

# Inhibidores de la ciclooxigenasa-2 en la prevención del cáncer

J. J. Grau de Castro

Universidad de Barcelona. Servicio de Oncología. Hospital Clínic. Barcelona.

**La quimioprevención del cáncer es hoy en día una realidad. Se considera de uso clínico asistencial la prevención del cáncer de mama con tamoxifeno, del cáncer escamoso cutáneo con queratosis actínica mediante diclofenaco en gel y en poliposis familiar con el antiinflamatorio inhibidor de ciclooxigenasa-2 (COX-2) celecoxib. Este último, ha recibido una enorme atención por investigadores de cáncer por lo atractivo de su mecanismo de acción y sus posibilidades de uso clínico futuro en diversas neoplasias. Otros antiinflamatorios como ácido acetilsalicílico o sulindac también tienen un papel probado en quimioprevención del cáncer mediante la inhibición de ciclooxigenasas o de sustancias relacionadas. La revisión de los mecanismos por los que actúan estas sustancias nos da una clara idea de lo que es y lo que será la quimioprevención.**

**PALABRAS CLAVE:** ciclooxigenasa-2, COX-2, inhibidores de COX-2, prevención del cáncer, quimioprevención.

Grau de Castro JJ. Inhibidores de la ciclooxigenasa-2. *Rev Clin Esp* 2005;205(9):446-56.

**COX-2 inhibitors in cancer prevention. Chemoprevention of cancer is a reality today. Prevention of breast cancer with tamoxifen, of squamous cell skin cancer with actinic keratosis by diclofenac gel and in familial polyposis with anti-inflammatory drug (COX-2) celecoxib is considered of health care clinical use. The latter has received enormous attention by cancer investigators due to the attractiveness of its action mechanism and its possibilities of future clinical use in different neoplasms. Other anti-inflammatory drugs such as aspirin and sulindac also have a proven role in chemoprevention of cancer by cyclooxygenase inhibition or of related substances. The review of the mechanisms by which these substances act gives us a clear idea of what it is and what the chemoprevention will be.**

**KEY WORDS:** cyclooxygenase-2, COX-2, COX-2 inhibitor, cancer prevention, chemoprevention.

## Introducción

Por quimioprevención del cáncer se entiende la intervención farmacológica orientada a impedir o enlentecer el proceso carcinogénico, con el objetivo de evitar o demorar la aparición del cáncer clínicamente detectable. El período de tiempo transcurrido entre la iniciación y la etapa en que un cáncer alcanza el volumen suficiente como para ser diagnosticado por medios clínicos se ha estimado en varias décadas, lo que permite tomar medidas quimiopreventivas. La investigación de laboratorio nos ha proporcionado una lista creciente de sustancias con potencial quimiopreventivo como vegetales, inhibidores de la síntesis de poliaminas, retinoides, antiinflamatorios no esteroideos (AINE) y sus más recientes sucesores, los inhibidores de la ciclooxigenasa (COX-2) denominados COXIB. En esta revisión tratamos sobre este grupo de fármacos, dado que la mejora de su índice terapéutico en comparación a los AINE ha incrementado notablemente el in-

terés en el bloqueo de la COX-2 como estrategia farmacológica para la quimioprevención del cáncer humano<sup>1-4</sup>. La necesidad de incluir la quimioprevención como estrategia para reducir la mortalidad por cáncer es patente cuando se consideran las limitaciones del diagnóstico precoz mediante cribado de la población y el tratamiento del cáncer con los medios actuales<sup>5</sup>. Las consideraciones éticas que plantea la actividad preventiva han sido tratadas con la extensión y profundidad que la complejidad del tema merece en una revisión específica<sup>6</sup>, por lo que nos centraremos en la vertiente biológica del tema.

## Prostaglandinas, ciclooxigenasa-2 y proceso carcinogénico

Las observaciones pioneras que relacionaron prostaglandinas (PG) y cáncer se basaron en el hallazgo de concentraciones intratumorales de estas sustancias mayores que en el tejido sano circundante<sup>7</sup>. Las PG desempeñan en el proceso carcinogénico un papel promotor, ya que la reducción de sus niveles se asocia a una disminución de la carcinogénesis y por el contrario su incremento sostenido se asocia a un efecto facilitador de la aparición de tumores. En la figura 1 se muestra la vía metabólica de la síntesis de prostaglandinas y sus efectos sobre el proceso carcinogénico,

Correspondencia: J. J. Grau de Castro.  
Servicio de Oncología Médica.  
Hospital Clínic Barcelona.  
C./ Villarroel, 170.  
08036 Barcelona.  
Correo electrónico: jjgrau@medicina.ub.es

Aceptado para su publicación el 8 de abril de 2005.

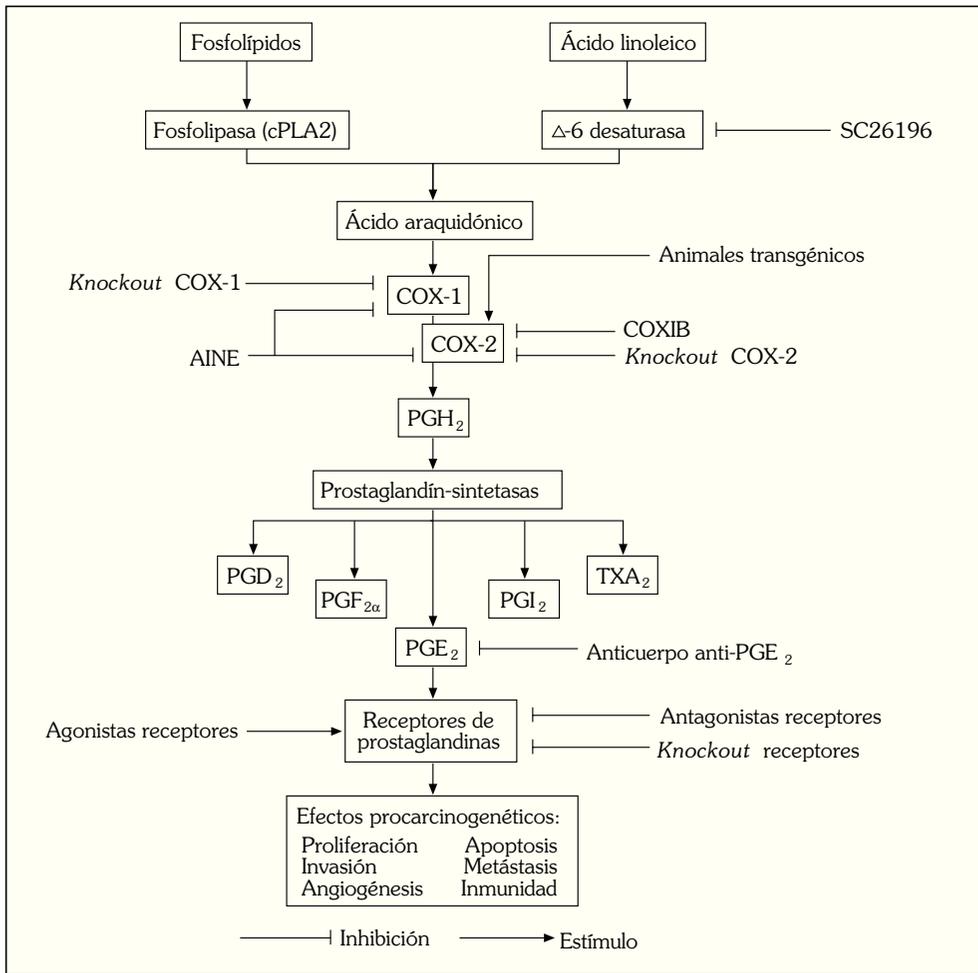


Fig. 1. Prostaglandinas y carcinogénesis. La inhibición farmacológica o genética en diferentes localizaciones de la vía de señalización de las prostaglandinas se asocia a una disminución de la carcinogénesis mientras que el estímulo sostenido facilita el proceso.

con los diferentes pasos intermedios que pueden ser interferidos mediante manipulaciones genéticas o farmacológicas. El ácido linoleico es un precursor dietético del ácido araquidónico (AA), conversión que se realiza por la acción de la enzima Δ-6-desaturasa. Cuando la acción de esta enzima es bloqueada por el inhibidor específico SC-26196, se produce una disminución de los niveles tisulares del AA y su correspondiente incremento en los niveles de ácido linoleico, lo que conlleva una reducción del orden del 35% de la incidencia de tumores intestinales en dos modelos murinos, y puede evitarse añadiendo AA en la dieta<sup>8</sup>. La actividad enzimática crucial para la vía metabólica de las PG es la COX, ya que su actividad resulta limitante para la tasa de síntesis de los productos finales. De las dos isoformas de la COX, la COX-2 es la que desempeña un papel más importante en la etiopatogenia del cáncer<sup>14</sup>. La sobreexpresión de COX-2 es suficiente para inducir cáncer de mama en ratones transgénicos. La inclusión de un promotor vírico en el gen de la COX-2 en las glándulas mamarias murinas indujo una alta incidencia de hiperplasia, displasia y carcinomas infiltrantes y metastatizantes que junto a la sobreexpresión de COX-2 mostraban una disminución de las proteínas proapoptóticas Bax y Bcl-xL junto a un incremento de la proteína antiapoptótica Bcl-2<sup>9</sup>.

