Antiinflamatorios no esteroides en la prevención del cáncer de colon

Ramon Bartrons

Unitat de Bioquímica. Departament de Ciències Fisiològiques. Campus de Bellvitge.
Universitat de Barcelona. L´Hospitalet de Llobregat. Barcelona.

Introducción

La mayoría de cánceres son consecuencia de factores genéticos y ambientales. Los factores genéticos pueden explicar alrededor de un 5% de casos y el resto puede atribuirse a factores externos que actúan conjuntamente con factores genéticos. Entre los factores externos podemos encontrar diferentes sustancias que pueden actuar como carcinógenos: constituyentes de la dieta, contaminantes, tabaco, drogas, radiaciones y agentes infecciosos[1].

El cáncer de colon y recto tiene una incidencia de aproximadamente un 10% del total y se ha asociado al nivel de desarrollo económico y social de la población, con una distribución más elevada en los países occidentales. Diferentes observaciones epidemiológicas y experimentales han relacionado el riesgo de padecer cáncer de colon con la dieta, la ingestión calórica aumentada, la actividad sedentaria y el exceso de peso.

Los antiinflamatorios no esteroides (AINE) son uno de los grupos de fármacos más ampliamente utilizados. En la Grecia hipocrática, la escuela médica de Cos ya utilizaba infusiones de corteza de sauce (*Salix Alba*) para el tratamiento de la fiebre y el dolor. El aislamiento de la salicilina (Buchner, 1828), la síntesis del salicilato sódico (Kolbe, 1859) y del acetilsalicílico (Hoffmann, 1897) lograron avances significativos en el uso terapéutico de estos compuestos. La identificación de las prostaglandinas (Von Euler, 1934) y de la enzima ciclooxigenasa (Bergstrom, 1962) permitió el hallazgo del mecanismo de acción de la aspirina (Vane, 1971). Posteriormente, el descubrimiento de nuevos AINE, prostaglandinas sintetasas y las isoenzimas de la ciclooxigenasa han aumentado las aplicaciones terapéuticas de los AINE.

Evidencia de los AINE como agentes antineoplásicos

Durante los últimos años se han encontrado propiedades antineoplásicas de los AINE, particularmente en el tracto gastrointestinal[2,3]. Los datos actualmente disponibles se apoyan en tres líneas de investigación: estudios epidemiológicos, estudios en animales y observaciones clínicas.

El primer estudio epidemiológico que relacionaba el consumo de aspirina con la reducción de la incidencia de cáncer colorrectal se realizó en Australia (Melbourne Colorectal Cancer Study), y demostró que el uso regular de aspirina disminuía un 47% la incidencia en el cáncer colorrectal[2]. Posteriormente, otros estudios epidemiológicos obtuvieron resultados parecidos, refiriendo que el uso de aspirina tenía un efecto protector frente al cáncer colorrectal[4,5]. Otros trabajos han correlacionado el uso de aspirina y la prevención de diferentes tipos de cánceres como de mama, próstata, pulmón, vejiga o riñón, no encontrando resultados significativos[3,6]. El estudio más completo[4] analizó el consumo de aspirina y la incidencia de cáncer colorrectal en 600.000 personas. La dosis ingerida no era del todo precisa, pero se estimó que el riesgo relativo de cáncer de colon para los que ingerían aspirina, 16 o más veces al mes, era de 0,60 para los varones y de 0,58 para las mujeres. Por contra, el uso de paracetamol no variaba la incidencia. El seguimiento de esta población demostró también una disminución de los cánceres de esófago, estómago y recto, además del de colon. La reducción del riesgo de cáncer era dependiente de la dosis y aumentaba en aquellas personas con más años de tratamiento.

Diferentes AINE como aspirina, indometacina, sulindaco o piroxicam han demostrado ser

inhibidores del crecimiento de tumores de colon inducidos por carcinogénesis química[7-9], y se han utilizado también en el tratamiento de adenomas de colon y recto en humanos[10-12]. Aunque conocemos que estos fármacos inhiben la enzima ciclooxigenasa, se desconoce cuál es el mecanismo molecular de este efecto beneficioso sobre el cáncer colorrectal.

Mecanismos

El desarrollo de nuevas estrategias para prevenir y tratar el cáncer resulta muy importante. Los AINE aparecen como fármacos de posible utilidad terapéutica para la prevención y el tratamiento antineoplásico, aunque sus efectos adversos requieren el desarrollo de pautas farmacológicas seguras. Para ello es necesario conocer los mecanismos moleculares a través los cuales los AINE ejercen su acción. Los estudios realizados se han centrado en tres áreas distintas: *a)* activación de carcinógenos a través de la enzima ciclooxigenasa; *b)* inhibición de la proliferación celular, y *c)* inducción de apoptosis.

Activación de carcinógenos

Numerosos trabajos han relacionado la inhibición de la enzima ciclooxigenasa (COX) con la iniciación de la carcinogénesis a través de diferentes mecanismos. Uno de ellos es activar carcinógenos contaminantes, tóxicos o ingeridos con los alimentos.

