

Original

## La ciclooxigenasa-2 está regulada al alza en el pulmón y en los tumores bronquiales de pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica

Jordi Roca-Ferrer<sup>a,b</sup>, Laura Pujols<sup>a,b</sup>, Carlos Agusti<sup>a,b,c</sup>, Antoni Xaubet<sup>a,b,c</sup>, Joaquim Mullol<sup>a,b,d</sup>, Josep M. Gimferrer<sup>e,f</sup> y César Picado<sup>a,b,c,f,\*</sup>

<sup>a</sup> Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, España

<sup>b</sup> Centro de Investigaciones Biomédicas en Red de Enfermedades Respiratorias (CIBERes)

<sup>c</sup> Servei de Pneumologia, Hospital Clínic, Barcelona, España

<sup>d</sup> Servei d'Otorrinolaringologia, Hospital Clínic, Barcelona, España

<sup>e</sup> Servei de Cirurgia Toràctica, Hospital Clínic, Barcelona, España

<sup>f</sup> Universitat de Barcelona, Barcelona, España

### INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

#### Historia del artículo:

Recibido el 27 de abril de 2011

Aceptado el 18 de mayo de 2011

On-line el 27 de julio de 2011

#### Palabras clave:

Cáncer bronquial

Enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC)

Ciclooxigenasa

### RESUMEN

**Introducción:** La ciclooxigenasa 2 (COX-2) está aumentada en la inflamación y en el cáncer. En este estudio se evaluó la expresión de la COX-2 en el pulmón y en el cáncer bronquial de pacientes con EPOC.

**Métodos:** Se estudiaron 44 pacientes varones con cáncer bronquial (27 escamosos y 17 adenocarcinomas). Se obtuvieron muestras del parénquima pulmonar, de la mucosa bronquial adyacente al tumor y del tumor mismo. El tejido pulmonar de 14 pacientes con neumotórax se empleó como control. El ARNm y la proteína de la COX-1 y de la COX-2 se midieron mediante RT-PCR y western blot, respectivamente.

**Resultados:** Los niveles de ARNm de la COX-1 y de la COX-2 en el parénquima de los pacientes con EPOC fueron superiores a los de los controles. Los niveles del ARNm de la COX-2 en pacientes con EPOC fueron más altos en el parénquima pulmonar que en las vías aéreas y los tumores. No hubo diferencias en los niveles del ARNm de la COX-2 entre escamosos y adenocarcinomas. En contraste, la proteína de COX-2 mostró niveles más altos en los tumores que en el parénquima y las vías aéreas. Los niveles de la proteína de COX-2 fueron más altos en los adenocarcinomas que en los carcinomas escamosos.

**Conclusión:** Este estudio muestra que en la EPOC la vía de la ciclooxigenasa está activada y asociada a un aumento en la expresión de la COX-2 en los tumores. Cabe la posibilidad de que la COX-2 esté involucrada en la asociación de EPOC y cáncer.

© 2011 SEPAR. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

## Cyclooxygenase-2 Levels are Increased in the Lung Tissue and Bronchial Tumors of Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease

### ABSTRACT

#### Keywords:

Bronchial cancer

Chronic obstructive pulmonary disease

(COPD)

Cyclooxygenase

**Introduction:** The expression of cyclooxygenase 2 (COX-2) is usually increased in inflammation and cancer. This study examines the expression of COX-2 in the lung of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) patients with lung cancer.

**Methods:** We studied 44 male patients with bronchial cancer (27 squamous carcinoma and 17 adenocarcinoma). Samples were obtained from the pulmonary parenchyma, from the bronchial mucosa adjacent to the tumor and from the tumor itself. Lung tissue specimens from 14 patients with pneumothorax were used as control. The mRNA and the COX-1 and COX-2 proteins were assessed by RT-PCR and Western blot, respectively.

