

Colorectal cancer and Coxibs

Colonoscopy is nowadays our most powerful tool for colorectal cancer (CRC) prevention (1). However, it has shortcomings such as its invasive nature and the high cost of screening policies based on this technique. As an alternative, the administration of agents able to prevent CRC from developing is under study. A number of epidemiological studies revealed a substantial decrease in CRC-related mortality in patients who were chronic users of aspirin or other non-selective NSAIDs (2,3). The NSAID sulindac reduces the number and size of adenomas in patients with familiar adenomatous polyposis (FAP), an inherited syndrome due to absence or inactivation of the APC tumor suppressor gene (4). Various NSAIDs have proven to be effective in the prevention of tumors using an experimental model –the *MIN* (multiple intestinal neoplasm) mouse, which bears a chemical mutation in the APC gene and develops multiple adenomas (5).

Non-selective NSAIDs inhibit the COX-2 isoform of the enzyme cyclo-oxygenase as well as the COX-1 isoform of this enzyme, which is expressed in a constitutive manner and plays an important role in the maintenance of physiologic mechanisms such as cytoprotection at the gastric mucosa. Selective COX-2 isoform inhibiting NSAIDs (which will be referred to as coxibs) may evade non-selective NSAID-induced adverse events, which are mainly gastrointestinal or renal in nature.

COX-2 is an enzyme inducible in various tissues by stimuli such as proinflammatory cytokines, growth factors, mitogens, and tumor promoters. Evidence exists that relates COX-2 expression to CRC. Patients with CRC exhibit an increased expression of COX-2 in their adenoma or adenocarcinoma tissue when compared to healthy colon tissue (6). Increased COX-2 levels and a normal COX-1 expression are seen both in *APC^{MIN}* mice adenomas (7) and in carcinogen-induced colon tumors in the rat (8). Tumors arising in the colon in an experimental ulcerative colitis model –interleukin-10 (-/-) mice– also overexpress COX-2 (9).

Of greater significance are intervention studies in *APC^{Δ719}* knockout mice: both a COX-2 knockout mutation and the administration of a coxib reduce the development of intestinal adenomas in this experimental model (9). In a more recent study –also in *APC^{Δ719}* mice– rofecoxib at doses equivalent to those used in humans showed a protective effect by inhibiting polyp development (10). A chemopreventive effect by celecoxib has been seen to reduce aberrant crypt foci and azoxymethane-induced colon cancer in rats (11).

NSAIDs seemingly exert their chemopreventive effect by mainly inhibiting COX-2, which would facilitate apoptosis in CRC cells. Intestinal epithelial cells modified for COX-2 overexpression are strongly resistant to apoptosis (12). Coxibs are capable of inducing apoptosis in cell lines from colon adenomas and cancer in humans (13). The mechanisms through which COX-2 inhibitors induce apoptosis

Editorial

are controversial. COX-2 inhibition decreases the synthesis of eicosanoids such as prostaglandins from arachidonic acid. Prostaglandins show a low proapoptotic effect, and hence coxib-induced PGE₂ decrease is seemingly not a major mechanism. Increased concentrations of arachidonic acid—not used in eicosanoid synthesis—activate sphingomyelinase, an enzyme that turns sphingomyelin into ceramide, in turn a potent apoptosis inductor (14). Arachidonic acid also disturbs mitochondrial permeability, which induces a release of cytochrome C and hence apoptosis (15). Coxib-induced, COX-independent proapoptotic mechanisms (such as an inhibition of proliferating factor NFκB or of growth promoting protein PPARδ) have also been described (16). Thus, NSAIDs seemingly exert their chemopreventive effect through mechanisms that are both COX-dependent and COX-independent.

Tumor angiogenesis is critical for tumor growth and spread. The chemopreventive effect of NSAIDs is partly exerted by inhibiting tumor angiogenesis. In COX-2-deficient mice a decrease in vascular endothelial growth factor, as well as a reduction in angiogenesis and tumor growth may be seen (17). COX-2 inhibitors also exert their anti-tumor effect through additional antiproliferative and antioxidative activity routes.

In this issue of *Revista Española de Enfermedades Digestivas* Noguera et al. (18) study the chemoprotective effect of rofecoxib and AAS in an experimental animal model. The particular attention paid to surface area and microscopic tumor percentage estimations is interesting, as these provide a better effect magnitude estimate than tumor counting alone. On the other hand, the use of rofecoxib in their study is to be highlighted, since it has been much less used than celecoxib in investigations despite its high specificity for COX-2. Consistently with this study and in a similar experimental model a coxib significantly reduced aberrant crypt foci in rats treated with 1,2-dimethylhydrazide (19).