Los productos que se obtienen del metabolismo del ácido araquidónico (20 carbonos) como las prostaglandinas, tromboxanos y ácidos 15-hidroxieicosatetranoicos (HETE), se denominan eicosanoides, derivado del griego εικοσι que significa 20. Estos productos participan en procesos como la inflamación, la ovulación, la modulación de la respuesta inmune o la mitogénesis. El control de la síntesis de estos metabolitos es muy importante

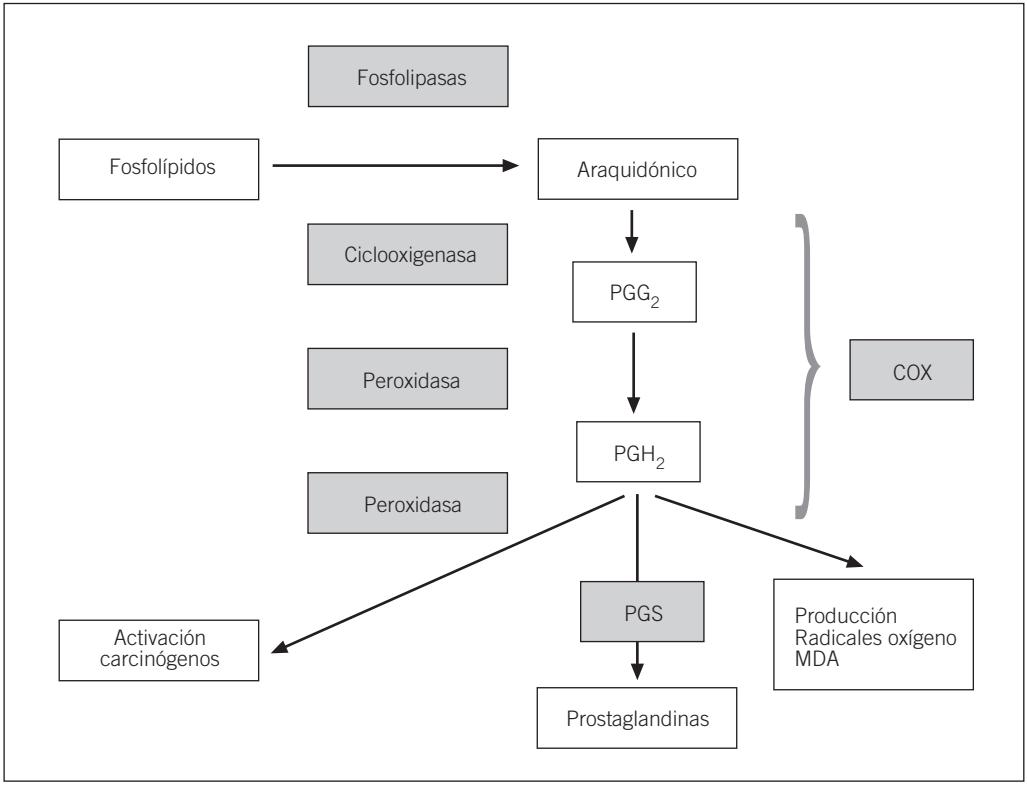

Fig. 1. Reacciones de la ciclooxigenasa.

en la regulación de todos estos procesos, y existen diferentes y posibles enzimas reguladoras. El primer punto de control se produce en la liberación de ácido araquidónico de los fosfolípidos de la membrana y es catalizado por la fosfolipasa A_2. Esta enzima puede inducirse por acción de diferentes estímulos (factores de crecimiento, citocinas, leucotrienos, histamina, trombina, etc.) y sintetizar señales que pueden modular diferentes procesos celulares.

Una vez el ácido araquidónico se libera de los fosfolípidos de las membranas, puede ser metabolizado: *a)* por la COX, dando prostaglandinas y tromboxanos[13]; *b)* por las lipooxigenasas que forman HETE, con la posterior síntesis de leucotrienos y lipoxinas[14], o *c)* por la citocromo P450 monooxigenasa, que genera ácidos epoxieicosatrienoicos[15]. Cada una de estas vías da lugar a diferentes productos. La ciclooxigenasa tiene dos actividades catalíticas diferentes. Una es la ciclooxigenasa, que cicla y oxigena el ácido araquidónico formando PGG_2, y otra la peroxidasa que reduce PGG_2 para formar PGH_2. La actividad peroxidasa posee una menor especificidad y puede también reducir otros sustratos, como fenoles, aminas aromáticas o pesticidas (fig. 1). Se han descrito numerosos ejemplos de carcinógenos activados por la enzima COX y que pueden unirse y modificar el ADN[16]. Además, esta actividad puede generar malondialdehido (mutágeno y carcinógeno) y radicales peróxido que pueden estar implicados en la iniciación de la carcinogénesis. Ambas actividades pueden estar implicadas independientemente en otras reacciones y ser inhibidas por diferentes sustancias. Finalmente, a partir de PGH_2, diferentes sintetasas catalizan la formación de prostaglandinas.