Hay otros ejemplos en los que la COX-2 se ve activada por los diversos oncogenes: cáncer de mama HER-2 positivo y poliposis adenomatosa familiar (PAF)<sup>10,11</sup>. Para investigar si en este caso la COX-2 era funcionalmente importante se confirmó su expresión en un modelo murino de cáncer de mama generado por la transfección del gen *neu* (equivalente murino del HER humano), y a continuación se exploró el posible valor quimiopreventivo del celecoxib administrado durante el proceso de la carcinogénesis mamaria. Se observó una reducción del 50% en los niveles mamarios de prostaglandina (PGE<sub>2</sub>) que correlacionaba con una disminución en la incidencia de tumores mamarios<sup>12</sup>. Por otro lado, PAF representa un modelo acelerado de esta secuencia carcinogénica, ya que se nace con un alelo mutado del gen APC (*Adenomatous Polyposis Coli*), a diferencia de los casos esporádicos en los que dicha mutación se adquiere durante la vida adulta. Se observa que la COX-2 está sobreexpresada desde las etapas iniciales de los pólipos adenomatosos en seres humanos tanto en las formas hereditarias como en las esporádicas<sup>13</sup>. Existen modelos murinos que desarrollan neoplasias intestinales múltiples (*Min-mouse*) como consecuencia de una mutación en el gen APC y han facilitado enormemente la investigación en este campo<sup>14</sup>. En modelos murinos como en los humanos,

se observa que la COX-2 induce neoangiogénesis, imprescindible para el crecimiento del adenoma, y que puede ser inhibida por JTE-522 y otros COXIB<sup>15,16</sup>. En un modelo de carcinogénesis cutánea<sup>17</sup> se ha logrado desarrollar ratones con mutaciones en los genes COX-1 y COX-2 mediante técnicas de *Knockout* (anulación funcional del gen), que son deficientes en estas enzimas, cuya epidermis muestra cambios derivados de una diferenciación queratinocítica prematura, y que son más resistentes al efecto de los carcinógenos químicos que los ratones genéticamente normales. La inhibición farmacológica de la COX-2 con celecoxib ha mostrado un efecto preventivo sobre la carcinogénesis cutánea inducida por rayos ultravioleta, con efecto dependiente de la dosis<sup>18</sup>. La inhibición farmacológica de la COX-2, con COXIB a dos dosis distintas, produjo una disminución de la formación de pólipos del 62% y 50%, actividad claramente superior al efecto del sulindac (reducción del 26%), y que imita claramente el efecto del déficit genético<sup>19,20</sup>. Siguiendo en dirección corriente abajo de la vía biosintética de las PG, la prostaglandin-sintetasa E parece estar aumentada en adenomas y adenocarcinomas colorectales humanos, aunque de forma no exactamente paralela a la COX-2, hecho que se interpreta como una evidencia adicional sobre la importancia de la PGE<sub>2</sub> en el proceso carcinogénico<sup>21</sup>. En los modelos de *Min-mice* si se administran AINE o anticuerpos neutralizantes de PGE<sub>2</sub> se observa una reducción en el número y tamaño de las lesiones neoplásicas que tienden a ocurrir espontáneamente<sup>22</sup>. Añadiendo análogos de la PGE<sub>2</sub> se logra revertir el efecto preventivo de los AINE<sup>23</sup>. El último paso en la vía de señalización de las PG es el estímulo de los receptores específicos de prostaglandinas, de la membrana celular y nuclear<sup>24</sup>. La manipulación genética del receptor de la PGE<sub>2</sub>, EP2, también ha probado su influencia sobre la carcinogénesis. Pero también se han observado en el laboratorio otros mecanismos de acción por los que los AINE resultan antineoplásicos. Empleando sulindac e indometacina se observó que la inhibición no selectiva de ambas isoformas de la COX conducía a una acumulación de ácido araquidónico, que a su vez activaba la esfingomielinasa, lo que incrementaba la síntesis de ceramida, sustancia que ejerce un potente efecto proapoptótico<sup>25</sup>. Se han descrito otros mecanismos moleculares: activación de factor nuclear kappa-B (NF-κB) por algunos AINE<sup>26</sup>, la inhibición de la IKKβ y en consecuencia la inhibición de la fosforilación de la IκBα por parte del ácido acetilsalicílico, inhibición de la Bcl-X<sub>L</sub> por algunos AINE, etc. En las observaciones experimentales las concentraciones de fármacos que activan estos mecanismos son a menudo superiores a las que se pueden lograr en clínica, lo que ha motivado controversia sobre la importancia clínica de estos mecanismos.

### Ciclooxigenasa-2: una conexión entre inflamación y carcinogénesis

La comprensión del papel de la COX-2 en la biología del proceso carcinogénico está permitiendo construir una visión unificadora de fenómenos que hasta

hace poco creíamos dispersos. Recientemente ha quedado bien establecido que la infección por *Helicobacter pylori* es una causa de cáncer gástrico<sup>27</sup>. Se propone el posible valor de las dos opciones quimio-preventivas: erradicación del *H. pylori* e inhibición de la COX. Pero la erradicación del *H. pylori* no siempre se sigue de una desaparición de la COX-2 elevada, lo que puede ser explicado por la hipótesis de que una vez iniciado el proceso carcinogénico existe un punto de no retorno, en el que adquiere autonomía y se mantiene o incluso se estimula por efecto de promotores no relacionados con la causa iniciadora del proceso<sup>28,29</sup>. El estrés oxidativo es un potente inductor de la transcripción del factor de crecimiento del epitelio vascular (VEGF)<sup>30</sup>, que interactúa estrechamente con la COX-2 en la neoangiogénesis que soporta la carcinogénesis. Es un mutágeno capaz de dañar el ADN celular al tiempo que las proteínas responsables de su reparación, y por tanto el propio proceso inflamatorio puede actuar como iniciador del cáncer a través de los radicales libres de oxígeno y de óxido nítrico que genera<sup>31-33</sup>. Las células tumorales tienen la capacidad de aprovecharse de los factores tróficos secretados por las células inflamatorias, emplean las mismas moléculas de adhesión y utilizan las quimiocinas y sus receptores para emigrar y metastatizar, lo que presenta la visión del estroma tumoral «como una herida que no cura»<sup>34</sup>. Pero también se detecta COX-2 expresada en otras lesiones preneoplásicas y cánceres (tabla 1) en los que la inflamación no parece desempeñar un papel etiopatogénico tan relevante. Ha sido descrito que la inflamación puede ser evocada por las propias células tumorales epiteliales<sup>35</sup>, y en otros casos son las propias células epiteliales tumorales quienes expresan COX-2 en cantidades patológicas. En la figura 2 se esquematizan los mecanismos reguladores de la expresión de la COX-2, amalgamando procesos que en la realidad son específicos de tipo celular. La transcripción se produce como consecuencia de la activación de alguno de los sitios de la región promotora, o en algunos casos como resultado de la acción combinada de varios de estos sitios. Esta región puede activarse por estímulos tan diversos como in-

TABLA 1  
Lesiones que sobreexpresan ciclooxigenasa-2

Órgano	Preneoplasia	Cáncer
Colon	Adenoma	Adenocarcinoma
Estómago	Metaplasia	Adenocarcinoma
Esófago	Esófago de Barret	Adenocarcinoma Carcinoma escamoso
Hígado	Hepatitis crónica	Hepatocarcinoma
Vías biliares	Hiperplasia ductal	Colangiocarcinoma
Páncreas	Neoplasia intraepitelial	Adenocarcinoma
Cabeza y cuello	Leucoplasia	Carcinoma escamoso
Pulmón	Hiperplasia adenomatosa atípica	Adenocarcinoma Carcinoma escamoso
Mama	Carcinoma ductal <i>in situ</i>	Adenocarcinoma
Vejiga	Displasia	Carcinoma transicional
Cérvix	Neoplasia intraepitelial	Carcinoma escamoso
Piel	Queratosis actínica	Carcinoma escamoso