**Results:** COX-1 and COX-2 mRNA levels were significantly higher in the lung parenchyma of COPD patients than in the control subjects. COX-2 mRNA levels were also higher in the lung parenchyma than in both tumor and airway tissue samples procured from COPD patients. There were no differences in the COX-2 mRNA levels between squamous carcinoma and adenocarcinoma. In contrast, COX-2 protein levels were significantly higher in tumors than in lung parenchyma and airways. COX-2 protein levels were higher in adenocarcinoma compared with squamous carcinoma.

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: cpicado@ub.edu (C. Picado).

**Conclusion:** This study shows that in COPD, the pathway of cyclooxygenase is activated and associated with an increase in the expression of COX-2 in lung tumors. These observations suggest that COX-2 is possibly involved in the association between COPD and cancer.

© 2011 SEPAR. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

## Introducción

Una abundante información científica avala la existencia de una relación entre inflamación e iniciación y progreso de varios tipos de cánceres, entre ellos el cáncer bronquial<sup>1</sup>. Es también conocido que la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y el cáncer bronquial están estrechamente relacionadas con el hábito tabáquico. El tabaco podría ser el nexo de unión que explicara esta asociación, ya que se considera que es el responsable común de ambos procesos. Sin embargo, varios estudios han mostrado que la gravedad de la obstrucción bronquial, valorada mediante la medida del volumen espirado en el primer segundo (FEV<sub>1</sub>), es un factor independiente para el desarrollo de cáncer bronquial en los fumadores<sup>2-4</sup>. Esta observación sugiere que existe una conexión entre las dos enfermedades que podría ser independiente de la acción del tabaco. Dado que el inicio del cáncer está asociado a la inflamación crónica y la EPOC es una enfermedad inflamatoria de las vías aéreas, es posible que el proceso inflamatorio presente en los fumadores que desarrollan obstrucción bronquial sea el nexo de unión entre EPOC y cáncer. Diversos estudios señalan a los mediadores inflamatorios lipídicos entre los posibles responsables de la relación entre inflamación y cáncer.

Los mediadores lipídicos se forman en los procesos inflamatorios a partir del ácido araquidónico (AA). El AA se libera desde los depósitos de fosfolípidos por la acción de la fosfolipasa A<sub>2</sub>, la cual puede ser activada por diversos estímulos, entre los que se incluyen citocinas, microorganismos y lesiones celulares de diversa índole. El AA puede ser metabolizado por tres vías principales: la de las ciclooxigenasas (COX), la de las lipooxigenasas y la del cromosoma P450, por medio de las cuales se forma una familia de productos denominados eicosanoides. La familia de los eicosanoides incluye a las prostaglandinas (PG) formadas por la acción de las COX. Existen dos tipos de COX que participan en la síntesis de PG: la COX-1 y la COX-2. La COX-1 está normalmente presente en las células y se encarga de funciones fisiológicas; en cambio, la COX-2 suele ser indetectable en situaciones de normalidad, pero es rápidamente inducida en las células cuando son sometidas a estímulos inflamatorios<sup>5</sup>.

Los prostaglandinas generadas por las dos enzimas COX son la PGD<sub>2</sub>, la PGE<sub>2</sub> y la PGF<sub>2α</sub>. Todas ellas participan en la regulación de las respuestas inflamatorias<sup>5</sup>.

La expresión de la COX-2 está aumentada en diversos cánceres humanos, entre ellos el cáncer bronquial. El aumento en la expresión de la COX-2 lleva a un incremento en la producción de PGE<sub>2</sub>, hecho que se ha demostrado en el cáncer colonorrectal, en el de páncreas y en el del pulmón<sup>6</sup>. La PGE<sub>2</sub> estimula la angiogénesis, la invasión celular, la formación de metástasis y la sobrevivencia celular, esta última inhibiendo la apoptosis<sup>6,7</sup>.

Estudios previos han demostrado en los pacientes con EPOC un aumento en la producción de PGE<sub>2</sub> asociado a una regulación al alza de la COX-2<sup>8,9</sup>. Otra observación interesante es que fumar tabaco también aumenta la expresión de COX-2 y la producción de PGE<sub>2</sub><sup>10,11</sup>.