La enzima COX existe en dos formas isoenzimáticas: COX-1 y COX-2, que difieren entre sí en la regulación de su expresión, su distribución tisular y su localización celular[17,18]. La isoenzima COX-1 se expresa constitutivamente y algunos estudios indican que puede ser responsable de la producción de prostaglandinas en el retículo endoplasmático, que posteriormente saldrán de la célula para actuar sobre receptores de la membrana celular. En cambio, la expresión de COX-2, caracterizada el año 1989 por Simmons et al[19], es inducible y regulada por estímulos específicos[17,18,20,21]. Los factores de crecimiento y promotores tumorales inducen la expresión de COX-2 en fibroblastos, lo que apoya la hipótesis de que la isoenzima COX-2 está implicada en la mitogénesis[22]. COX-2 sería responsable de la síntesis aumentada de prostaglandinas en respuesta a diferentes citocinas, factores de crecimiento y mitógenos, teniendo un papel clave en los procesos inflamatorios (fig. 2).

Las citocinas IL-4 y IL-10, y los glucocorticoides bloquean su expresión, acción que permite explicar explicar parte de los efectos antiinflamatorios de estas sustancias. Su localización en la membrana nuclear ha sugerido un papel importante en la proliferación inducida por diferentes factores de crecimiento a través de la síntesis de prostaglandinas dirigidas al núcleo de la célula con funciones moduladoras de la diferenciación, replicación o muerte celular[18,21]. Se han sugerido posibles efectos de los productos de COX-2 nucleares puesto que diferentes prostaglandinas pueden funcionar como ligandos para los receptores activados del proliferador peroxisomal nuclear (PPAR)[23,24].

Inhibición de la proliferación celular

Otro mecanismo a través del cual los AINE pueden afectar a la génesis de tumores puede ser a través del metabolismo del ácido araquidónico, los productos del cual se encuentran implicados en la carcinogénesis[25]. Los tumores de colon humanos[26], así como los obtenidos en modelos animales[27], producen cantidades aumentadas de prostaglandina E_2 (PGE_2). Este aumento de PGE_2 en las células intestinales estimula su proliferación y sería consecuencia de un incremento de la actividad ciclooxigenasa. Esto plantea la cuestión de cuál de las isoenzimas de la COX (COX-1, isoenzima constitutiva o COX-2, isoenzima inducible) es responsable de este aumento. Resultados de estos últimos años nos indican que la expresión de COX-2 está aumentada en los cánceres colorrectales, sin que se encuentren variaciones significativas de COX-1[28]. La concentración de PGE_2 está aumentada en los adenomas de colon humanos[28], en el colon de ratas expuestas a carcinógenos[8,27] y en los ratones Min que poseen una mutación dominante en el gen supresor tumoral APC (*Adenomatous Polyposis Coli*), que también está mutado en la poliposis adenomatosa familiar humana (FAP), que produce adenomas gastrointestinales a los 3 meses de edad[29,30]. Este aumento de PGE_2 en las células intestinales sería consecuencia de un incremento en la actividad ciclooxigenasa. También en las células epiteliales neoplásicas

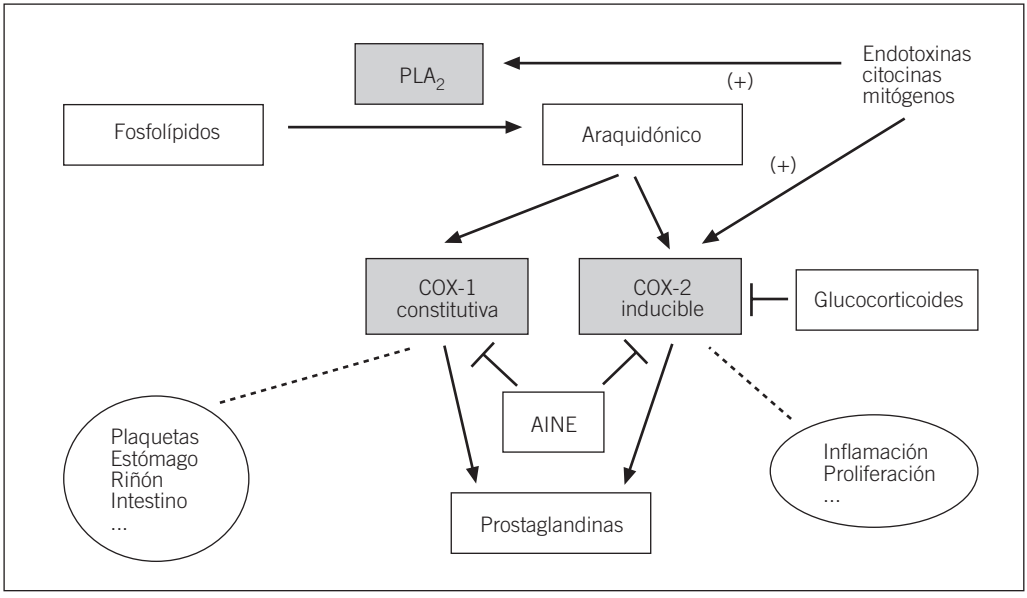

Fig. 2. Isoenzimas de la ciclooxigenasa.

del intestino de los ratones Min se han detectado concentraciones aumentadas de proteína y ARNm de COX-2. En cambio, no se encuentran variaciones significativas de COX-1 en todos estos modelos. Además, se han publicado resultados en los que se refiere que la incubación de células derivadas de cáncer de colon con inhibidores selectivos de COX-2 inhibe su crecimiento[27,31]. Estos resultados sugieren que algún factor favorece la sobreexpresión de COX-2 en estas células, siendo su papel esencial en la producción aumentada de PGE_2.