In spite of all reported evidence there is still a long way to go for the establishment of valid strategies for CRC chemoprevention using coxibs except regarding celecoxib, which diminishes the number of polyps and induces polyp size regression in patients with FAP (in a blind controlled study), its use being accepted in this indication by the U.S. FDA (20). Many questions remain unanswered regarding sporadic CRC: the greatest experimental evidence for NSAIDs is based on the suppression of adenomas in FAP, experimental CRC models in animals are many and results depend upon the mouse strain used, and studies of cell lines from human colon cancer are hence thought to be of greater use. We need to wait for results from a number of ongoing phase-II and -III trials with AAS, sulindac, rofecoxib, celecoxib, and other NSAIDs in order to understand the potential toxic and beneficial effects of these drugs prior to their being indicated in CRC prevention. Studies are being performed using various tumor development stages: prevention of development, growth and invasion control, and response in already invasive cancer. Cost-benefit ratios should be assessed in these studies, and a recent investigation based on a Markov model found that the cost per life saved is higher for COX-2 chemoprevention *versus* colonoscopy screening (21). Lastly, the future of chemoprevention may lie in drug combinations (not only cyclo-oxygenase inhibitors but lipoxygenase inhibitors, conventional chemotherapeutic agents, etc.) synergically or additively exerting antitumor effects at various levels.

C. Taxonera and J. L. Mendoza

*Unit of Inflammatory Bowel Disease. Service of Digestive Diseases.
Hospital Clínico San Carlos. Madrid. Spain*

Editorial

REFERENCES

1. Winawer SJ, Fletcher RH, Miller L, et al. Colorectal cancer screening: clinical guidelines and rationale. *Gastroenterology* 1997; 112: 594-642.
2. Thun MJ, Namboodiri MM, Heath CW Jr. Aspirin use and reduced risk of fatal colon cancer. *N Engl J Med* 1991; 325: 1593-6.
3. Giovannucci E, Egan KM, Hunter DJ, et al. Aspirin and the risk of colorectal cancer in women. *N Engl J Med* 1995; 333: 609-14.
4. Giardiello FM, Hamilton SR, Krush AJ, et al. Treatment of colonic and rectal adenomas with sulindac in familial adenomatous polyposis. *N Engl J Med* 1993; 328: 1313-6.
5. Mahmoud NN, Boolbol SK, Dannenberg AJ, et al. The sulfide metabolite of sulindac prevents tumors and restores enterocyte apoptosis in a murine model of familial adenomatous polyposis. *Carcinogenesis* 1998; 19: 87-91.
6. Sano H, Kawahito Y, Wilder RL, et al. Expression of cyclooxygenase-1 and -2 in human colorectal cancer. *Cancer Res* 1995; 55: 3785-9.
7. Williams CS, Luongo C, Radhika A, et al. Elevated cyclooxygenase-2 levels in Min mouse adenomas. *Gastroenterology* 1996; 111: 1134-40.
8. DuBois RN, Radhika A, Reddy BS, et al. Increased cyclooxygenase-2 levels in carcinogen-induced rat colonic tumors. *Gastroenterology* 1996; 110: 1259-62.
9. 8 de 4 Shattuck-Brandt RL, Varilek GW, Radhika A, et al. Cyclooxygenase-2 expression is increased in the stroma of colon carcinomas from IL-10 (-/-) mice. *Gastroenterology* 2000; 118: 337-45.
10. Oshima M, Dinchuk JE, Kargman SL, et al. Suppression of intestinal polyposis in Apc (delta 716) knockout mice by inhibition of cyclooxygenase-2 (COX-2). *Cell* 1996; 87: 803-9.
11. Reddy B, Hirose R, Lubet V, et al. Chemoprevention of colon cancer by specific cyclooxygenase-2 inhibitor, celecoxib, administered during different stages of carcinogenesis. *Cancer Res* 2000; 60: 293-7.
12. Tsujii M, Dubois RN. Alterations in cellular adhesion and apoptosis in epithelial cells overexpressing prostaglandin endoperoxide synthase 2. *Cell* 1995; 83: 493-501.
13. Waddell WR, Ganser GF, Cerise EJ, Loughry RW. Sulindac for polyposis of the colon. *Am J Surg* 1989; 157: 175-9.
14. Chan TA. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs, apoptosis, and colon-cancer chemoprevention. *Lancet Oncol* 2003; 3: 166-74.
15. Cao Y, Pearman AT, Zimmerman GA, et al. Intracellular unesterified arachidonic acid signals apoptosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 11280-5.
16. Maier TJ, Schilling K, Schmidt R, Geisslinger G, Grösch S. Cyclooxygenase-2 (COX-2)-dependent and -independent anticarcinogenic effects of celecoxib in human colon carcinoma cells. *Biochem Pharmacol* 2004; 67: 1469-78.
17. Totzke G, Schulze-Osthoff K, Janicke R. Cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitors sensitize tumor cells specifically to death receptor-induced apoptosis independently of COX-2 inhibition. *Oncogene* 2003; 22: 8021-30.
18. Noguera Aguilar JF, Plaza Martínez A, Amengual Antich I, Morón Camis JM, Tortajada Collado C, Pujol Tugores JJ. Influencia del rofecoxib en la carcinogénesis cólica experimental en ratas. *Rev Esp Enferm Dig* 2004; 96 (10): 678-87.
19. Wei M, Morimura K, Wanibuchi H, et al. Chemopreventive effect of JTE-522, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, on 1,2-dimethylhydrazine-induced rat colon carcinogenesis. *Cancer Letters* 2003; 202: 11-6.
20. Steinbach G, Lynch PM, Phillips RK, et al. The effect of celecoxib, a cyclooxygenase-2 inhibitor, in familial adenomatous polyposis. *N Eng J Med* 2000; 342: 1946-52.
21. Ladabaum U, Scheiman JM, Fendrick AM. Potencial effect of cyclooxygenase-2 specific inhibitors on the prevention of colorectal cancer: a cost-effectiveness analysis. *Am J Med* 2003; 114: 546-54.