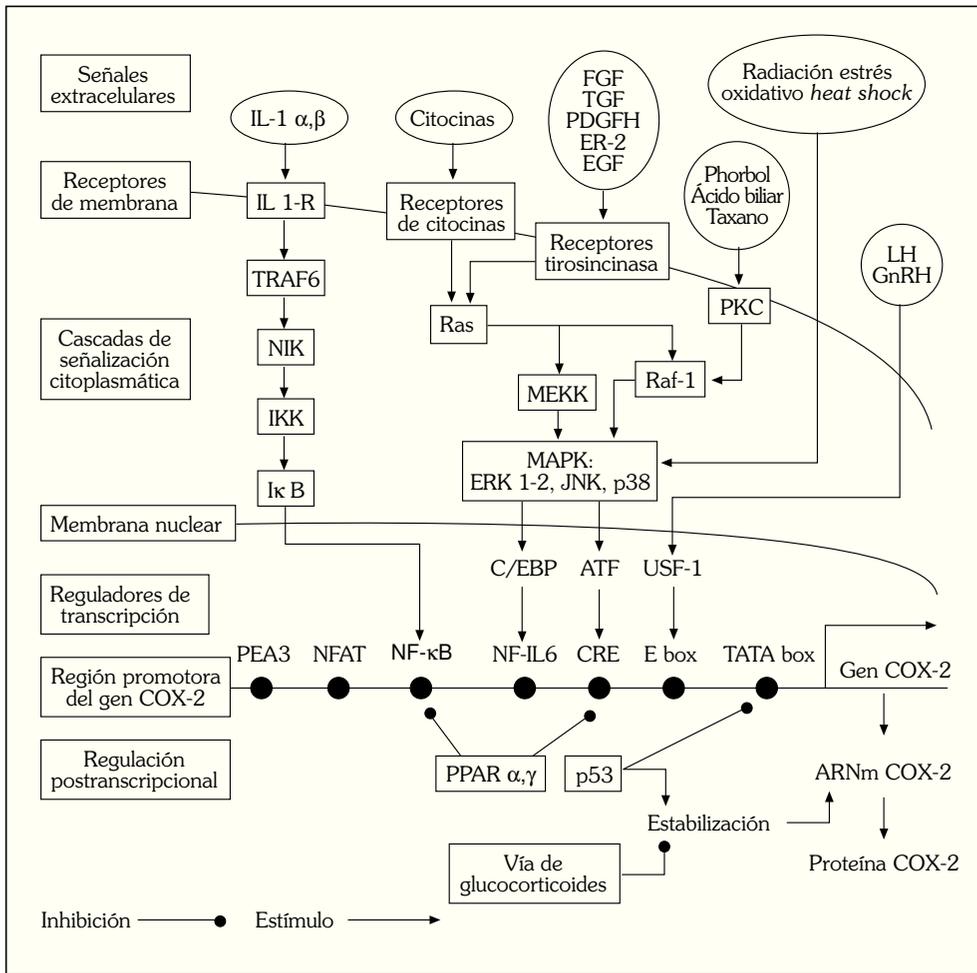


Fig. 2. Elementos reguladores de la COX-2. La región promotora del gen de la COX-2 se regula por diversos factores de transcripción que a su vez son activados por las vías de señalización esquematizadas en la figura. IL: interleucina; FGF: factor de crecimiento de fibroblastos; TGF: factor de crecimiento transformante; PDGF: factor de crecimiento derivado de plaquetas; HER-2: oncogén de la familia de factor de crecimiento epidérmico; EGF: factor de crecimiento epidérmico; TNF: factor de necrosis tumoral; TRAF: factor asociado al receptor TNF; NF: factor nuclear; NIK: cinasa inductora de NF-κB; IKK: complejo cinasa-IκB; MAPK: cascada de proteincinasa activada; ERK: cinasa reguladora de señales extracelulares; JNK: cinasa aminoterminal de c-Jun; CRE: elemento de respuesta cAMP; TATA(AA) promotor hexa-nucleotico; C/EBP: proteína unida al potenciador de CCAAT; PPAR: receptor activado-proliferante de peroxidasa. Adaptada de Dvorak HF<sup>34</sup>.

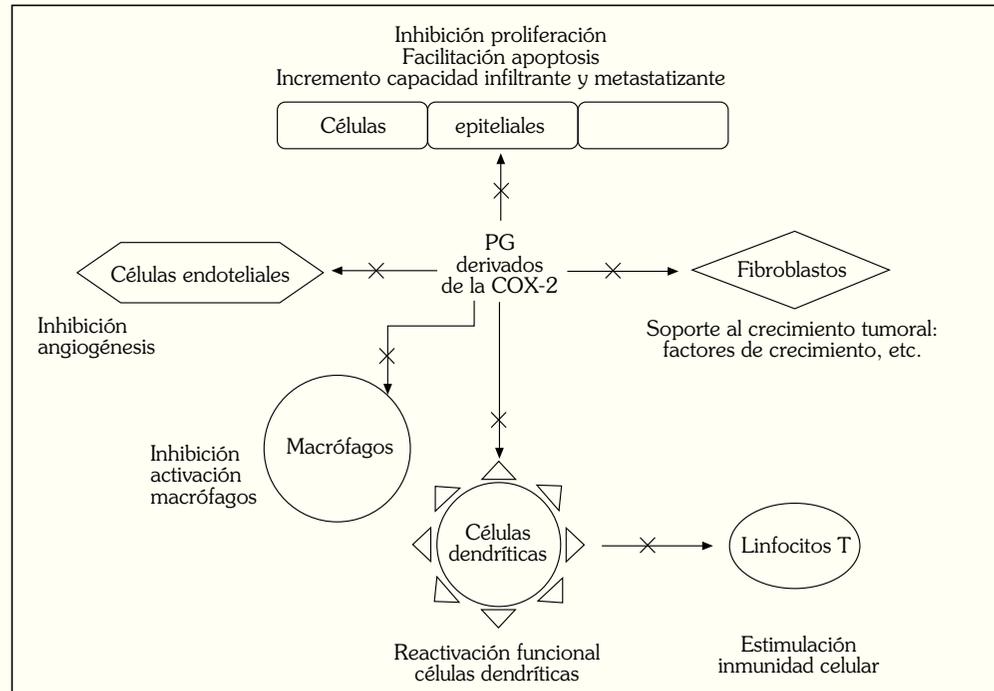
terleucinas, citocinas, factores de crecimiento peptídicos, hormonas, radiaciones, carcinógenos químicos, oncogenes, etc.<sup>36</sup>. La expresión de la COX-2 también está regulada a nivel postranscripcional a través de la estabilización del ARNm. Los corticoides parecen ser desestabilizadores del ARNm, con lo que se acelera su degradación, y en consecuencia se disminuye su función. El bloqueo de la COX-2 es un mecanismo de acción común a diversos agentes quimiopreventivos: retinoides como el ácido 9-cis-retinoico, antioxidantes como el pyrrolidinedithiocarbamato<sup>37</sup>, talidomida<sup>38</sup>, gefitinib<sup>39</sup>, e incluso los aceites de oliva y de pescado<sup>40</sup>. Parece claro que la COX-2 es inducible en respuesta a una gran variedad de estímulos implicados en la carcinogénesis, y esto explica la alta frecuencia con que se observa su expresión en un amplio abanico de lesiones preneoplásicas y cánceres.

**Efectos de las prostaglandinas derivadas de la COX-2 en la biología tumoral**

Las prostaglandinas ejercen efectos estimuladores de la proliferación celular, atenuadores de la apoptosis, moduladores de la expresión de moléculas de superficie que incrementan la capacidad de invasión

y metástasis, estimulan la angiogénesis, atraen y activan a los macrófagos y producen inmunosupresión a través de su efecto sobre las distintas subpoblaciones linfocitarias<sup>41</sup>. La formación de un cáncer es un proceso consistente en la adquisición de una serie de capacidades funcionales de la célula que le permitan su desarrollo autónomo<sup>42</sup>: a) autosuficiencia en las señales de crecimiento; b) pérdida de la sensibilidad a las señales anti-proliferativas; c) evasión de la apoptosis, o muerte celular programada; d) potencial de replicación ilimitado, que parece relacionado con la actividad de la telomerasa; e) angiogénesis, imprescindible para el aumento de tamaño tumoral, ya que ninguna célula puede sobrevivir a una distancia superior a las 100 μm de algún capilar, y f) capacidad de invasión y metástasis, la capacidad que confiere letalidad a los tumores. El modelo teórico es posible por un fenómeno de inestabilización genética que favorece la adquisición del fenotipo canceroso gobernado por un limitado número de genes cruciales<sup>43</sup>. Los prostanoideos derivados de la COX parecen ser un componente importante de la maquinaria molecular que rige el proceso carcinogénico, como lo demuestra la evidencia disponible sobre los mecanismos de acción de los fármacos inhibidores de los COX (fig. 3).

Fig. 3. Efectos celulares y microambientales de los inhibidores de la COX-2. X: Inhibidor de los efectos de las prostaglandinas (PG) por inhibición de la COX-2. El grado de participación de cada tipo celular es específico de lesión preneoplásica, por lo que las redes de señalización intercelular en la que participan las PG presentan variabilidad dependiente de órgano y lesión neoplásica. Cualquier tipo celular puede ser fuente de PG bajo circunstancias microambientales apropiadas que activen la expresión y función de la COX-2.



### Mecanismos de acción anticarcinogénica de los inhibidores de la ciclooxigenasa-2

#### Efectos antiproliferativo y proapoptótico

Existen pruebas experimentales que documentan el efecto inductor de la apoptosis<sup>44-47</sup>. Es probable que este efecto sea incluso más importante que la inhibición de la proliferación<sup>47</sup>. Una comparación directa del efecto de 6 COXIB (NS-398, nimesulida, meloxicam, etodolac, rofecoxib y celecoxib) sobre líneas celulares derivadas de cáncer de colon ha proporcionado los siguientes datos: todos ellos fueron capaces de suprimir la síntesis de PG, pero la capacidad de inhibir la proliferación e inducir apoptosis difería entre ellos<sup>48</sup>. El efecto inhibitorio de la fosforización de la quinas antiapoptótica Akt puede ser la causa de esta diferencia. Esta fosforilación de la Akt fue descrita en las líneas celulares derivadas de cáncer de próstata LNCaP (andrógeno-dependientes) y PC-3 (andrógeno-independientes)<sup>49,50</sup>. Las líneas celulares derivadas de tumores neuroectodérmicos primitivos resultaron más sensibles al efecto antitumoral del celecoxib que del rofecoxib, correlacionando este resultado con un efecto inhibitorio de la fosforilación de Akt y un efecto inductor de la caspasa-3 (promotora de la apoptosis) observables sólo en las células tratadas con celecoxib<sup>51</sup>. Se ha llegado a la conclusión de que los requerimientos estructurales para inhibir la COX-2 difieren de los necesarios para inducir apoptosis<sup>52</sup>.

