núm. 280, pàg. 366-372.
- CHAN, T. A.; P. J. MORIN; B. VOGELSTEIN; K. W. KINZLER (1998). «Mechanisms underlying nonsteroidal anti-inflammatory drug-mediated apoptosis». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, núm. 95, pàg. 681-686.
- CLARIA, J.; C. N. SERHAN (1995). «Aspirin triggers previously undescribed bioactive eicosanoids by human endothelial cell-leukocyte interactions». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, núm. 92, pàg. 9475-9579.
- CLARIA, J.; M. H. LEE; C. N. SERHAN (1996). «Aspirin-triggered lipoxins are generated by the human lung adenocarcinoma cell line (A549)-neutrophil interaction». *Mol. Medicine*, núm. 2, pàg. 583-596.
- CRAVEN, P. A.; F. R. DE RUBERTIS (1992). «Effects of aspirin on 1,2-dimethylhydrazine-induced colonic carcinogenesis». *Carcinogenesis*, núm. 13, pàg. 541-546.
- DANESH, U.; P. WEBER; A. SELLMAYER (1994). «Arachidonic acid increases c-fos and erg-1 mRNA in 3T3 fibroblasts by formation of prostaglandin E2 and activation of protein kinase C». *J. Biol. Chem.*, núm. 44, pàg. 27258-27263.
- DEMELLO, M.; B. BAYER; M. A. BEAVEN (1980). «Evidence that prostaglandins do not have a role in the cytostatic anti-inflammatory drugs». *Biochem. Pharmacol.*, núm. 29, pàg. 311-318.
- DINCHUK, J. E.; B. D. CAR; R. J. FOCHT; J. J. JOHNSTON; B. D. JAFFEE; M. B. COVINGTON; N. R. CONTEL; V. M. ENG; R. J. COLLINS; P. M. CZERNIAK; S. A. GORRY; J. M. TRZASKOS (1995). «Renal abnormalities and an altered inflammatory response in mice lacking cyclooxygenase 2». *Nature*, núm. 378, pàg. 406-409.
- DONG, Z.; C. HUANG; R. E. BROWN; W. Y. MA (1997). «Inhibition of activator protein 1 activity and neoplastic transformation by aspirin». *J. Biol. Chem.*, núm. 272, pàg. 9962-9970.
- DUBOIS, R. N.; J. SHAO; M. TSUJII; H. SHENG; R. D. BEAUCHAMP (1996). «G1 delay in cells overexpressing prostaglandin endoperoxide synthase-2». *Cancer Res.*, núm. 56, pàg. 733-737.
- EBERHART, C. E.; R. J. COFFEY; A. RADHIKA; F. M. GIARDIELLO; S. FERRENBACH; R. N. DUBOIS (1994). «Up-regulation of cyclo-oxygenase 2 gene expression in human colorectal adenomas and adenocarcinomas». *Gastroenterology*, núm. 107, pàg. 1183-1188.
- EGAN, K. M.; M. J. STAMPFER; E. GIOVANNUCCI; B. A. ROSNER; G. A. COLDITZ (1996). «Prospective study of regular aspirin use and the risk of breast cancer». *J. Natl. Cancer Inst.*, núm. 88, pàg. 988-993.
- ELDER, D. J. E.; A. HAGUE; D. J. HICKS; C. PARASKEVA (1996). «Differential growth inhibition by the aspirin metabolite salicylate in human colorectal tumor cell lines». *Cancer Res.*, núm. 56, pàg. 2273-2276.
- ELING, T. E.; D. C. THOMPSON; G. L. FOUREMAN; J. F. CURTIS; M. F. HUGHES (1990). «Prostaglandin H synthase and xenobiotic oxidation». *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, núm. 30, pàg. 1-45.

- FORMAN, B. M.; J. CHEN; R. M. EVANS (1997). «Hypolipemic drugs, polyunsaturated fatty acids, and eicosanoids are ligands for peroxisome proliferator-activated receptors  $\alpha$  and  $\gamma$ ». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, núm. 94, pàg. 4312-4317.
- GIARDELLO, F.; S. R. HAMILTON; A. J. KRUSH; S. PIANTADOSI; L. M. HYLIND; P. CELANO; S. V. BOOKER; C. R. ROBINSON; J. A. OFFERHAUS (1993). «Treatment of colonic and rectal adenomas with sulindac in familiar adenomatous polyposis». *N. Engl. J. Med.*, núm. 328, pàg. 1313-1316.