Uno de los mecanismos propuestos para explicar el efecto antitumoral de aspirina y otros AINE es la modulación de la proliferación celular. Para estudiar este efecto hemos utilizado el cultivo de fibroblastos Swiss 3T3 de ratón, ya que es un modelo muy útil para identificar los factores extracelulares que regulan el crecimiento y conocer las señales y fenómenos moleculares que conducen a la mitogénesis. Estas células pueden mantenerse quiescentes en la fase G_0-G_1 del ciclo celular en un medio libre de factores de crecimiento exógenos. La adición de suero fresco o de determinados factores mitogénicos induce la síntesis de ADN y su división. Éste es uno de los sistemas celulares en que mejor se han estudiado los mecanismos a través de los cuales los factores de crecimiento, generando señales intracelulares, inducen la división celular.

La adición de aspirina o indometacina a los cultivos de fibroblastos Swiss 3T3 inhibe significativamente la síntesis de ADN inducida por los factores de crecimiento bombesina y PDGF (*platelet-derived growth factor*)[32]. La aspirina, a dosis inferiores a 1 mM, sólo inhibe la acción mitogénica de factores de crecimiento que liberan ácido araquidónico, el sustrato de COX, y el efecto antiproliferativo de aspirina se puede revertir con PGE_2 exógena, el derivado mayoritario de la vía de COX en estas células. Estos resultados indican que la acción antiproliferativa de la aspirina, a dosis bajas, es a través la inhibición de COX. La explicación más simple para comprender estos resultados es que PGE_2 y/o otros eicosanoides derivados de la PGH_2 participan en las vías de transducción de señales estimuladas por PDGF y bombesina, potenciando alguna de las vías conocidas o bien activando nuevas vías no identificadas implicadas en la síntesis del ADN. También es posible que las señales inducidas por PGE_2 actúen manteniendo más tiempo las señales inducidas por PDGF y bombesina (fig. 3).

Concentraciones de aspirina más altas (5 mM) inhiben totalmente la acción mitogénica de concentraciones de PDGF saturantes.

Existen tres argumentos que indican que este efecto a dosis altas de aspirina no es mediado por inhibición de COX: *a)* 5 mM de aspirina inhiben también el efecto mitogénico de EGF y insulina, los cuales no inducen liberación de ácido araquidónico; *b)* el efecto inhibidor de aspirina (5 mM) en la mitogénesis estimulada por PDGF no es contrarrestado por PGE_2 exógena, y *c)* la curva dosis-respuesta de aspirina para inhibir la síntesis de ADN es bifásica, lo que sugiere dos mecanismos diferentes. El mecanismo de inhibición de la proliferación celular independiente de COX, a concentraciones de aspirina superiores a 2 mM, se desconoce.

Apoptosis

Las células epiteliales intestinales están programadas para dividirse y diferenciarse en el proceso que las conduce desde las criptas a la superficie del intestino. El número de células depende de la capacidad de proliferación, diferenciación y de la velocidad de muerte inducida por la apoptosis. Cualquier alteración en este proceso puede dar lugar a su acumulación y a la formación de pólipos y tumores. El mecanismo de muerte celular programada es el característico de las células epiteliales intestinales y es progresivamente inhibido durante el desarrollo del cáncer colorrectal. La inducción de apoptosis podría ser uno de los mecanismos de acción de los AINE. Se ha demostrado que sulindaco, sulindaco sulfuro, aspirina, indometacina, naproxeno, piroxicam y salicilatos inducen apoptosis en células derivadas de cáncer de colon.

Elder et al[33] demostraron que los salicilatos producían una parada del ciclo celular en la fase G_0-G_1 y también inducían apoptosis en diferentes líneas celulares. En los ultimos años se ha comprobado que la sobreexpresión de COX-2 en las células intestinales puede inducir características que aumenten el potencial tumorigénico[34,35], incluyendo disminución del proceso de apoptosis y de expresión de ciertos receptores de factores de crecimiento y moléculas de adhesión. La apoptosis es un mecanismo básico para mantener un rápido recambio del epitelio intestinal y una disminución de la actividad apoptótica puede resultar en una supervivencia aumentada de las células anormales. Éste es uno de los mecanismos que explicarían