Tomando en cuenta todos estos datos y asociándolos a la conocida interdependencia que existe entre fumar, EPOC y cáncer bronquial, se puede plantear la posibilidad de que la inducción de la COX-2, junto al aumento en la producción de PGE<sub>2</sub>, pudiera ser el nexo de unión de todos ellos.

En este estudio establecimos la hipótesis de que a los fumadores que presentan una inflamación bronquial asociada a EPOC,

la producción aumentada de PGE<sub>2</sub> les predispone a desarrollar un cáncer bronquial. Dado que el aumento de la PGE<sub>2</sub> se asocia a un incremento en la expresión de la COX-2, nos propusimos estudiar la expresión de esta enzima en el tejido tumoral, en la mucosa bronquial adyacente al tumor y en el parénquima pulmonar distal a la zona de invasión tumoral.

Los objetivos concretos del estudio son: a) Evaluar y comparar la expresión de la COX-2 en el pulmón de pacientes con EPOC y de sujetos no afectados de EPOC. b) Evaluar y comparar la expresión de la COX-2 en el parénquima pulmonar, las vías aéreas y el tejido pulmonar de pacientes con EPOC y cáncer bronquial. c) Analizar y comparar la expresión de la COX-2 en relación al tipo histológico del cáncer bronquial, así como su relación con el grado de extensión del proceso.

## Métodos

### Pacientes

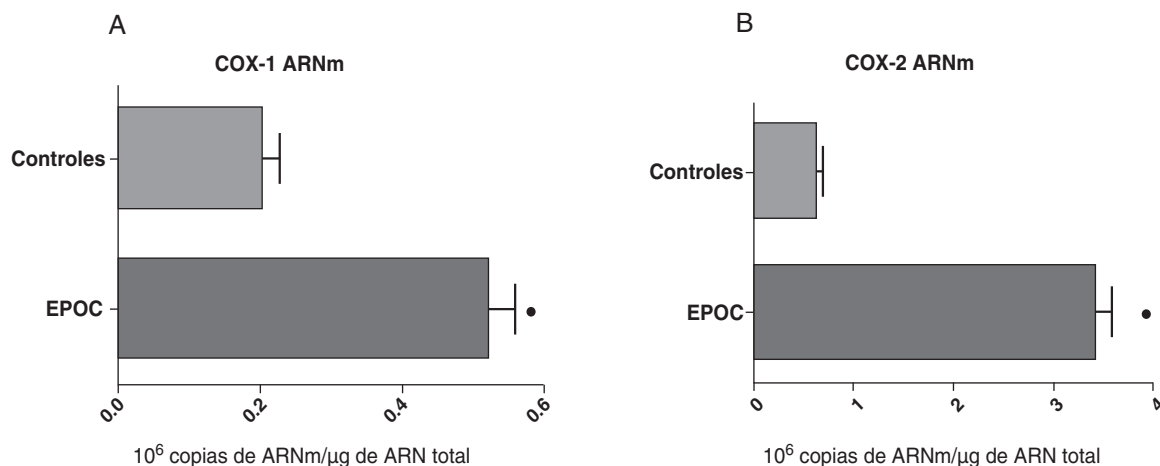
Un total de 44 pacientes varones, fumadores o ex fumadores, con una edad de 65 ± 6 (media ± desviación típica) años y con cáncer bronquial, que eran sometidos a una resección pulmonar, fueron incluidos en el estudio. La clasificación histológica de los tumores y el grado de extensión de estos se llevó a cabo según las normativas establecidas para ello<sup>12,13</sup>. Veintisiete tumores se clasificaron como escamosos y 17 como adenocarcinomas. El estudio de extensión de los tumores permitió clasificarlos en: estadio IB, 29 pacientes; estadio IIA, 5 pacientes; estadio IIB, 1 paciente; estadio IIIA, 6 pacientes, y estadio IIIB, 4 pacientes. Todos los pacientes presentaban una historia de bronquitis crónica de varios años de evolución. El estudio de la función pulmonar mostró que la mayoría padecían obstrucción bronquial. El FEV<sub>1</sub> del conjunto de los 44 pacientes fue de 60 ± 12% del valor teórico. Cuarenta y dos de los 44 pacientes cumplían con los criterios que permitían clasificarlos como afectados de EPOC. Los dos pacientes no diagnosticados de EPOC no fueron excluidos del estudio, dada su historia de broncopatía crónica<sup>14</sup>.