#### Efecto antimetastásico

La relación entre las PG y la capacidad de adhesión celular a las proteínas de la matriz extracelular fue descrita a partir de experimentos de transfección de

COX-2 a cultivos de células intestinales. Las células transfectadas expresaban COX-2 y cambios fenotípicos entre las que había una expresión disminuida de E-cadherina, molécula fundamental para la adhesión y comunicación intercelular, que le confería una capacidad incrementada de sobrevivir adherida al matrigel y que también ha sido relacionada con una mayor capacidad para metastatizar<sup>53</sup>. La inhibición de la migración lograda a través de la inhibición de la COX-2 era reversible con la adición de PGE<sub>2</sub><sup>54</sup>. En otro modelo de células derivadas de cáncer de mama y otro de colon, se observó que indometacina, celecoxib, NS-398 y SC560 (inhibidor selectivo de COX-1) fueron capaces de reducir la capacidad metastásica de estos tumores<sup>55,56</sup>.

#### Inhibición de la angiogénesis

La inhibición de la angiogénesis es otro mecanismo crucial de los AINE y COXIB<sup>57-59</sup>. En modelos de neoangiogénesis *in vivo* la COX-2 parece ser la fuente principal de PG, mientras que la COX-1 no desempeña un papel destacado<sup>60</sup>, hecho que contrasta con los modelos de cultivos celulares *in vitro* en los que se sugiere que sí puede resultar importante<sup>61</sup>. El papel relativo de las isoenzimas de la COX fue evaluado con los inhibidores selectivos resultando que todos los fármacos capaces de inhibir la COX-2 produjeron una clara reducción de la neovascularización<sup>62</sup>. Además proporcionaron evidencia experimental de que la PGE<sub>2</sub> producida por el huésped, y actuando a través de los receptores tipo EP3, era esencial para este proceso<sup>63</sup>. El papel de la COX-2 en la neoangiogénesis se debe a un efecto regulador directo sobre la proliferación y apoptosis de las células endoteliales<sup>64</sup>,

además de un efecto indirecto mediado por la inducción de factores proangiogénicos como el VEGF<sup>65</sup>. Aún más importante para la quimiopreención es el hecho de que la neoangiogénesis tumoral anómala se inicia en las etapas preneoplásicas<sup>66</sup>. Resulta interesante que las PG derivadas de la COX-2 son capaces de inducir la síntesis y secreción de VEGF por parte de fibroblastos y macrófagos, y a su vez, el VEGF tiene la capacidad de inducir la expresión de COX-2 en las células endoteliales humanas<sup>67</sup>, con lo que constituyen un bucle de señalización molecular de importancia capital para la angiogénesis. Se ha propuesto el término de «angiopreención» como estrategia para prevenir el cáncer<sup>68</sup>.

### *Papel de los fibroblastos*

La expresión de COX-2 en lesiones preneoplásicas como los pólipos adenomatosos a menudo se localiza en el estroma, específicamente en fibroblastos, macrófagos y otras células inflamatorias<sup>69</sup>. Los fibroblastos parecen desempeñar un papel en la carcinogénesis más importante de lo que hasta ahora se ha reconocido. Cultivos de fibroblastos humanos obtenidos mediante biopsias de colon normal, afecto por carcinoma, y áreas adyacentes al tumor han mostrado una capacidad de expresión de COX-2 y secreción de PG cuantitativamente bien diferenciadas en respuesta a interleucina-1B (IL-1β), lo que se interpreta como prueba de su papel como fuente de PG en el proceso carcinogénico<sup>70</sup>. Pero esta capacidad de producir COX-2 se ve restringida cuando los fibroblastos entran en fase proliferativa<sup>71</sup>. Investigando este fenómeno se ha descrito que también son capaces de producir y secretar un factor bautizado como cytoguardin, que inhibe la expresión de la COX-2 ante estímulos de tipo citocinas y factores de crecimiento, y que además induce una intensa inhibición de la angiogénesis<sup>72</sup>. La función de los fibroblastos puede adoptar características específicas de órgano. Por ejemplo, en el estroma mamario la PGE<sub>2</sub> estimula la síntesis de aromatasa, fuente principal de estrógenos en mujeres postmenopáusicas, y de este modo el estroma actúa como fuente microrregional del mitógeno más potente conocido para el tejido glandular mamario<sup>73</sup>.

### *Inhibición de los macrófagos*

La presencia de un infiltrado de células inflamatorias peritumorales se ha interpretado como prueba de que el sistema inmunitario ejerce algún tipo de acción antitumoral, aunque también se ha interpretado como cooperantes en la progresión tumoral. La activación de macrófagos implica la secreción de grandes cantidades de VEGF, entre otras citocinas y enzimas proteolíticas, y su presencia se correlaciona con la angiogénesis tumoral peri e intratumoral<sup>74</sup>. La respuesta humoral contra antígenos solubles tumorales inducía un incremento de la proliferación tumoral, y los inmunocomplejos depositados en la matriz extracelular eran los responsables de la activación de los macrófagos.

También, las mucinas producidas por las células de cáncer de colon son capaces de inducir de forma dosis-dependiente la expresión de ARNm y proteína de COX-2 en los macrófagos, produciéndose síntesis de PGE<sub>2</sub> y la subsiguiente activación macrofágica, con la consiguiente secreción de VEGF y otras citocinas<sup>74</sup>. La adición de un inhibidor selectivo de la COX-2 (SC236) antes de la activación de los macrófagos fue capaz de impedirlo, y los efectos de dicha activación no se reproducen por la adición exclusiva de PGE<sub>2</sub><sup>75</sup>. La COX-2 desempeña un papel importante en la activación macrofágica, y los inhibidores de la COX-2 pueden antagonizarla, ejerciendo así, un efecto antitumoral.

### *Efecto inmunomodulador*

La PGE<sub>2</sub> desempeña un importante papel inmunomodulador que posibilita el escape de los tumores al sistema de inmunovigilancia al favorecer la respuesta humoral en detrimento de la respuesta celular. En cultivos de linfocitos T pudo comprobarse que la COX-2 formaba parte del conjunto de genes de reacción inmediata que mediaban la activación linfocitaria, y que los COXIB NS-398 y celecoxib eran capaces de interferir esta activación<sup>76</sup>. Sin embargo, los estudios *in vivo* mostraron que la inhibición de la COX-2 era capaz de restaurar la inmunidad celular antitumoral a través de la disminución de IL-10 (inmunosupresora) y el incremento de la IL-12 (inmunoestimuladora)<sup>77</sup>. Las investigaciones más recientes han identificado a las células dendríticas (CD) como las fundamentales en la regulación de este proceso. Son capaces de expresar COX-2 y sintetizar PGE<sub>2</sub> que induce la producción de IL-10, que a su vez inhibe a la IL-12, y la subsiguiente inhibición funcional de la CD. La inhibición de la COX-2 produjo los efectos contrarios, inhibiendo la síntesis de PGE<sub>2</sub>, disminuyendo la IL-10, incrementando la cantidad de IL-12 y como resultado de todo ello restaurando la función de la CD<sup>78</sup>. La inhibición de la COX-2 tumoral podría prevenir la anulación funcional de las CD inducida por los tumores<sup>79</sup>.

### **Evidencias en seres humanos de la actividad quimiopreventiva de los inhibidores de la ciclooxigenasa**

A finales de los años 70 y durante los años 80, los estudios epidemiológicos señalaban cierta asociación entre el consumo de AINE y la disminución en la incidencia de cáncer colorrectal. Durante la década de los 90 se publicaron numerosos estudios epidemiológicos que mostraban el efecto quimiopreventivo del ácido acetilsalicílico y otros AINE. Los resultados son consistentes en mostrar este efecto quimiopreventivo y de reducción de la incidencia de pólipos o de cáncer<sup>80</sup>. Los primeros resultados comunicados de estos ensayos<sup>80,81</sup> han sido positivos: la administración de ácido acetilsalicílico a una población de alto riesgo reduce la incidencia de nuevos pólipos.

Era conocida la eficacia del sulindac y del piroxicam para reducir el número y tamaño de los pólipos de co-

lon de pacientes con PAF. Un ensayo prospectivo, aleatorizado y doble ciego que incluyó 22 pacientes mostró que el sulindac era capaz de inducir una reducción estadísticamente significativa del número y tamaño de los pólipos en comparación al placebo<sup>82</sup>. El efecto del celecoxib fue investigado más recientemente en un ensayo prospectivo que incluyó 77 pacientes y que comparó placebo con dos niveles de dosis: 200 mg y 800 mg al día. Los resultados mostraron que las dosis altas de celecoxib fueron capaces de reducir el número y tamaño de los pólipos en colon<sup>83</sup>. También los pólipos duodenales mostraron reducción de tamaño con este COXIB<sup>84</sup>.

La incidencia de cáncer de mama en relación con el consumo de AINE es el segundo tumor más investigado, tras el cáncer de colon. Aunque los estudios individuales no presentaron resultados tan consistentes como los de colon, un metaanálisis ha mostrado que el efecto conjunto de todos los estudios incluidos muestra una reducción de la incidencia estadísticamente significativa<sup>85</sup>. Cabe citar estudios epidemiológicos que indican reducción de incidencia de cáncer de pulmón<sup>86</sup>, vejiga urinaria<sup>87</sup>, tracto aerodigestivo superior<sup>88</sup> y páncreas<sup>89</sup>, entre otros<sup>90-92</sup>.