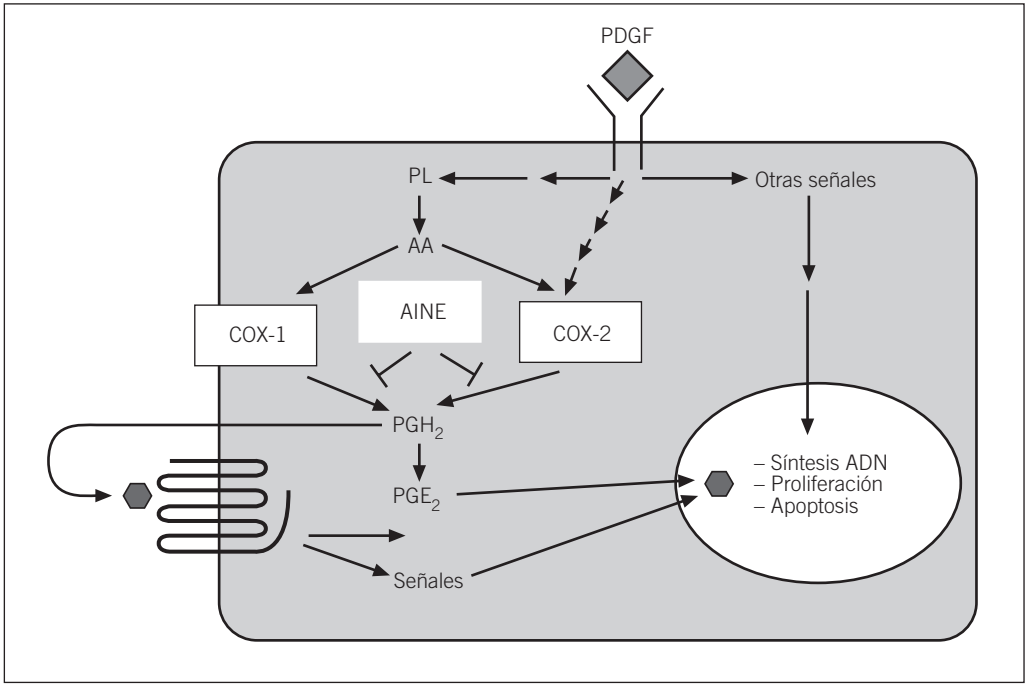

Fig. 3. Mecanismo de inhibición de la proliferación celular.

la acumulación de células del epitelio y la formación de pólipos y tumores. Shiff et al[36] han demostrado que diferentes AINE reducen la proliferación, aumentan el número de células en fase G_0-G_1 e incrementan también el proceso de apoptosis. En este sentido, se han publicado resultados en los que se ha comunicado que sulindaco sulfuro, sulindaco sulfona y aspirina inducen apoptosis en células de carcinoma de colon humano HT-29[36,37]. El mecanismo responsable de este efecto apoptósico de los AINE no está claro, aunque se ha descrito que la sobreexpresión de COX-2 en células epiteliales intestinales de rata inhibe la apoptosis y que ésta se puede restablecer administrando inhibidores de COX-2[34].

El ratón Min es un modelo animal de tumorogénesis intestinal que se parece a la forma de FAP. Los individuos con FAP tienen una mutación en un alelo del gen APC que les produce adenomas intestinales múltiples después de una mutación somática o de la pérdida del segundo alelo. Se ha observado que las células intestinales alteradas de los ratones Min, con el gen APC mutado, tienen una apoptosis disminuida, pero si se les administran AINE (sulindaco) recuperan la capacidad de inducir muerte celular programada, al mismo tiempo que disminuye el contenido de COX-2 y PGE_2 de estas células, lo que sugiere que el efecto sobre la apoptosis podría deberse a la inhibición de COX-2 y a la disminución de la formación de PGE_2[30]. Por otro lado, Reddy et al[27] han demostrado que los inhibidores específicos de COX-2 inhiben la formación de pólipos en modelos animales de carcinogénesis, sugiriendo que el isoenzima COX-2 desempeña un papel importante en este proceso. Además, se ha demostrado también que la anulación del gen de COX-2 o bien el tratamiento con inhibidores selectivos de COX-2 suprimen la formación de tumores en otro modelo de poliposis inducida por la supresión del gen APC, lo que pone en evidencia la relación entre expresión de COX-2 y la formación de pólipos[38]. En este modelo, los adenomas han perdido ambas copias del gen APC y sobreexpresan COX-2. La cuestión básica es si estos dos procesos están relacionados. Se ha comprobado que en el tejido normal, próximo al adenoma, no se produce un aumento de COX-2, lo que sugiere que la inducción de esta isoenzima se produce después de la pérdida del segundo alelo del gen APC. A favor de esta hipótesis tenemos que la proteína COX-2 no se detecta en pólipos más pequeños de 2 mm, lo que indicaría que el tumor se ha iniciado antes de expresarse COX-2[38]. No obstante, otros investigadores han demostrado en ratones Min que el epitelio próximo al tumor tiene la isoenzima COX-2 aumentado. El mecanismo a través del cual COX-2 facilitaría el crecimiento se desconoce, aunque se ha visto que disminuye la respuesta apoptósica. Los datos obtenidos de COX-2 en el cáncer de colon plantean la cuestión de si la presencia de esta isoenzima es indispensable. La respuesta parece ser negativa. En el trabajo de Oshima et al[38] se demuestra que en los ratones deficientes en COX-2 el número de pólipos se reduce el 86%, pero no llega al 100%. Esto significa que hay otras vías que favorecen la formación de tumores, independientemente de COX-2. En este sentido, se ha descrito que la anulación del gen COX-1 en ratones Min también disminuye el número de adenomas espontáneos.

Recientemente nuestro grupo ha demostrado que concentraciones de aspirina superiores a 1,5 mM inducen apoptosis en células de leucemia linfática crónica humana a través de un mecanismo independiente de COX y que conlleva la activación de caspasas[39].

Conclusiones

Quedan aún muchas preguntas por resolver sobre los posibles mecanismos de los AINE en el control de la proliferación celular y apoptosis, y también en la iniciación, promoción y progresión de la transformación neoplásica. En los próximos años habrá que clarificar el papel de los AINE en la inhibición de las isoenzimas de la COX y las moléculas relacionadas con sus efectos, estudiando si el efecto se produce por disminución de los productos de las reacciones catalizadas por estas isoenzimas (prostaglandinas PGE_2 o PGJ_2, entre otras), por el aumento de la concentración de sustrato (araquidónico y ceramida) o bien por la disminución de la activación de carcinógenos y producción de radicales.