Como población control se tomó un grupo de 14 pacientes varones no fumadores con una edad media de 34 ± 6 años que fueron sometidos a una intervención quirúrgica con la finalidad de tratar un neumotórax espontáneo recidivante. La edad del grupo control fue significativamente más baja ( $p < 0,05$ ) que el grupo de pacientes EPOC con cáncer bronquial. Ninguno de los sujetos control fueron explorados mediante espirometría, por lo que, aunque muy improbable, no se puede descartar que alguno de ellos sufriera una enfermedad obstructiva no detectada previamente.

El estudio fue aprobado por el Comité Ético de nuestra institución y todos los pacientes firmaron un consentimiento informado en el que aceptaban el uso de las muestras obtenidas para los fines del estudio

### Procesamiento de las muestras de tejidos

Se obtuvieron muestras del tumor, de la zona adyacente del bronquio libre de cáncer y del parénquima pulmonar más distal posible al tumor. Las muestras tumorales se obtuvieron de zonas sin aspecto necrótico. Las muestras de tejido de los sujetos controles que estaban afectados de neumotórax se obtuvo de la zona pulmonar cercana a la resección en la intervención. Las muestras se



**Figura 1.** Expresión de la ARNm de la COX-1 (A) y de la COX-2 (B) en el parénquima pulmonar de sujetos controles (n = 14) y de pacientes EPOC con cáncer bronquial (n = 44). Se representan las medias con los errores típicos de la media. La expresión del ARNm se muestra en forma de número de moléculas con respecto al ARN total. ● p < 0,01.

congelaron inmediatamente en nitrógeno líquido y se guardaron a  $-80^{\circ}\text{C}$  de temperatura hasta su procesamiento y análisis.

#### Aislamiento del ARN, transcripción reversa (RT) y reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Las muestras de tejido congelado se homogenizaron y el ácido ribonucleico (ARN) total se aisló mediante un método de extracción comercial (TRI-reagent, MRC, Cincinnati, Ohio). La integridad del ARN y la transcripción reversa del ARN total a ADN se realizó según un método descrito en detalle anteriormente<sup>14</sup>. La expresión del ARN mensajero (ARNm) de la COX-1 y la COX-2 se analizó mediante RT-PCR semicuantitativa con cebadores y condiciones de reacción publicados anteriormente<sup>15</sup>.

#### Western Blotting

Cincuenta y cinco microgramos de proteína de cada muestra se analizaron en geles de electroforesis de sulfato de poliacrilamida empleando el Novex X-cell II<sup>®</sup> System y un gel de separación de tris acetato al 7%. Las proteínas, una vez separadas, eran transferidas a membranas de nitrocelulosa. La tinción de las membranas se realizaba mediante Ponceau S (Sigma Chemical, St Louis, MO) con el fin de evaluar la equivalencia en la carga de cada muestra y en la transferencia del gel. Después de bloquear con leche en polvo al 5% disuelta en PBS al 0,05% conteniendo Tween 20 al 1%, las membranas se incubaban con un anticuerpo policlonal de cabra anti COX-1 o COX-2 humanos (Santa Cruz). Las membranas se incubaban con un anticuerpo secundario de cabra para COX-1 y COX-2 conjugado con peroxidasa (Santa Cruz). Posteriormente las membranas se procesaban usando reactivos de detección mediante quimioluminiscencia (Pierce SuperSignal chemiluminescent detection reagents, Pierce Technology, Rockford, IL) de acuerdo a las instrucciones del proveedor y usando una película quimioluminiscente (Hyperfilm NAECL, Amersham). La intensidad de la señal de cada banda en el fluorograma se cuantificó mediante un sistema de escaneado densitométrico (BIO1-D program). La valoración y la comparación de la cantidad de las proteínas se realizaron tras la normalización con los valores densitométricos obtenidos mediante el escaneado de estándares de COX-1 y COX-2 que eran cargados en el mismo momento en que se hacía lo propio con las proteínas de las muestras a estudiar. Los resultados obtenidos se expresan como porcentaje de cambio en la densidad óptica (DO).