- GIOVANUCCI, E.; E. B. RIMM; M. J. STAMPFER; G. A. COLDITZ; A. ASCHERIO; W. C. WILLET (1994). «Aspirin use and the risk for colorectal cancer and adenoma in male health professionals». *Ann. Intern. Med.*, núm. 121, pàg. 241-246.
- GIOVANUCCI, E.; K. M. EGAN; D. J. HUNTER; M. J. STAMPFER; C. A. COLDITZ; W. C. WILLET; F. E. SPEIZER (1995). «Aspirin and the risk of colorectal cancer in women». *N. Engl. J. Med.*, núm. 333, pàg. 609-614.
- GOLDBERG, Y.; I. I. NASSIF; A. PITTAS; L. L. TSAI; B. D. DYNLACHT; B. RIGAS; S. J. SHIFF (1996). «The antiproliferative effect of sulindac and sulindac sulfide on HT-29 colon cancer cells: alterations in tumor suppressor and cell cycle-regulatory proteins». *Oncogene*, núm. 12, pàg. 893-901.
- GRIDLEY, G.; J. K. MCLOUGHLIN; A. EKBOM; L. KLARESKOG; H. O. ADAMI; D. G. HACKER; R. HOOVER; J. R. FRAUMENI (1993). «Incidence of cancer among patients with rheumatoid arthritis». *J. Natl. Cancer Inst.*, núm. 85, pàg. 307-311.
- GUSTAFSON-SVÄRD, C.; I. LILJA; O. HALLBÖÖK; R. SJÖDAHL (1997). «Cyclo-oxygenase and colon cancer: clues to the aspirin effect». *Annals of Medicine*, núm. 29, pàg. 247-252.
- HALUSHKA, P. V.; D. E. MAIS; P. R. MAYEUX; T. A. MORTINELLI (1989). «Thromboxane, prostaglandin and leukotriene receptors». *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, núm. 10, pàg. 213-239.
- HANIF, R.; A. PITTAS; Y. FENG; M. I. KOUTSOS; L. QIAO; L. STAIANO-COICO; S. I. SHIFF; B. RIGAS (1996). «Effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on proliferation and on induction of apoptosis in colon cancer cells by a prostaglandin-independent pathway». *Biochem. Pharmacol.*, núm. 52, pàg. 237-245.
- HENDRICKSE, C. W.; R. W. KELLY; S. R. NADLEY; I. A. DONOVAN; M. R. B. KEIGHLEY; J. P. NEOPTOLEMOS (1994). «Lipid peroxidation and prostaglandins in colorectal cancer». *Br. J. Surg.*, núm. 81, pàg. 1219-1223.
- HERSCHMAN, H. R. (1994). «Regulation of prostaglandin synthase-1 and prostaglandin synthase-2». *Cancer Metastasis Rev.*, núm. 13, pàg. 241-256.
- JACOBY, R. F.; D. J. MARSHALL; M. A. NEWTON; K. NOVAKOVIC; K. TUTSCH; C. E. COLE; R. A. LUBET; G. J. KELLOFF; A. VERMA; A. R. MOSER; W. F. DOVE (1996). «Chemoprevention of spontaneous intestinal adenomas in the APC Min mouse model by the nonsteroidal anti-inflammatory drug piroxicam». *Cancer Res.*, núm. 56, pàg. 710-714.
- JIANG, M.; L. CAI; G. O. UDEANI; K. V. SLOWING; C. F. THOMAS; C. W. W. BEECHER; H. S. FONG; N. R. FARNSWORTH; A. D. KINGHORN; R. G. MEHTA; R. C. MOON; J. M. PEZZUTO (1997). «Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes». *Science*, núm. 275, pàg. 218-220.
- JIANG, C.; A. T. TING; B. SEED (1998). «PPAR- $\gamma$  agonists inhibit production of monocyte inflammatory cytokines». *Nature*, núm. 391, pàg. 82-86.
- KARGMAN, S. L.; G. P. O'NEILL; P. J. VICKERS; J. F. EVANS; J. A. MANCINI; S. JOTHY (1995). «Expression of prostaglandin G/H synthase-1 and -2 protein in human colon cancer». *Cancer Res.*, núm. 55, pàg. 2556-2559.
- KOPP, E.; S. GHOSH (1994). «Inhibition of NF- $\kappa$ B by sodium salicylate and aspirin». *Science*, núm. 265, pàg. 956-959.