Un gran número de trabajos apoyan la hipótesis que la modulación de la isoenzima COX-1 puede tener una gran importancia en la prevención del cáncer colorrectal. Desconocemos a través de qué mecanismos se produce este efecto, aunque sabemos que facilita la proliferación e inhibe la apoptosis en diferentes tipos celulares (fig. 4). En relación a la isoenzima COX-2, los datos más recientes refieren que su expresión es un hecho temprano e importante en el cáncer de colon, lo que sugiere que los fármacos que inhiben COX-2 deberían ser efec-

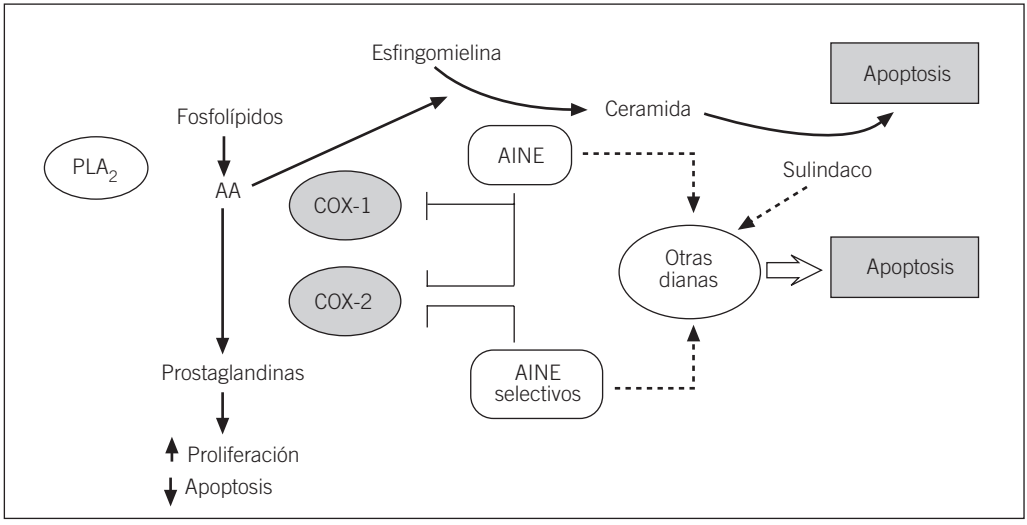

Fig. 4. Mecanismos moleculares de acción de los AINE.

tivos en la quimioprevención de este tipo de cáncer. En el futuro deberemos poder explicar cómo se regula la expresión de COX-2, qué mecanismos la activan en el proceso de carcinogénesis, cuáles son los productos relacionados con sus efectos y a través de qué mecanismos y, sin duda, conocer la eficacia de inhibidores selectivos y las dosis necesarias para obtener efectos benéficos. También debe destacarse la posible utilización terapéutica de algunos AINE en el tratamiento de diferentes enfermedades relacionadas con la inhibición de la apoptosis.

De acuerdo con la bibliografía actual, algunas acciones de los AINE son independientes de la vía COX y el conocimiento de los mecanismos a través de los cuales actúan deberá favorecer el diseño de nuevas dianas farmacológicas y nuevos enfoques diagnósticos y terapéuticos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Perera FP. Environment and cancer: who are susceptible? Science 1997; 278: 1.068-1.073.
2. Kune G, Kune S, Watson L. Colorectal cancer risk, chronic illness, operations, and medications: case control results from the Melbourne colorectal cancer study. Cancer Res 1988; 48: 4.399-4.404.
3. Rosenberg L. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cancer. Prev Med 1995; 24: 107-109.
4. Rosenberg L, Palmer JR, Zauber AG, Warshauer ME, Stolley PD, Shapiro SA. A hipothesis: nonsteriodal anti-inflammatory drugs reduce the incidence of large-bowel cancer. J Natl Cancer Inst 1991; 83: 355-358.
5. Giovanucci E, Rimm EB, Stampfer MJ, Colditz GA, Ascherio A, Willett WC. Aspirin use and the risk for colorectal cancer and adenoma in male health professionals. Ann Intern Med 1994; 121: 241-246.
6. Egan KM, Stampfer MJ, Giovannucci E, Rosner BA, Colditz GA. Prospective study of regular aspirin use and the risk of breast cancer. J Natl Cancer Inst 1996; 88: 988-993.
7. Reddy BS, Rao CV, Rivenson A, Kelloff G. Inhibitory effect of aspirin on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in F344 rats. Carcinogenesis 1993; 14: 1.493-1.497.
8. Rao CV, Simi B, Wynn TT, Garr K, Reddy BS. Modulating effect of amount and types of dietary fat on colonic mucosal phospholipase A2, phosphatidylinositol-specific phospholipase C activities, and cyclooxygenase metabolite formation during different stages of colon tumor promotion in male F344 rats. Cancer Res 1996; 56: 532-537.
9. Levy GN. Prostaglandin H synthases, nonsteroidal antiinflammatory drugs, and colon cancer. FASEB J 1997; 11: 234-247.
10. Waddell WR, Loughry RW. Sulindac for polyposis of the colon. J Surg Oncol 1983; 24: 83-87.
11. Rigau J, Piqué J, Rubio E, Planas R, Tarrech J, Bordas J. Effects of long-term sulindac therapy on colonic polyposis. Ann Intern Med 1991; 115: 952-954.
12. Giardello F, Hamilton SR, Krush AJ, Piantadosi S, Hylind LM, Celano P et al. Treatment of colonic and rectal ademomas with sulindac in familiar adenomatous polyposis. N Engl J Med 1993; 328: 1.313-1.316.