#### Análisis estadístico

Los valores medios de ARNm y proteína de la COX-1 y de la COX-2 de los tres grupos se compararon mediante un test de Kruskal-Wallis: En el caso de mostrarse diferencias estadísticamente significativas, se analizaban las diferencias entre grupos empleando el test de la U de Mann-Whitney. La correlación entre la edad de los pacientes y el FEV<sub>1</sub> con los niveles de expresión del ARNm y la proteína de la COX-1 y de la COX-2 se analizaron mediante el test de Spearman. Por su parte, la relación entre el grado de extensión de la enfermedad y los valores del ARNm y la proteína de la COX-1 y de la COX-2 se analizó mediante el test de Pearson. Los datos se muestran como media  $\pm$  desviación típica de la media. Una  $p < 0,05$  se aceptó como límite para la significación estadística.

#### Resultados

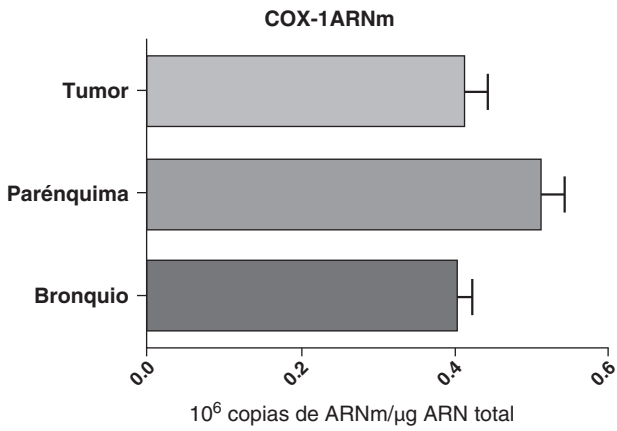
##### Expresión de COX-1 y COX-2 en muestras del parénquima de los pulmones de los controles y de los pacientes con cáncer bronquial

Los niveles de expresión del ARNm de la COX-1 y de la COX-2 en el parénquima de los pacientes con cáncer bronquial fue significativamente superior a los encontrados en los sujetos control (fig. 1). Sin embargo, no se observaron diferencias en la expresión de la proteína de COX-1 y COX-2 entre controles y pacientes con cáncer (datos no mostrados). Como el grupo control era más joven que el grupo estudio, se analizó si había correlación entre los niveles de las enzimas y la edad de los pacientes. No se encontró que hubiera correlación entre edad y niveles de expresión de las dos COX (COX-1,  $r = -0,12$ ; COX-2,  $r = 0,23$ ).

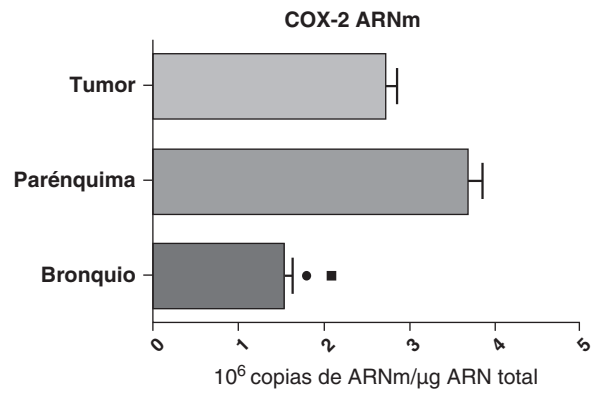
##### Expresión de COX-1 y COX-2 en el parénquima, las vías aéreas y los cánceres bronquiales

No se encontraron diferencias en la expresión del ARNm de la COX-1 entre las muestras obtenidas de diferentes partes del pulmón: parénquima, vías aéreas y tumor (fig. 2). Tampoco se observaron diferencias cuando las muestras se compararon teniendo en cuenta el tipo histológico del tumor: escamoso o adenocarcinoma (datos no mostrados).