- KUJUBU, D. A.; B. S. FLETCHER; B. C. VARNUM; R. W. LIM; H. R. HESCHMAN (1991). «TIS10, a phorbol ester tumor promoter-inducible mRNA from mRNA Swiss 3T3 cells, encodes a novel prostaglandin synthase/cyclooxygenase homologue». *J. Biol. Chem.*, núm. 266, pàg. 12866-12872.
- KUJUBU, D. A.; S. T. REDDY; B. S. FLETCHER; H. R. HESCHMAN (1993). «Expression of the protein product of the prostaglandin synthase-2/TIS10 gene in mitogen-stimulated Swiss 3T3 cells». *J. Biol. Chem.*, núm. 268, pàg. 5425-5430.
- KUNE, G.; S. KUNE; L. WATSON (1988). «Colorectal cancer risk, chronic illness, operations, and medications: case control results from the Melbourne colorectal cancer study». *Cancer Res.*, núm. 48, pàg. 4399-4404.
- KURUMBAIL, R. G.; A. M. STEVENS; J. K. GIERSE; J. J. MCDONALD; R. A. STEGEMAN; J. Y. PAK; D. GILDEHAUS; J. M. MIYASHIRO; T. D. PENNING; K. SEIBERT; P. C. ISAKSON; W. C. STALLINGS (1996). «Structural basis for selective inhibition of cyclooxygenase-2 by anti-inflammatory agents». *Nature*, núm. 384, pàg. 644-648.
- KUTCHERA, W.; D. JONES; N. MATSUNAMI; J. GRODEN; T. M. MCINTYRE; G. A. ZIMMERMAN; R. L. WHITE; S. M. PRESCOTT (1996). «Prostaglandin H synthase 2 is expressed abnormally in human colon cancer: evidence for a transcriptional effect». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, núm. 93, pàg. 4816-4820.
- LANGENBACH, R.; S. G. MORHAM; H. F. TIANO; C. D. LOFTIN; B. I. GHANAYEM; P. C. CHULADA; J. F. MAHLER; C. A. LEE; E. H. GOULDING; K. D. KLUCKMAN; H. S. KIM; O. SMITHIES (1995). «Prostaglandin synthase 1 gene disruption in mice reduces arachidonic acid-induced inflammation and indomethacin-induced gastric ulceration». *Cell*, núm. 83, pàg. 483-492.
- LAVOIE, J. N.; G. L'ALLEMAIN; A. BRUNET; R. MÜLLER; J. POUYSSEUR (1996). «Cyclin D1 expression is regulated positively by the p42/p44 MAPK and nega-

- tively by the p38/hog MAPK pathway». *J. Biol. Chem.*, núm. 271, pàg. 20608-20616.
- LU, X.; W. XIE; D. REED; W. S. BRADSHAW; D. SIMMONS (1995). «Nonsteroidal antiinflammatory drugs cause apoptosis and induce cyclooxygenases in chicken embryo fibroblasts». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, núm 92, pàg. 7961-7965.
- LUPULESCU, A. (1978). «Enhancement of carcinogenesis by prostaglandins». *Nature*, vol. 272, pàg. 634-636.
- MACPHEE, M. K.; K. CHEPENIK; R. LIDDELL; K. NELSON; L. SIRACUSA; A. BUCHBERG (1995). «The secretory phospholipase A<sub>2</sub> gene is a candidate for the Mom1 locus, a major modifier of Apamin-induced intestinal neoplasia». *Cell*, núm. 81, pàg. 957-966.
- MARTÍNEZ, J.; T. SÁNCHEZ; J. J. MORENO (1997). «Role of prostaglandin H synthase-2 mediated conversion of arachidonic acid in controlling 3T6 fibroblast growth». *Am. J. Physiol.*, núm. 273, pàg. C1466-C1471.
- MASFERRER, J. L.; B. S. ZWEIFEL; P. T. MANNING; S. D. HAUSER; K. M. LEAHY; W. G. SMITH; P. C. ISAKSON; K. SEIBERT (1994). «Inhibition of inducible cyclooxygenase 2 in vivo is antiinflammatory and nonulcerogenic». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, núm. 91, pàg. 3228-3232.
- MEHMET, H.; J. B. A. MILLAR; W. LEHMANN; T. HIGGINS; E. ROZENGURT (1990). «Bombesin stimulation of *c-fos* expression and mitogenesis in Swiss 3T3 cells: the role of prostaglandin E<sub>2</sub>-mediated cyclic AMP accumulation». *Exp. Cell Res.*, núm 90, pàg. 265-270.