En un estudio prospectivo se observó que los niveles de PGE<sub>2</sub> de tejido tumoral elevados disminuían claramente en pacientes con cáncer de pulmón que se trataban con quimioterapia preoperatoria más celecoxib frente a los que se trataban con quimioterapia sólo, con una influencia positiva en la respuesta clínica<sup>93</sup>.

Por último hay otro tipo de datos cuya relevancia para la quimioprevención, aunque sea indirecta, parece incuestionable: la detección de niveles elevados de COX-2 en tumores humanos, y el valor pronóstico negativo que dicha expresión conlleva<sup>1-3</sup>. Un porcentaje que oscila entre el 40% y el 90% de los tumores humanos más frecuentes (colon, pulmón, mama, próstata, etc.) muestra expresión elevada de COX-2<sup>94</sup>. Un creciente número de publicaciones está documentando que el incremento de función de la COX-2 conlleva un peor pronóstico<sup>95,96</sup>. La interpretación de estas observaciones es que la COX-2 no sólo contribuye a la carcinogénesis, sino que tras el pleno desarrollo fenotípico del cáncer sigue actuando como un acelerador de la agresividad biológica.

### Seguridad de los inhibidores de la ciclooxigenasa

Ya hemos señalado que la seguridad de la medicación es tan importante como su eficacia para que la quimioprevención sea viable. El ácido acetil salicílico usado en la prevención de accidentes cardiovasculares, conlleva riesgo de accidente cerebrovascular hemorrágico (*odds ratio*: 1,4; IC 95%: 0,9 a 2), y hemorragia gastrointestinal (*odds ratio*: 1,7; IC 95%: 1,4 a 2,1), que restan parte del beneficio logrado en población de alto riesgo, o incluso pueden resultar en un balance negativo en poblaciones de bajo riesgo<sup>97</sup>. Los COXIB no afectan a las plaquetas porque éstas carecen de COX-2<sup>98</sup>. La toxicidad gastrointestinal de los AINE alcanza proporciones que le proyectan co-

mo problema de salud pública, tanto por la morbimortalidad, como por el impacto económico sobre los sistemas de salud<sup>99</sup>. La reducción de esta toxicidad fue una de las principales motivaciones para el desarrollo de los COXIB. Los ensayos conocidos como VIGOR<sup>100</sup> y CLASS<sup>101</sup> compararon con AINE el rofecoxib y el celecoxib respectivamente, administrados a dosis superiores a las recomendadas para su uso como antiinflamatorios. Ambos COXIB mostraron una menor incidencia de complicaciones gastrointestinales que los AINE elegidos como comparadores. El metaanálisis de los estudios aleatorizados que compararon celecoxib con otros AINE mostró una ventaja a favor del celecoxib en abandonos del tratamiento por efectos gastrointestinales, incidencia de úlceras detectables por endoscopia y úlceras sintomáticas, perforaciones, hemorragias y obstrucciones<sup>102</sup>.

La función renal es el aspecto en el que los COXIB menos han reducido el bajo riesgo asociado a los AINE. Como advierten la fichas técnicas de los COXIB comercializados puede observarse deterioro de la función renal con una frecuencia similar a la conocida para los AINE. La alteración de la función renal y de la presión sanguínea fue inferior con celecoxib que con otros AINE. Las diferencias entre los dos COXIB ya se habían detectado por el sistema de farmacovigilancia de la Organización Mundial de la Salud (OMS) que registra los comunicados espontáneos de efectos farmacológicos adversos, y que había advertido diferencias significativas en las que el rofecoxib provoca mayor número de casos de edema, deterioro de la función renal, insuficiencia renal aguda, insuficiencia cardíaca e hipertensión que el celecoxib<sup>103-105</sup>.

### Perspectivas de futuro

El concepto de que la prevención del cáncer en seres humanos es posible mediante el empleo de AINE y COXIB ha recibido un fuerte apoyo de los ensayos clínicos prospectivos aleatorizados<sup>80-82</sup> que han mostrado que es posible modificar la historia natural de una patología preneoplásica como los pólipos del colon. La importancia de este hecho fue reconocida en EE.UU. al aprobarse la indicación del celecoxib para el tratamiento de la PAF. Las ventajas de los COXIB sobre otros AINE en cuanto a efectos secundarios les sitúan como candidatos ideales para la quimioprevención. Se están realizando ensayos de prevención de la recurrencia de pólipos adenomatosos esporádicos con celecoxib y con rofecoxib. También se está investigando el papel del celecoxib en otros procesos preneoplásicos como esófago de Barret, carcinoma *in situ* de vejiga urinaria, keratosis actínica, broncopatía por tabaco, mama de riesgo, etc. Recientemente se han comunicado algunos resultados preliminares de celecoxib en lesiones preneoplásicas de cérvix uterino, y resultan bastante esperanzadores, tanto en displasia como en carcinoma intraepitelial<sup>106</sup>.

Además, existe otro argumento comparativo: el celecoxib y el piroxicam se encuentran entre los agentes más potentes en reducir la incidencia de tumores intestinales inducidos por las 186 sustancias evaluadas

en un modelo de carcinogénesis experimental<sup>107</sup>. El significado de esta evidencia es claro: no sólo hay buenas pruebas científicas que avalen el estudio en seres humanos del potencial quimiopreventivo de los COXIB, sino que el celecoxib es una de las opciones más atractivas del amplísimo panel de moléculas candidatas a evaluación clínica.

Los estudios más recientes están encaminados a explorar el potencial quimiopreventivo de celecoxib en otras neoplasias aparte del cáncer colorrectal, entre los que cabe destacar el cáncer de pulmón, próstata y de mama<sup>108-112</sup>. En esta última neoplasia, llama la atención la correlación de la sobreexpresión de COX-2 y HER2 que confiere mayor agresividad biológica a la célula tumoral y que puede inhibirse con trastuzumab<sup>113</sup>. Nosotros mismos estamos investigando el posible efecto de ese fármaco en la prevención de recidivas y de segundas neoplasias en pacientes con cáncer de cabeza y cuello<sup>114</sup>, y su posible monitorización con mARN de COX-2 en sangre periférica<sup>115</sup>. Además, se está observando que celecoxib también potencia el efecto de la radioterapia sin incrementar su toxicidad<sup>116,117</sup>.

Recientemente se han publicado tres estudios randomizados que evidencian el riesgo cardiovascular de rofecoxib, celecoxib y valdecoxib<sup>118-120</sup>. El estudio APPROVe para prevención de pólipos adenomatosos de colon con rofecoxib puso de manifiesto que doblaba el riesgo de accidentes cardiovasculares comparado con placebo. Como consecuencia, se paró el estudio y se retiró rofecoxib del mercado en septiembre de 2004. Un estudio similar para prevención de pólipos de colon (*APC Study*), con celecoxib 200 ó 400 mg dos veces al día, ha evidenciado un 2,3% y un 3,4% respectivamente más accidentes cardiovasculares que placebo<sup>119</sup>. Además, el estudio de valdecoxib para dolor cardíaco tras *by-pass* coronario, evidenció el doble de efectos secundarios cardíacos que el placebo<sup>120</sup>. Los inhibidores de COX-2 no sólo carecen del efecto antiplaquetario del ácido acetilsalicílico, sino que alteran las defensas del endotelio vascular contra la agregación plaquetaria, la hipertensión y la arterioesclerosis y además favorecen la vasoconstricción<sup>121</sup>. La mejor relación riesgo-beneficio obtenida con celecoxib, que se muestra menos cardiotoxico que otros COXIB ha hecho que un comité de expertos reunido por la *Food and Drug Administration* de EE.UU. aconseje por el momento que continúe en el mercado y en los ensayos clínicos, aunque incluyendo en la ficha técnica y en la información para el paciente, la advertencia de la posible cardiotoxicidad en los pacientes con riesgo, especialmente en fumadores activos y pacientes con antecedentes recientes de cardiopatía isquémica<sup>122</sup>.