13. Vane JR, Botting R. A better understanding of anti-inflammatory drugs based on isoforms of cycloxygenase (COX-1 and COX-2). Adv Prostaglandin Thromboxane Leukotriene Res 1995; 23: 41-48.
14. Samuelsson B, Dahlen SE, Lindgren JA, Rouzer CA, Serhan CN. Leukotrienes and lipoxins: structures, biosynthesis and biological effects. Science 1987; 237: 1.171-1.176.
15. Capdevila JH, Falck JR, Estabrook RW. Cytochrome P450 and the arachidonate cascade FASEB J 1992; 6: 731-736.
16. Eling TE, Thompson DC, Foureman GL, Curtis JF, Hughes MF. Prostaglandin H synthase and xenobiotic oxidation. Annu Rev Pharmacol Toxicol 1990; 30: 1-45.
17. Herschman HR. Regulation of prostaglandin sinthase-1 and prostaglandin synthase-2. Cancer Metastasis Rev 1994; 13: 241-256.
18. Williams CS, DuBois RN. Prostaglandin endoperoxide synthase: Why two isoforms? Am J Physiol 1996; 270: G393-G400.
19. Simmons DL, Levy DB, Yannoni Y, Erikson RL. Identification of a phorbol ester-repressible v-src-inducible gene. Proc Natl Acad Sci USA 1989; 86: 841-848.
20. Vane JR. Towards a better aspirin. Nature 1994; 367: 315-316.
21. Smith WL, Garavito RM, Dewitt DL. Prostaglandin endoperoxide H synthases (cyclooxygenases)-1 and 2. J Biol Chem 1996; 271: 33.157-33.160.
22. Kujubu DA, Reddy ST, Fletcher BS, Heschman HR. Expression of the protein product of the prostaglandin synthase-2/TIS10 gene in mitogen-stimulated Swiss 3T3 cells. J Biol Chem 1993; 268: 5.425-5.430.
23. Jiang C, Ting AT, Seed B. PPAR-γ agonists inhibit production of monocyte inflammatory cytokines. Nature 1998; 391: 82-86.
24. Ricote M, Li AC, Willson TM, Kelly CJ, Glass CK. The peroxisome proliferator-activated receptor-γ is a negative regulator of macrophage activation. Nature 1998; 391: 79-82.
25. Lupulescu A. Enhancement of carcinogenesis by prostaglandins. Nature 1978; 272: 634-636.
26. Rigas B, Goldman IS, Levine L. Altered eicosanoid levels in human colon cancer. J Lab Clin Med 1993; 122: 518-523.
27. Reddy BS, Rao CV, Seibert K. Evaluation of cyclooxygenase-2 inhibitor for potential chemopreventive properties in colon carcinogenesis. Cancer Res 1996; 56: 4.566-4.569.
28. Eberhart CE, Coffey RJ, Radhika A, Giardello FM, Ferrenbach S, Dubois RN. Up-regulation of cyclo-oxygenase 2 gene expression in human colorectal adenomas and adenocarcinomas. Gastroenterology 1994; 107: 1.183-1.188.
29. Jacoby RF, Marshall DJ, Newton MA, Novakovic K, Tutsch K, Cole CE et al. Chemoprevention of spontaneous intestinal adenomas in the APC Min mouse model by the nonsteroidal anti-inflammatory drug piroxicam. Cancer Res 1996; 56: 710-714.
30. Boolbol SK, Dannenberg AJ, Chadburg A, Martucci C, Guo XJ, Ramonetti JT et al. Cyclooxygenase-2 overexpression and tumor formation are blocked by sulindac in a murine model of familial adenomatous polyposis. Cancer Res 1996; 56: 2.556-2.560.
31. Sheng H, Shao J, Kirkland SC, Isakson P, Coffey RC, Morrow J et al. Inhibition of human colon cancer cell growth by selective inhibition of cyclooxygenase-2. Cancer Res 1997; 99: 2.254-2.259.
32. Castaño E, Dalmau M, Marti M, Berrocal F, Bartrons R, Gil J. Inhibition of DNA synthesis by aspirin in swiss 3T3 fibroblasts. J Pharmacol Exp Ther 1997; 280: 366-372.
33. Elder DJE, Hague A, Hicks DJ, Paraskeva C. Differential growth inhibition by the aspirin metabolite salicylate in human colorectal tumor cell lines. Cancer Res 1996; 56: 2.273-2.276.
34. Tsujii M, DuBois RN. Alterations in cellular adhesion and apoptosis in epithelial cells overexpressing prostaglandin endoperoxide synthase-2. Cell 1995; 83: 493-501.
35. DuBois RN, Shao J, Tsujii M, Sheng H, Beauchamp RD. G1 delay in cells overexpressing prostaglandin endoperoxide synthase-2. Cancer Res 1996; 56: 733-737.
36. Shiff SJ, Qiao L, Tsai LL, Rigas B. Sulindac sulfide, an aspirin-like compound, inhibits proliferation, causes cell cycle quiescence, and induces apoptosis in HT-29 colon adenocarcinoma cells. J Clin Invest 1995; 96: 491-503.
37. Piazza GA, Klulchak AL, Krutzsch M, Sperl G, Paranka NS, Gross PH et al. Antineoplastic drugs sulindac sulfide and sulfone inhibit cell growth by inducing apoptosis. Cancer Res 1995; 55: 3.110-3.116.
38. Oshima M, Dinchuk JE, Kargman SL, Oshima H, Hancock B, Kwong E et al. Suppression of intestinal polyposis in APC knockout mice by inhibition of cyclooxygenase 2. Cell 1996; 87: 803-809.
39. Bellosillo B, Piqué M, Barragán M, Castaño E, Villamor N, Colomer D et al. Aspirin and salicylate induce apoptosis and activation of caspases in B-cell chronic lymphocytic leukemia cells. Blood 1998; 92: 1.406-1.414.