Cáncer colorrectal y Coxibs

En la actualidad la colonoscopia es el arma más potente para la prevención del cáncer colorrectal (CCR) (1). Sin embargo presenta inconvenientes como su carácter invasivo y el elevado coste de las políticas de *screening* basadas en esta técnica. Como alternativa se estudia la administración de agentes que prevengan la aparición del CCR. Son varios los trabajos epidemiológicos que objetivan una sustancial disminución en la mortalidad por CCR en pacientes con uso regular de aspirina u otros AINE no selectivos (2,3). Un AINE, el sulindac, reduce en número y tamaño los adenomas en pacientes con poliposis adenomatosa familiar (PAF), síndrome hereditario causado por la falta o inactivación del gen supresor de tumores APC (4). Diversos AINE se han mostrado eficaces en la prevención de tumores en un modelo experimental: el ratón *MIN* (*multiple intestinal neoplasia*) que tiene una mutación química en el gen APC y que desarrolla adenomas múltiples (5).

Editorial

Los AINE no selectivos inhiben la enzima ciclooxigenasa en su isoforma COX-2, pero también inhiben la forma COX-1, expresada de manera constitutiva y que es importante para mantener mecanismos fisiológicos como la citoprotección de la mucosa gástrica. Los AINE que inhiben selectivamente la isoforma COX-2 (que denominaremos Coxibs) pueden soslayar los efectos adversos fundamentalmente gastrointestinales y renales que producen los AINE no selectivos.

La COX-2 es una enzima inducible en diversos tejidos por estímulos como citoquinas proinflamatorias, factores de crecimiento, mitógenos y promotores tumorales. Diversas evidencias relacionan la expresión de la COX-2 con el CCR. Pacientes con CCR presentan un aumento de expresión de COX-2 en el tejido de adenoma o adenocarcinoma cuando se compara con colon sano (6). Tanto en adenomas en ratones *APC^{MIN}* (7) como en tumores de colon inducidos con carcinógenos en ratas (8) se objetivan niveles altos de COX-2, con expresión COX-1 normal. También en un modelo experimental de colitis ulcerosa, el ratón interleucina-10 (-/-), los tumores que aparecen en el colon sobreexpresan COX-2 (9).

Mayor peso tienen los estudios de intervención en el ratón *APC^{Δ719 knockout}*: tanto una mutación COX-2 knockout como la administración de un Coxib, disminuye la aparición de adenomas intestinales en este modelo experimental (9). En un estudio más reciente también en ratón *APC^{Δ719}* el rofecoxib a dosis equivalentes a las usadas en humanos ejerce efecto protector al inhibir la aparición de pólipos (10). El efecto quimiopreventivo del celecoxib se ha demostrado en la reducción de focos aberrantes en criptas y cáncer de colon inducidos tras administración de azoximetano en ratas (11).