Es oportuno mencionar que la reticencia que suscita la noción de prevenir el cáncer con fármacos deberá considerar cuidadosamente los resultados de los ensayos que se publicarán en los próximos años y que vendrán a sumarse a los ya publicados con antiestrógenos en la prevención del cáncer de mama, además de los mencionados con celecoxib y ácido acetilsalicílico. La opinión negativa sobre la medicalización progresiva de

la vida, vigente en algunos sectores sociales, deberá contrastarse con la posibilidad de prolongar la vida media de la población a través de la reducción o retraso de la incidencia de los cánceres más frecuentes.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Koki AT, Leahy KM, Masferrer JL. Potential utility of COX-2 inhibitors in chemoprevention and chemotherapy. *Exp Opin Invest Drugs*. 1999;8:1623-38.
2. Danenberg AJ, Altorki NK, Boyle JO, Dang C, Howe LR, Wek Sler BB, et al. Cyclo-oxygenase 2: a pharmacological target for the prevention of cancer. *Lancet Oncol*. 2001; 2:544-51.
3. Thun MJ, Henley SJ, Patrono C. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs as anticancer agents: mechanistic, pharmacologic, and clinical issues. *J Natl Cancer Inst*. 2002;94:252-66.
4. Vainio H. Is COX-2 inhibition a panacea for cancer prevention? *Int J Cancer*. 2001;94:613-4.
5. Picó Navarro C, Bosch José X. Quimiopreención del cáncer de mama. *Rev Cancer (Madrid)*. 2002;16:138-53.
6. Altisent R, Brotons C, González R, Serrat D, Judez J, Gracia D. Ética de la actividad preventiva en Atención Primaria. *Med Clin (Barc)*. 2001;117:740-50.
7. Bennett A, Charlier EM, McDonald AM, Simpson JS, Stamford IF, Zebro T. Prostaglandins and breast cancer. *Lancet*. 1977;2:624-6.
8. Hansen-Petrik MB, McEntee MF, Johnson BT, Obukowicz MG, Masferrer J, Zvejil B, et al. Selective inhibition of  $\Delta$ -6 desaturase impedes intestinal tumorigenesis. *Cancer Letters*. 2002; 175:157-63.
9. Liu CH, Chang SH, Narko K, Trifan OC, Wu MT, Smith E, et al. Overexpression of cyclooxygenase-2 is sufficient to induce tumorigenesis in transgenic mice. *J Biol Chem*. 2001; 276:18563-9.
10. Vadlamudi R, Mandal M, Adam L, Steinbach G, Mendelsohn J, Kumar R. Regulation of cyclooxygenase-2 pathway by HER2 receptor. *Oncogene*. 1999;18:305-14.
11. Subbaramaiah K, Norton L, Gerald W, Dannenberg AJ. Cyclooxygenase-2 is overexpressed in HER-2/neu-positive breast cancer. Evidence for involvement of AP-1 and PEA3. *J Biol Chem*. 2002;277:18649-57.
12. Howe LR, Subbaramaiah K, Patel J, Masferrer JL, Deora A, Hudis C, et al. Celecoxib, a selective Cyclooxygenase 2 inhibitor, protects against human epidermal factor receptor 2 (HER-2)/neu-induced breast cancer. *Cancer Res*. 2002;62:5405-7.
13. Hao X, Bishop AE, Wallace M, Wang H, Willcocks TC, Maclouf J, et al. Early expression of cyclo-oxygenase-2 during sporadic colorectal carcinogenesis. *J Pathol*. 1999;187:295-301.
14. Kucheralapati R, Lin DP, Edelmann W. Mouse models for human familial adenomatous polyposis. *Semin Cancer Biol*. 2001;11:219-25.
15. Sonoshita M, Takaku K, Oshima M, Sugihara K, Taketo MM, et al. Cyclooxygenase-2 expression in fibroblasts and endothelial cells of intestinal polyps. *Cancer Res*. 2002; 62:6846-9.
16. Sunayama K, Konno H, Nakamura T, Kashiwabara H, Shoji T, Tsuneyoshi T, et al. The role of Cyclooxygenase-2 in two different morphological stages of intestinal polyps in APC D474 knockout mice. *Carcinogenesis*. 2002;23:1351-9.
17. Müller-Decker K, Neufang G, Berger I, Neumann M, Marks F, Furstnerberger G. Transgenic cyclooxygenase-2 overexpression sensitizes mouse skin for carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci*. 2002;99:12483-8.
18. Fisher SM, Lo HH, Gordon GB, Seibert K, Kelloff G, Lubet RA, et al. Chemopreventive activity of celecoxib, a specific cyclooxygenase-2 inhibitor, and indomethacin against ultraviolet light-induced skin carcinogenesis. *Mol Carcinog*. 1999;25:231-40.
19. Reddy BS, Hirose Y, Lubet R, Steal V, Kelloff G, Paulson S, et al. Chemoprevention of colon cancer by specific cyclooxygenase-2 inhibitor, celecoxib, administered during different stages of carcinogenesis. *Cancer Res*. 2000;60:293-7.
20. Brown WA, Skinner SA, Malcontenti-Wilson C, Vogiagis D, O'Brien PE. Non-steroidal anti-inflammatory drugs with activity against either cyclooxygenase 1 or cyclooxygenase 2 inhibit colorectal cancer in a model by inducing apoptosis and inhibiting cell proliferation. *Gut*. 2001;48:660-6.
21. Yoshimatsu K, Golijanin D, Paty PB, Soslow RA, Jakobsson PJ, Dellis Ra, et al. Inducible microsomal prostaglandin E synthase is overexpressed in colorectal adenomas and cancer. *Clin Cancer Res*. 2001;7:3971-6.