- MERETO, E.; L. FRENCIA; M. GHIA (1994). «Effect of aspirin on incidence and growth of aberrant crypt foci induced in the rat colon by 1,3-dimethylhydrazine». *Cancer Lett.*, núm. 76, pàg. 5-9.
- MILLAR, J. B.; E. ROZENGURT (1988). «Bombesin enhancement of cAMP accumulation in Swiss 3T3 cells: evidence of a dual mechanism of action». *J. Cell. Physiol.*, núm 137, pàg. 214-222.
- MORHAM, S. G.; R. LANHERBACH; C. D. LOFTIN; H. F. TIANO; N. VOULOUMANOS; J. C. JENNETTE; J. MAHLER; K. D. KLUCKMAN; A. LEDFORT; C. A. LEE; O. SMITHIES (1995). «Prostaglandin synthase 2 gene disruption causes severe renal pathology in the mouse». *Cell*, núm. 83, pàg. 473-482.
- NARISAWA, T.; M. SATO; M. TANI; T. KUDO; T. TAKAHASHI; A. GOTO (1981). «Inhibition of development of methylnitrosourea-induced rat colon tumors by indomethacin treatment». *Cancer Res.*, núm. 41, pàg. 1954-1957.
- OSHIMA, M.; J. E. DINCHUK; S. L. KARGMAN; H. OSHIMA; B. HANCOCK; E. KWONG; J. M. TRZASKOS; J. F. EVANS; M. M. TAKEO (1996). «Suppression of intestinal polyposis in APC knockout mice by inhibition of cyclooxygenase 2». *Cell*, núm. 87, pàg. 803-809.
- OTTO, A. M.; M. N. HAMILTON; B. D. BOSS; M. O. ULRICH; L. JIMÉNEZ DE ASUA (1982). «Prostaglandins E1 and E2 interact with prostaglandin F<sub>2</sub>α to regulate initiation of DNA replication and cell division in Swiss 3T3 cells». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, núm 79, pàg. 4992-4996.
- PELEG, I. I.; H. T. MAIBOCH; S. H. BROWN; C. M. WILCOX (1994). «Aspirin and non-steroidal anti-inflammatory drug use and the risk of subsequent colorectal cancer». *Arch. Int. Med.*, núm. 154, pàg. 394-399.
- PIAZZA, G. A.; A. L. KLULCHAK; M. KRUTZSCH; G. SPERL; N. S. PARANKA; P. H. GROSS; K. BRENDDEL; R. W. BURT; D. S. ALBERTS; R. PAMUKCU; D. J. AHNEN (1995). «Antineoplastic drugs sulindac sulfide and sulfone inhibit cell growth by inducing apoptosis». *Cancer Res.*, núm 55, pàg. 3110-3116.
- PIAZZA, G. A.; A. K. RAHM; T. S. FINN; B. J. FRYER; H. LI; A. L. STOUMEN; R. PAMUKCU; D. J. AHNEN (1997). «Apoptosis primarily accounts for the growth-inhibitory properties of sulindac metabolites and involves a mechanism that is independent of cyclooxygenase inhibition, cell cycle arrest and p53 induction». *Cancer Res.*, núm. 57, pàg. 2452-2459.
- PIAZZA, G. A.; D. S. ALBERTS; L. J. HIXSON; N. S. PARANKA; H. LI; T. FINN; C. BOGERT; J. M. GUILLEN; K. BRENDDEL; P. H. GROSS; G. SPERL; J. RITCHIE; R. W. BURT; L. ELLSWORTH; D. J. AHNEN; R. PAMUKCU (1997). «Sulindac sulfone inhibits azoxymethane-induced colon carcinogenesis in rats without reducing prostaglandin levels». *Cancer Res.*, núm. 57, pàg. 2909-2915.
- QIAO, L.; V. KOZONI; G. J. TSIOLIAS; M. I. KOUTSOS; R. HANIF; S. J. SHIFF; B. RIGAS (1995). «Selected eicosanoids increase the proliferation rate of human colon carcinoma cell lines and mouse colonocytes in vivo». *Biochim. Biophys. Acta*, núm. 1258, pàg. 215-223.
- RAO, C. V.; B. SIMI; T. T. WYNN; K. GARR; B. S. REDDY (1996). «Modulating effect of amount and types of dietary fat on colonic mucosal phospholipase A<sub>2</sub>, phosphatidylinositol-specific phospholipase C activities, and cyclooxygenase metabolite formation during different stages of colon tumor promotion in male F344 rats». *Cancer Res.*, núm. 56, pàg. 532-537.