En contraste con el ARNm de la COX-1, los niveles de expresión del ARNm de la COX-2 en pacientes con EPOC fueron estadística y significativamente más altos en el parénquima pulmonar en comparación a los obtenidos en las vías aéreas y en las



**Figura 2.** Expresión de la ARNm de la COX-1 en el tumor, el parénquima pulmonar y los bronquios de los pacientes EPOC con cáncer bronquial (n=44). Se representan las medias con los errores típicos de la media. La expresión del ARNm se muestra en forma de número de moléculas con respecto al ARN total. No hubo diferencias estadísticamente significativas.

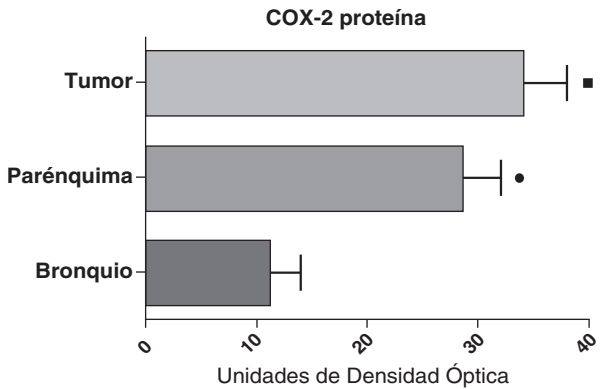


**Figura 4.** Expresión de la ARNm de la COX-2 en el tumor, el parénquima pulmonar y los bronquios de los pacientes EPOC con adenocarcinoma (n=17). Se representan las medias con los errores típicos de la media. La expresión del ARNm se muestra en forma de número de moléculas con respecto al ARN total. ● p < 0,03 entre bronquio y tumor. ■ p < 0,03 entre bronquio y parénquima. No hubo diferencias estadísticamente significativas entre parénquima y tumor.

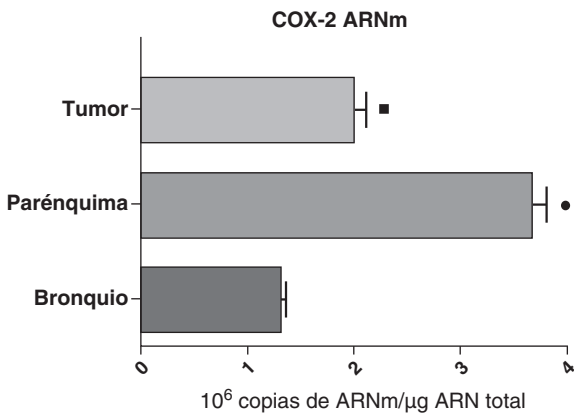
muestras tumorales, tanto en los pulmones de pacientes con carcinomas escamosos (fig. 3), como en los pacientes con adenocarcinomas (fig. 4). El valor más bajo del ARNm de la COX-2 se encontró en ambos casos en las vías aéreas (figs. 3 y 4). No hubo diferencias en los niveles de expresión del ARNm de la COX-2 entre cánceres escamosos y adenocarcinomas.

En contraste con los datos obtenidos con el ARNm, el análisis de la proteína de COX-2 mediante western blot mostró niveles significativamente más altos en las muestras tumorales en comparación a los detectados en el parénquima y las vías aéreas. Este resultado se observó tanto en las muestras de tumores escamosos (fig. 5) como en las de pacientes con adenocarcinomas (fig. 6)