DISCUSIÓN

M. Palacín: ¿Es posible alcanzar concentraciones de 5 mM de ácido acetilsalicílico en tratamiento crónico con este fármaco?

R. Bartrons: Nosotros calculamos que las concentraciones máximas alcanzadas son de 1,5-2 mM, tras el empleo en tratamiento del

ácido acetilsalicílico. Se ha observado que células leucémicas humanas entran en apoptosis con concentraciones de 2,5 mM de ácido acetilsalicílico. Es principalmente relevante haber podido demostrar en células humanas, en este caso por primera vez, que los AINE puedan ser, si no directamente, al menos utilizados como coadyuvantes en el tratamiento de la leucemia linfática.

A. García de Herreros: Con relación a estos datos de muerte celular inducida por inhibidores en células HT-29, ¿habéis estudiado la causa de las muertes, por ejemplo, bloqueando la apoptosis? ¿Observáis inhibición de crecimiento a dosis bajas?

R. Bartrons: Actualmente estamos trabajando en este tema. Puede inducirse apoptosis, demostrada por fragmentación de ADN y aparición de un pico diploide en citometría, incubando las células con concentraciones de ácido acetilsalicílico superiores a 2,5 mM. Otros autores han demostrado que a concentraciones bajas no se observa inducción de apoptosis. La respuesta a la segunda pregunta es que puede observarse inhibición de crecimiento de las células incubadas en presencia de concentraciones bajas de AINE.

S. Erill: Este efecto de la aspirina que no se observa con otros AINE, ¿se produce también con salicilato sódico añadido directamente?

R. Bartrons: Sí que se produce. En una de las gráficas que he presentado se incluían los resultados con salicilato sódico.

A. Celada: ¿La apoptosis se produce también en células normales? Y, ¿a través de qué vía ocurre?

R. Bartrons: No he presentado los datos de estudios realizados con monocitos, en los que observamos que se produce apoptosis y por un mecanismo, por ahora desconocido, mucho menos sensible tanto a salicilato como a aspirina.

J.M. Baeyens: Aunque ya ha sido previamente comentado, me preguntaba si podían existir diferencias entre aspirina y otros AINE que pudieran ser consecuencia de la capacidad acetiladora de COX-2 y, por tanto, de la inhibición irreversible.

R. Bartrons: En mi opinión deben coexistir mecanismos de acción muy distintos. En los estudios epidemiológicos de prevención cardiovascular con el empleo de bajas dosis de aspirina, la concentración de fármaco que llega al intestino es mínima y no puede, por tanto, explicar los efectos que se observan mediante estudios in vitro. En este caso, a bajas concentraciones, sugerimos que se produce inhibición de COX (1 o 2), mientras que en otras situaciones, a concentraciones superiores a 2 mM, se verían afectadas otras vías de señalización que conducirían a la apoptosis.

O. Bulbena: El intestino es de los pocos órganos en donde se ha descrito que el NFκ-B está incluso expresado en condiciones basales y que existe iNOS constitutiva. Tal vez un posible mecanismo de acción de la aspirina pudiera estar relacionado con su efecto inhibitorio sobre el NFκ-B.

R. Bartrons: Desconocemos si 80-125 mg de aspirina pueden modificar el NFκ-B intestinal. En los trabajos que se han publicado sobre el efecto de los salicilatos sobre NFκ-B se empleaban concentraciones muy altas, del orden de 10-20 mM. Para alcanzar estas concentraciones en el intestino, deberían administrarse más de 12 g de aspirina, lo que ningún farmacólogo se atrevería a probar.

P. Kaliman: Recientemente se ha publicado un trabajo que relaciona p38 MAP-cinasa con al apoptosis inducida por salicilatos. ¿Han estudiado si con el inhibidor se modifica la apoptosis?

R. Bartrons: Nuestro grupo ha estudiado p38 en dos modelos distintos y no se modifica la apoptosis, ni la MAP-cinasa tampoco. Es probable que Iκ-B esté modificada, aunque es difícil de estudiar a través de nuestros modelos experimentales.