22. Zweifel BS, Davis TW, Ornberg RL, Masferrer JL. Direct evidence for a role of cyclooxygenase 2-derived Prostaglandin E2 in human head and neck Xenograft tumors. *Cancer Res.* 2002;62:6706-11.
23. Hansen-Petrik MB, McEntee MF, Jull B, Shi H, Zemel MB, Whelan J. Prostaglandin E2 protects intestinal tumors from nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced regression in *Apc<sup>Min/+</sup>* mice. *Cancer Res.* 2002;62:403-8.
24. Bhattacharya M, Peri KG, Almazan G, Ribeiro-da-Silva A, Sichi H, Durocher Y, et al. Nuclear localization of prostaglandin E2 receptors. *Proc Natl Acad Sci.* 1998;95:15792-7.
25. Chan TA, Morin PJ, Vogelstein B, Kinzler KW. Mechanisms underlying nonsteroidal antiinflammatory drug-mediated apoptosis. *Proc Natl Acad Sci.* 1998;95:681-6.
26. Kim SH, Song SH, Kim SG, Chun KS, Lim SY, Nahk, et al. Celecoxib induces apoptosis in cervical cancer cells independent of cyclooxygenase using NF- $\kappa$ B as a possible target. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2004;130:551-60.
27. Gisbert JP, Pajares JM. Cyclooxygenasa 2 (COX-2), *Helicobacter pylori* y cáncer gástrico. *Med Clin (Barc).* 2003;120:189-93.
28. Correa P, Fontham ETH, Bravo JC, Bravo LE, Ruiz B, Zarama G, et al. Chemoprevention of gastric dysplasia: randomized trial of antioxidant supplements an anti-*Helicobacter pylori* therapy. *J Natl Cancer Inst.* 2000;92:1881-8.
29. El-Omar EM, Carrington M, Chow WH, McColl KE, Bream JH, Young HA, et al. Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. *Nature.* 2000;404:398-402.
30. Schäfer G, Cramer T, Suske G, Kemmer W, Wiedennmann B, Hocker M, et al. Oxidative stress regulates vascular endothelial growth factor-A gene transcription through Sp-1 and Sp3-dependent activation of two proximal GC-rich promoter elements. *J Biol Chem.* 2003; 278:8190-8.
31. Hussain SP, Hofseth LJ, Harris CC. Radical causes of cancer. *Nature Rev Cancer.* 2003;3:276-85.
32. Wang JM, Deng X, Gong W, Su S. Chemokines and their role in tumor growth and metastasis. *J Immunol Meth.* 1998;220:1-17.
33. Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature.* 2002;420:860-7.
34. Dvorak HF. Tumors: wounds that do not heal. Similarities between tumor stroma generation and wound healing. *N Engl J Med.* 1986;315:1650-9.
35. Tanabe T, Tohno N. Cyclooxygenase isozymes and their gene structures and expression. *Prostaglan & other Lipid Mediators.* 2002;68-9:95-114.
36. Jang, BC, Hla T. Regulation of expression and potential carcinogenic role of cyclooxygenase-2. En: Harris RE, editor. *COX-2 blockade in cancer prevention and therapy.* Totowa, New Jersey: Humana Press Inc, 2003. p. 171-84.
37. Kanekura T, Higashi Y, Kanzaki T. Inhibitory effects of 9-cis-retinoic acid and pyrrolidinedithiocarbamate on cyclooxygenase (COX)-2 expression and cell growth in human skin squamous carcinoma cells. *Cancer Letters.* 2000;161:177-83.
38. Fujita J, Mestre JR, Zeldis JB, Subbaramaiah K, Dannenberg AJ, et al. Thalidomide and its analogues inhibit lipopolysaccharide-mediated induction of cyclooxygenase-2. *Clin Cancer Res.* 2001;7:3349-55.
39. Chen Z, Zhang X, Li M, Wang Z, Wieand HS, Grandis JR, et al. Simultaneously targeting epidermal growth factor receptor tyrosine kinase and cyclooxygenase-2, an efficient approach to inhibition of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Clin Cancer Res.* 2004;10:5930-39.
40. Llor X, Pons E, Roca A, Álvarez M, Mane J, Fernández-Baneres F, et al. The effects of fish oil, olive oil, oleic acid and linoleic acid on colorectal neoplastic processes. *Clin Nutrition.* 2003; 22:71-9.
41. Cao Y, Prescott SM. Many actions of cyclooxygenase-2 in cellular dynamics and in cancer. *J Cell Physiol.* 2002;190:279-86.
42. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell.* 2000; 100:57-70.
43. Hahn WC, Weinberg RA. Rules for making human tumor cells. *N Eng J Med.* 2002;347:1593-603.
44. Mohammed SI, Bennett PF, Craig BA, Glickman NW, Mustaers AJ, Snyder PW, et al. Effects of the cyclooxygenase inhibitor, Piroxicam, on tumor response, apoptosis, and angiogenesis in a canine model of human invasive urinary bladder cancer. *Cancer Res.* 2002;62:356-8.
45. Hida T, Kozaki K, Ito H, Miyaishi O, Tatamatsu Y, Suzuki T. Significant growth inhibition of human lung cancer cells both in vitro and in vivo by the combined use of a selective cyclooxygenase 2 inhibitor, JTE-522, and conventional anticancer agents. *Clin Cancer Res.* 2002;8:2443-47.
46. Yao, M, Kargman S, Lam EC, Kelly CR, Zheng Y, Luk P, et al. Inhibition of cyclooxygenase-2 by rofecoxib attenuates the growth and metastatic potential of colorectal carcinoma in mice. *Cancer Res.* 2003;63:586-92.
47. Masferrer JL, Leahy KM, Koki AT, Zweifel BS, Settle SL, Woerner BM, et al. Antiangiogenic and antitumor activities of cyclooxygenase-2 inhibitors. *Cancer Res.* 2000;60:1306-11.
48. Martin C, Connelly A, Keku TO, Mountcastle SB, Galanko J, Woosley JT, et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs, apoptosis, and colorectal adenomas. *Gastroenterol.* 2002;123:1770-7.
49. Hsu AL, Ching TT, Wang DS, Song X, Rangnekar VM, Chen CS. The cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxib induces apoptosis by blocking Akt activation in human prostate cancer cells independently of Bcl-2. *J Biol Chem.* 2000;275:11397-403.
50. Johnson AJ, Song X, Hsu AL, Chen C. Apoptosis signaling pathways mediated by Cyclooxygenase-2 inhibitors in prostate cancer cells. *Advan Enzyme Regul.* 2001;41:221-35.
51. Patti R, Gumired K, Reddana P, Sutton LN, Philips PC, Reddy CD, et al. Overexpression of cyclooxygenase-2 (COX-2) in human primitive neuroectodermal tumors: effect of celecoxib and rofecoxib. *Cancer Letters.* 2002;180:13-21.
52. Waskewitch C, Blumenthal RD, Li H, Stein R, Goldenberg DM, Burton J. Celecoxib exhibits the greatest potency amongst cyclooxygenase (COX) inhibitors for growth inhibition of COX-2-negative hematopoietic and epithelial cell lines. *Cancer Res.* 2002;62:2029-33.
53. Tsujii M, DuBois R. Alteration in cellular adhesion and apoptosis in epithelial cells overexpressing prostaglandin endoperoxide synthase 2. *Cell.* 1995; 83:493-501.
54. Kundu N, Fulton AM. Selective cyclooxygenase (COX)-1 or COX-2 inhibitors control metastatic disease in a murine model of breast cancer. *Cancer Res.* 2002;62:2343-6.
55. Connolly EM, Harmey JH, O'Grady T, Foley D, Roche-Nagle G, Kay E, et al. Cyclo-oxygenase inhibition reduces tumor growth and metastasis in an orthotopic model of breast cancer. *Br J Cancer.* 2002;87:231-7.
56. Kakiuchi Y, Tsujii S, Tsujii M, Murata H, Kawai N, Yasumaru M, et al. Cyclooxygenase-2 activity altered the cell-surface carbohydrate antigens on colon cancer cells and enhanced liver metastasis. *Cancer Res.* 2002;62:1567-72.
57. Jones MK, Wang H, Peskar B, Levin E, Itani RM, Sarkej JJ, et al. Inhibition of angiogenesis by nonsteroidal anti-inflammatory drugs: insight into mechanisms and implications for cancer growth an ulcer healing. *Nature Med.* 1999;5:1418-23.
58. Habib A, Creminon C, Frobert Y, Grassy J, Pradelles P, Maclouj J. Demonstration of an inducible cyclooxygenase in human endothelial cells using antibodies raised against the carboxyl-terminal region of the cyclooxygenase-2. *J Biol Chem* 1993; 268:23448-54.
59. Matsumoto H, Ma W, Daikoku T, Zhao X, Paria BC, Das SK, et al. Cyclooxygenase-2 differentially directs uterine angiogenesis during implantation in mice. *J Biol Chem.* 2002;277:29260-7.
60. Tsujii M, Kawano S, Tsuji S, Sawaoka H, Hori M, DuBois RN, et al. Cyclooxygenase regulates angiogenesis induced by colon cancer cells. *Cell.* 1998;93:705-16.
61. Leahy KM, Koki AT, Masferrer JL. Role of cyclooxygenases in angiogenesis. *Current Med Chem.* 2000;7:1163-70.
62. Amano H, Hayashi I, Endo H, Kitasolo H, Yamashina S, Maruyama T, et al. Host prostaglandin E2-EP3 signaling regulates tumor-associated angiogenesis and tumor growth. *J Exp Med.* 2003;197:221-32.
63. Williams CS, Tsujii M, Reese J, Dey SK, DuBois RN. Host cyclooxygenase-2 modulates carcinoma growth. *J Clin Invest.* 2000;105:1589-94.
64. Leahy KM, Ornberg RL, Wang Y, Zweifel BS, Koki AT, Masferrer SL, et al. Cyclooxygenase-2 inhibition by celecoxib reduces proliferation and induces apoptosis in angiogenic endothelial cells *in vivo*. *Cancer Res.* 2002; 62:625-31.
65. Majima M, Hayashi I, Muramatsu M, Katada J, Yamashina S, Katori M. Cyclo-oxygenase-2 enhances basic fibroblast growth factor-induced angiogenesis through induction of vascular endothelial growth factor in rat sponge implants. *Br J Pharmacol.* 2000;130:641-9.
66. Konerding MA, Fait E, Gaumann A. 3D microvascular architecture of pre-cancerous lesions and invasive carcinomas of the colon. *Br J Cancer.* 2001;84:1354-62.
67. Tamura M, Sebastian S, Gurates B, Yang S, Fang Z, Bulun SE. Vascular endothelial growth factor up-regulates cyclooxygenase-2 expression in human endothelial cells. *J Clin Endoc Metab.* 2002;87:3504-7.
68. Williams CS, Watson AJM, Sheng H, Helan R, Shao J, DuBois RN. Celecoxib prevents tumor growth in Vivo without toxicity to normal gut: lack of correlation between *in vitro* and *in vivo* models. *Cancer Res.* 2000;60:6045-51.
69. Hayashi Y, Kobayashi M, Kuwata H, Atsumi G, Deguchi K, Feng Wei X, et al. Interferon-g and interleukin 4 inhibit interleukin 1b-induced delayed