- REDDY, B.; H. MARUYAMA; G. KELLOFF (1987). «Dose-related inhibition of colon carcinogenesis by dietary piroxicam, a nonsteroidal anti-inflammatory drug, during different stages of rat colon tumor development». *Cancer Res.*, núm. 47, pàg. 5340-5346.
- REDDY, B. S.; K. TOKUMO; N. KULKARNI; C. ALIGIA; G. KELLOFF (1992). «Inhibition of colon carcinogenesis by prostaglandin synthesis inhibitors and related compounds». *Carcinogenesis*, núm 13, pàg. 1019-1023.
- REDDY, B. S.; C. V. RAO; A. RIVENSON; G. KELLOFF (1993). «Inhibitory effect of aspirin on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in F344 rats». *Carcinogenesis*, núm. 14, pàg. 1493-1497.

- REDDY, S. T.; H. R. HERSCHMAN (1994). «Ligand-induced prostaglandin synthesis requires expression of the *TIS10/PGS-2* prostaglandin synthase gene in murine fibroblast and macrophages». *J. Biol. Chem.*, núm 269, pàg. 15473-80.
- REDDY, B.; C. RAO; K. SEIBERT (1996). «Evaluation of cyclooxygenase-2 inhibitor for potential chemopreventive properties in colon carcinogenesis». *Cancer Res.*, núm. 56, pàg. 4566-4569.
- RICOTE, M.; A. C. LI; T. M. WILLSON; C. J. KELLY; C. K. GLASS (1998). «The peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  is a negative regulator of macrophage activation». *Nature*, núm. 391, pàg. 79-82.
- RIGAS, B.; I. S. GOLDMAN; L. LEVINE (1993). «Altered eicosanoid levels in human colon cancer». *J. Lab. Clin. Med.*, núm. 122, pàg. 518-523.
- RIGAUX, J.; J. PIQUÉ; E. RUBIO; R. PLANAS; J. TARRECH; J. BORDAS (1991). «Effects of long-term sulindac therapy on colonic polyposis». *Ann. Intern. Med.*, núm. 115, pàg. 952-954.
- ROSENBERG, L. (1995). «Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cancer». *Prev. Med.*, núm. 24, pàg. 107-109.
- ROSENBERG, L.; J. R. PALMER; A. G. ZAUBER; M. E. WARSHAUER; P. D. STOLLEY; S. A. SHAPIRO (1991). «A hypothesis: Nonsteroidal anti-inflammatory drugs reduce the incidence of large-bowel cancer». *J. Natl. Cancer Inst.*, núm 83, pàg. 355-358.
- ROZENGURT, E.; P. STROOBANT; M. D. WATERFIELD; T. F. DEUEL; M. KEEHAN (1983). «Platelet-derived growth factor elicits cyclic AMP accumulation in Swiss 3T3 cells: role of prostaglandin production». *Cell*, núm. 34, pàg. 265-272.
- RUBIO, C. A. (1984). «Antitumoral activity of indomethacin on esophageal tumors». *J. Natl. Cancer Inst.*, núm. 72, pàg. 705-707.
- RUFFIN, M. T.; K. KRISHNAN; C. L. ROCK; D. NORMOLLE; M. A. VAERTEN; M. PETERS-GOLDEN; J. CROWELL; G. KELLOFF; C. R. BOLAND; D. E. BRENNER (1997). «Suppression of human colorectal mucosal prostaglandins: determining the lowest effective Aspirin dose». *J. Nat. Cancer Institute*, núm. 89, pàg. 1152-1160.
- SAMUELSSON, B.; S. E. DAHLEN; J. A. LINDGREN; C. A. ROUZER; C. N. SERHAN (1987). «Leukotrienes and lipoxins: structures, biosynthesis and biological effects». *Science*, núm. 237, pàg. 1171-1176.
- SANO, H.; Y. KAWAHITO; R. L. WILDER; A. HASHIRAMOTO; S. MUKAI; K. ASAI; S. KIMURA; H. KATO; M. KONDO; T. HIA (1995). «Expression of cyclooxygenase-1 and -2 in human colorectal cancer». *Cancer Res.*, núm. 55, pàg. 3785-3789.
- SANTORO, M. G.; G. W. PHILPOTT; B. M. JAFFE (1976). «Inhibition of tumour growth in vivo and in vitro by prostaglandin E». *Nature*, núm. 263, pàg. 777-779.