Parece que los AINE ejercen su efecto quimiopreventivo fundamentalmente inhibiendo la COX-2, lo que facilitaría la apoptosis en células de CCR. Células epiteliales intestinales modificadas para sobreexpresar COX-2 muestran una marcada resistencia a la apoptosis (12). Un Coxib es capaz de inducir apoptosis en líneas celulares de adenomas y cáncer de colon de humanos (13). Los mecanismos por los que los inhibidores de la COX-2 inducen apoptosis son motivo de debate. La inhibición de COX-2 disminuye la síntesis de eicosanoides, como las prostaglandinas, a partir del ácido araquidónico. Las prostaglandinas ejercen un efecto proapoptótico bajo, por lo que no parece que la disminución de PGE₂ que producen los Coxibs sea la vía principal. El aumento de concentración de ácido araquidónico que no se convierte en eicosanoides estimula la enzima esfingomielinasa que convierte la esfingomielina en ceramida, un potente inductor de apoptosis (14). El ácido araquidónico también altera la permeabilidad mitocondrial lo que induce liberación de citocromo C, induciendo apoptosis (15). Se han descrito también mecanismos proapoptosis COX-independientes (como la inhibición del factor proliferativo NFκB o de la proteína promotora del crecimiento PPARδ) producidos por los Coxibs (16). Parece por ello que los AINE ejercen su efecto quimiopreventivo por mecanismos tanto COX-dependiente como COX-independiente.

La angiogénesis tumoral es vital para el crecimiento y diseminación de tumores. El efecto quimiopreventivo de los AINE se realiza en parte inhibiendo la angiogénesis tumoral. En ratones con deficiencia de COX-2 se objetiva un descenso del factor de crecimiento endotelial vascular y una reducción en la angiogénesis y el crecimiento tumoral (17). Los inhibidores de la COX-2 también ejercen su efecto antitumoral por otras vías mediante efectos antiproliferativo y antioxidativo.

En este número de la *Revista Española de Enfermedades Digestivas* Noguera y cols. (18) estudian el efecto quimioprotector del rofecoxib y AAS en un modelo animal experimental. Es interesante la especial atención que se dedica al cálculo de superficie y porcentaje tumoral microscópico, lo que da una mejor magnitud del efec-

Editorial

to que el simple recuento de tumores. Por otro lado es de destacar que en el estudio se utilice rofecoxib, que aunque posee una gran especificidad por la COX-2, ha sido mucho menos usado en experimentación que el celecoxib. En concordancia con este estudio y en un modelo experimental similar, un Coxib reduce significativamente los focos de criptas aberrante en ratas tratadas con 1-2 dimetilhidrazida (19).

A pesar de todas las evidencias comentadas aún queda un largo camino para establecer estrategias válidas para la quimioprevención del CCR con Coxibs. La excepción la constituye el celecoxib, que disminuye el número e induce regresión en el tamaño de los pólipos en pacientes afectos de PAF (en un estudio ciego y controlado), y cuyo uso está aceptado para esta indicación por la FDA de EE.UU. (20). En el CCR esporádico quedan aún muchos interrogantes por resolver: la mayor evidencia experimental de los AINE se basa en la supresión de adenomas en la PAF, los modelos experimentales de CCR en animales son muchos y los resultados dependen de la cepa de ratón usada y se piensa que por ello puedan ser más aplicables los estudios en líneas celulares de cáncer de colon humano. Es necesario esperar a los resultados de múltiples ensayos en fase II y III que se realizan en la actualidad con AAS, sulindac, rofecoxib, celecoxib y otros AINE para conocer las posibles efectos tóxicos y beneficiosos de estos fármacos antes de ser indicados para la prevención del CCR. Los estudios se realizan en diversos estadios de desarrollo tumoral: prevención de la aparición, control de crecimiento e invasión y respuesta en el cáncer ya invasivo. En esos estudios conviene valorar también la relación coste-beneficio y en ese sentido, un trabajo reciente basado en un modelo de Markov, encuentra que el coste por vida salvada es mayor para la quimioprevención con COX-2 con respecto al screening con colonoscopia (21). Como última consideración, es posible que el futuro de la quimioprevención resida en la asociación de fármacos (no sólo inhibidores de ciclooxygenasa sino también de la lipooxygenasa, quimioterápicos convencionales, etc.) que ejerzan de manera sinergística o aditiva un efecto antitumoral a diversos niveles.

C. Taxonera y J. L. Mendoza

*Unidad de Enfermedad Inflamatoria Intestinal. Servicio de Aparato Digestivo.
Hospital Clínico San Carlos. Madrid*