- prostaglandin E2 generation throughout suppression of cyclooxygenase-2 expression in human fibroblasts. *Cytokine*. 2000;12:603-12.
70. Barbera-Guillén E, Nyhus JK, Wolford CC, Friece CR, Sampsel JW. Vascular endothelial growth factor secretion by tumor-infiltrating macrophages essentially supports tumor angiogenesis, and IgG immune complexes potentiate the process. *Cancer Res*. 2002;62:7042-9.
71. Barbera-Guillén E, May KF, Nyhus JK, Nelson MB. Promotion of tumor invasion by cooperation of granulocytes and macrophages activated by anti-tumor antibodies. *Neoplasia*. 1999;1:453-60.
72. Chen JJW, Yao PL, Yuan A, Hong TM, Shun CT, Kuo ML, et al. Up-regulation of tumor interleukin-8 expression by infiltrating macrophages: its correlation with tumor angiogenesis and patient survival in non-small cell lung cancer. *Clin Can Res*. 2003;9:729-37.
73. Davies G, Martín LA, Sacks N, Dowsett M. Cyclooxygenase-2 (COX-2), aromatase and breast cancer: a possible role for COX-2 inhibitors in breast cancer Chemoprevention. *Ann Oncol*. 2002;13:669-78.
74. Ogawa H, Nishihira J, Sato Y, Kondo M, Takahashi N, Oshima T, et al. An antibody for macrophage migration inhibitory factor suppresses tumor growth and inhibits tumor-associated angiogenesis. *Cytokine*. 2000;12:309-14.
75. Ueno T, Toi M, Saji H, Muta M, Bando H, Kuroi K, et al. Significance of macrophage chemoattractant protein-1 in macrophage recruitment, angiogenesis, and survival in human breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2000;6:3282-9.
76. Iñiguez MA, Punzón C, Fresno M. Induction of cyclooxygenase-2 on activated T lymphocytes: regulation of T Cell activation by cyclooxygenase-2 inhibitors. *J Immunol*. 1999;163:111-9.
77. Stolina M, Sharma S, Lin Y, Dohadwala M, Gardner B, Luo J, et al. Specific inhibition of cyclooxygenase-2 restores antitumor reactivity by altering the balance of IL-10 and IL-12 synthesis. *J Immunol*. 2000;164:361-70.
78. Harizi H, Juzan M, Pitard V, Moreau JF, Gualde N. Cyclooxygenase-2 issued prostaglandin E2 enhances the production of endogenous IL-10, which down-regulates dendritic cell functions. *J Immunol*. 2002;168:2255-63.
79. Sharma S, Stolina M, Yang SC, Barattelli F, Lin JF, Alianza K, et al. Tumor cyclooxygenase 2-dependent suppression of dendritic cell function. *Clin Cancer Res*. 2003; 9:961-8.
80. Baron JA, Cole BF, Sandler RS, Haile RW, Ahnen D, Breasler R, et al. A randomized trial of aspirin to prevent colorectal adenomas. *N Engl J Med*. 2003;348:891-9.
81. Sandler RS, Halabi S, Baron JA, Budinger S, Paskett E, Keresztes R, et al. A randomized trial of aspirin to prevent colorectal adenomas in patients with previous colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2003; 348: 883-90.
82. Giardello FM, Hamilton SR, Krush AJ, Piantadosi S, Hyland LM, Celano P, et al. Treatment of colonic and rectal adenomas with sulindac in familial adenomatous polyposis. *N Engl J Med*. 1993;328:1313-6.
83. Steinbach G, Linch PM, Phillips RKS, Wallace MH, Hawk E, Gordon GB, et al. The effect of celecoxib, a cyclooxygenase-2 inhibitor, in familial adenomatous polyposis. *N Engl J Med*. 2000;342:1946-52.
84. Phillips RKS, Wallace MH, Linch PM, Hawk E, Gordon GB, Saunders BP, et al. A randomized, double blind, placebo controlled study of Celecoxib, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, on duodenal polyposis in familial adenomatous polyposis. *Gut*. 2002;50:857-60.
85. Khuder SA, Mutgi AB. Breast cancer and NSAID use: a meta-analysis. *Br J Cancer*. 2001;84:1188-92.
86. Muscat JE, Chen SQ, Richie JP, Altorki NK, Citron M, Olson S, et al. Risk of lung carcinoma among users of nonsteroidal antiinflammatory drugs. *Cancer* 2003;97:1732-6.
87. Castela JE, Yuan JM, Gago-Domínguez M, Yu MC, Ross RK. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and bladder cancer prevention. *Br J Cancer*. 2000; 82:1364-9.
88. Bossetti C, Talamini R, Francheschi S, Negri E, Garavello W, La Vecchia C, et al. Aspirin use and cancer of the upper aerodigestive tract. *Br J Cancer*. 2003;88:672-4.
89. Anderson KE, Johnson TW, Lazovich DA, Folsom AR, et al. Association between nonsteroidal anti-inflammatory drug use and the incidence of pancreatic cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2002;94:1168-71.
90. Terry MB, Gammon MD, Shang FF, Tawfik H, Teitelbaum SL, Britton JA, et al. Association of frequency and duration of aspirin use and hormone receptor status with breast cancer risk. *JAMA*. 2004;291:2433-9.
91. García-Rodríguez LA, González-Pérez A. Risk of breast cancer among users of aspirin and other anti-inflammatory drugs. *Brit J Cancer*. 2004;91:525-9.
92. García-Rodríguez LA, González-Pérez A. Inverse association between nonsteroidal anti-inflammatory drugs and prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers & Prev*. 2004;13:649-53.
93. Altorki NK, Keresztes RS, Port JL, Libby DM, Korst RJ, Flieder BD, et al. Celecoxib, a selective cyclo-oxygenase-2 inhibitor, enhances the response to preoperative paclitaxel and carboplatin in early-stage non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2003;21:2645-50.
94. Soslow RA, Dannenberg AJ, Rush D, Woerner BM, Khan KN, Masferrer J, et al. COX-2 is expressed in human pulmonary, colonic, and mammary tumors. *Cancer* 2000;89:2637-45.
95. Chang BW, Kim DH, Kowalski DP, Burleson JA, Son YH, Wilson LD, et al. Prognostic significance of cyclooxygenase-2 in oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2004;10:1678-84.
96. Ristimäki A, Sivula A, Lundin J, Lundin M, Salminen T, Haglund C, et al. Prognostic significance of elevated cyclooxygenase-2 expression in breast cancer. *Cancer Res* 2002; 62:632-5.
97. Hayden M, Pignone M, Phillips C, Mulrow C. Aspirin for the primary prevention of cardiovascular events: a summary of the evidence for the US. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med*. 2002;136:161-72.
98. Leese PT, Hubbard RC, Karim A, Isakson PC, Yu SS, Geis GS. Effects of celecoxib, a novel cyclooxygenase-2 inhibitor, on platelet function in healthy adults: a randomized, controlled trial. *J Clin Pharmacol*. 2000;40:124-32.
99. Lanás A. Impacto económico de los efectos secundarios gastrointestinales asociados a antiinflamatorios no esteroideos en el Servicio Nacional de Salud. *Med Clin (Barc)*. 2000;114 Supl 3:46-53.
100. Bombardier C, Laine L, Reicin A, Shapiro D, Burgos-Vargas R, Davis B, et al. Comparison of upper gastrointestinal toxicity of Rofecoxib and Naproxen in patients with rheumatoid arthritis. *N Engl J Med*. 2000;343:1520-8.
101. Silverstein FE, Faich G, Goldstein JL, Simon LS, Pincus T, Whelton A, et al. Gastrointestinal toxicity with celecoxib vs nonsteroidal anti-inflammatory drugs for osteoarthritis and reumatoid arthritis: the CLASS study: a randomized study. Celecoxib Long-term Arthritis Safety Study. *JAMA*. 2000;284:1247-55.
102. Deeks JJ, Smith LA, Bradley MD. Efficacy, tolerability, and upper gastrointestinal safety of celecoxib for treatment of osteoarthritis and rheumatoid arthritis: systematic review of randomised controlled trials. *Br Med J*. 2002;325:619-23.
103. Masferrer JL, Needleman P. Anti-inflammatories for cardiovascular disease. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000;97:12400-1.
104. Mamdani M, Juurlink DN, Lee DS, Rochon PA, Kopp A, Naglie G, et al. Cyclo-oxygenase-2 inhibitors versus non-selective non-steroidal anti-inflammatory drugs and congestive heart failure outcomes in elderly patients: a population-based cohort study. *Lancet*. 2004;363:1751-6.
105. Solomon DH, Schneeweiss S, Glynn RJ, Kiyota Y, Levin R, Mogun H, et al. Relationship between selective cyclooxygenase inhibitors and acute myocardial infarction in older adults. *Circulation*. 2004;109:2068-73.
106. Miller BE, Cappilari JO. Cyclooxygenase-2 inhibition for the treatment of cervical intraepithelial neoplasia [abstract 381]. *Proceed Am Soc Clin Oncol*. 2003;22:95.
107. Ricchi P, Zarrilli R, di Palma A, Acquaviva AM. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in colorectal cancer: from prevention to therapy. *Br J Cancer*. 2003; 88:803-7.
108. Winerhalter RC, Hirsch FR, Kotantoulas GK, Franklin WA, Bunn PA. Chemoprevention of lung cancer-from biology to clinical reality. *Ann Oncol* 2004;15:185-96.
109. Komaki R, Liao Z, Milas L. Improvement strategies for molecular targeting: Cyclooxygenase-2 inhibitors as radiosensitizers for non-small lung cancer. *Semin Oncol*. 2004; Suppl 1:47-53.
110. Klein EA, Thompson MI. Update on chemoprevention of prostate cancer. *Curr Opin Urol*. 2004;14:143-9.
111. Simone AM, Li YJ, Broemeling LD, Johnson MM, Tuna M, Tari A. Cyclooxygenase-2 is essential for HER/neu to suppress N-(hydroxyphenyl)retinamide apoptotic effects in breast cancer cells. *Cancer Res*. 2004;64:1224-8.
112. Wang D, Dubois RN. Cyclooxygenase-2: a potential target in breast cancer. *Semin Oncol*. 2004;1 Suppl 3:64-73.
113. Benoit V, Relic B, Leval X, Charriot A, Merville MP, Bours V. Regulation of HER-2 oncogene expression by cyclooxygenase-2 and prostaglandin E2. *Oncogene*. 2004;23: 1631-5.
114. Gasparini G, Longo L, Sarmiento R, Morabito A. Inhibitors of cyclooxygenase 2: a new class of anticancer agents? *Lancet Oncol* 2003;4: 605-15.
115. Grau JJ, Carles J, Monzo M, et al. Expression of cyclooxygenase-2 mRNA (COX2-mRNA) in peripheral blood of head and neck cancer patients and healthy controls [abstract]. *Proc ASCO*. 2004;23:2061.

116. Pruthi RS, Derksen JE, Moore D. A pilot study of use of the cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxib in recurrent prostate cancer after definitive radiation therapy or radical prostatectomy. *BJU Int.* 2004;3:275-8.
117. Choi H, Milas L. Enhancing radiotherapy with cyclooxygenase-2 enzyme inhibitors: a rationale advance? *J Natl Cancer Inst.* 2003;95:1440-52.
118. Bresalier RS, Sandler RS, Quan H, Bolognese JA, Oxenius B, Horgan K, et al. Cardiovascular events associated with rofecoxib in a colorectal adenoma chemoprevention trial. *N Engl J Med.* 2005;352:1092-102.
119. Solomon SD, McMurray JJV, Pfeffer MA, Wittes J, Fowler R, Anderson WF, et al. Cardiovascular risk associated with celecoxib in a clinical trial for colorectal adenoma prevention. *N Engl J Med.* 2005;352:1071-80.
120. Nussmeier NA, Whelton AA, Brown MT, Langford RM, Hoefft A, Parlow JL, et al. Complications of the COX-2 inhibitors parecoxib and valdecoxib after cardiac surgery. *N Engl J Med.* 2005;352:1081-91.
121. Psaty BM, Furberg CD. COX-2 inhibitors-lessons in drug safety. *N Engl J Med.* 2005;352:1133-4.
122. Okie S. Raising the safety bar - The FDA's Coxib Meeting. *N Engl J Med.* 2005;352:1283-5.