- SCHREINEMACHER, D. M.; R. B. EVERSON (1994). «Aspirin use and lung, colon and breast cancer incidence in a prospective study». *Epidemiology*, núm. 5, pàg. 138-146.
- SCHWENGER, P.; P. BELLOSTA; I. VIETOR; C. BASILICO; E. Y. SKOLNIK; J. VILCEK (1997). «Sodium salicylate induce apoptosis via p38 mitogen-activated protein kinase but inhibits tumor necrosis factor-induced c-jun n-terminal kinase/stress-activated protein kinase activation». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, núm. 94, pàg. 2869-2873.
- SHENG, H.; SHAO, J.; KIRKLAND, S. C.; ISAKSON, P.; COFFEY, R. C.; J. MORROW; R. D. BEAUCHAMP; R. N. DUBOIS (1997). «Inhibition of human colon cancer cell growth by selective inhibition of cyclooxygenase-2». *Cancer Res.*, núm. 99, pàg. 2254-2259.
- SHIFF, S. J.; L. QIAO; L. L. TSAI; B. RIGAS (1995). «Sulindac sulfide, an aspirin-like compound, inhibits proliferation, causes cell cycle quiescence, and induces apoptosis in HT-29 colon adenocarcinoma cells». *J. Clin. Invest.*, núm. 96, pàg. 491-503.
- SHIFF, S. J.; M. I. KOUTSOS; L. QIAO; B. RIGAS (1996). «Nonsteroidal antiinflammatory drugs inhibit the proliferation of colon adenocarcinoma cells: effects on cell cycle and apoptosis». *Exp. Cell Res.*, núm. 222, pàg. 179-188.
- SIMMONS, D. L.; D. B. LEVY; Y. YANNOINI; R. L. ERIKSON (1989). «Identification of a phorbol ester-repressible v-src-inducible gene». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, núm. 86, pàg. 841-848.
- SMITH, W. L.; R. M. GARAVITO; D. L. DEWITT (1996). «Prostaglandin endoperoxide H synthases (Cyclooxygenases)-1 and 2». *J. Biol. Chem.*, núm 271, pàg. 33157-33160.
- SUH, O.; C. METTLIN; N. J. PETRELLI (1993). «Aspirin use, cancer and polyps of the large bowel». *Cancer*, núm. 72, pàg. 1171-1177.
- THUN, M. J.; M. M. NAMBOODIRI; C. W. HEATH (1991). «Aspirin use and reduced risk of fatal colon cancer». *New Engl. J. Med.*, núm. 325, pàg. 1593-1596.
- THUN, M. J.; M. M. NAMBOODIRI; E. E. CALLE; W. D. FLANDERS; C. W. HEATH (1993). «Aspirin use and the risk of fatal cancers». *Cancer Res.*, núm. 53, pàg. 1322-1327.
- TJANDRAWINATA, R. R.; R. DAHIYA; M. HUGUES-FULFORD (1997). «Induction of cyclo-oxygenase-2 mRNA by prostaglandin E2 in human prostatic carcinoma cells». *Brit. J. Cancer*, núm. 75, pàg. 1111-1118.
- TSUJII, M.; R. N. DUBOIS (1995). «Alterations in cellular adhesion and apoptosis in epithelial cells overexpressing prostaglandin endoperoxide synthase-2». *Cell*, núm. 83, pàg. 493-501.
- VANE, J. R. (1994). «Towards a better aspirin». *Nature*, núm. 367, pàg. 315-216.
- VANE, J. R.; R. BOITING (1995). «A better understanding of anti-inflammatory drugs based on isoforms of cyclooxygenase (COX-1 and COX-2)». *Adv. Prosta-*

- glandin *Thromboxane Leukotriene Res.*, núm. 23, pàg. 41-48.
- WADDELL, W. R.; R. W. LOUGHRY (1983). «Sulindac for polyposis of the colon». *J. Surg. Oncol.*, núm. 24, pàg. 83-87.
- WILLIAMS, C. S.; R. N. DUBOIS (1996). «Prostaglandin endoperoxide synthase: Why two isoforms?». *Am. J. Physiol.*, núm. 270, pàg. G393-G400.
- YAMAGUCHI, A.; T. ISHIDA; G. NISHIMURA; M. KATOH; I. MIYAZAKI (1991). «Investigation of colonic prostaglandins in carcinogenesis in the rat colon». *Dis. Colon Rectum*, núm. 34, pàg. 572-576.