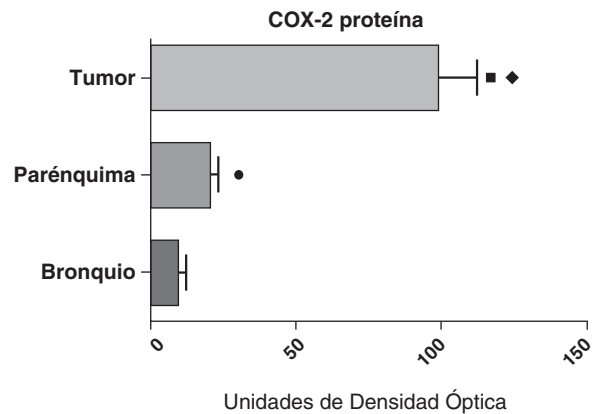
Cuando se compararon los niveles de expresión de la proteína de COX-2 en el parénquima, las vías aéreas y el tejido tumoral de pacientes con distintos tipos histológicos (carcinoma escamoso o adenocarcinoma) se observó que los niveles de la proteína eran significativamente más altos en el tejido tumoral del adenocarcinoma que en el del cáncer escamoso (fig. 7). Sin embargo, no hubo diferencias en la expresión de la proteína entre las muestras de vías aéreas o del parénquima procedentes de los pacientes con los dos tipos de tumores (datos no mostrados).



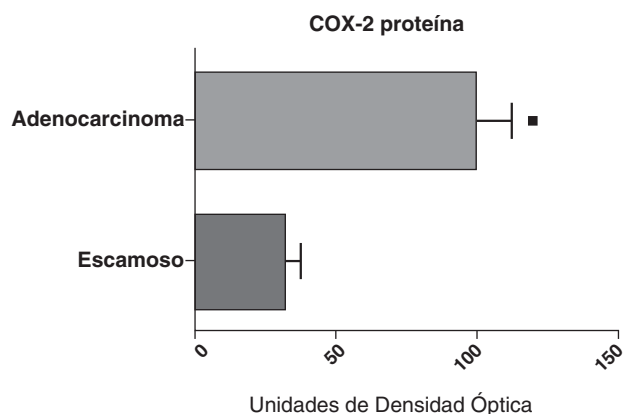
**Figura 5.** Expresión de la proteína de la COX-2 en el tumor, el parénquima pulmonar y los bronquios de los pacientes EPOC con carcinoma escamoso (n=27). Se representan las medias con los errores típicos de la media. La proteína se expresa en forma de unidades de densidad óptica. ■ p < 0,01 entre tumor y bronquio. ● p < 0,01 entre parénquima y bronquio. No hubo diferencias estadísticamente significativas entre tumor y parénquima.



**Figura 3.** Expresión de la ARNm de la COX-2 en el tumor, el parénquima pulmonar y los bronquios de los pacientes EPOC con carcinoma escamoso (n=27). Se representan las medias con los errores típicos de la media. La expresión del ARNm se muestra en forma de número de moléculas con respecto al ARN total. ● p < 0,001 entre parénquima y tumor. ◆ p < 0,0001 entre parénquima y bronquio. ■ p < 0,01 entre tumor y bronquio.



**Figura 6.** Expresión de la proteína de la COX-2 en el tumor, el parénquima pulmonar y los bronquios de los pacientes EPOC con adenocarcinoma (n=17). Se representan las medias con los errores típicos de la media. La proteína se expresa en forma de unidades de densidad óptica. ■ p < 0,001 entre tumor y bronquio. ◆ p < 0,01 entre tumor y parénquima. ● p < 0,05 entre parénquima y bronquio.



**Figura 7.** Expresión de la proteína de la COX-2 en los adenocarcinomas (n=17) y los carcinomas escamosos<sup>27</sup>. Se representan las medias con los errores típicos de la media. La proteína se expresa en forma de unidades de densidad óptica. ■ p < 0,01.

#### Correlaciones entre la expresión de COX-1 y COX-2 con la gravedad de la EPOC y los resultados de la estadificación del cáncer

No se encontraron correlaciones estadísticamente significativas entre los niveles de expresión del ARNm y de las proteínas de la COX-1 y de la COX-2, ni con el FEV<sub>1</sub>, ni con los resultados de la estadificación del tumor (datos no mostrados).

#### Discusión

Dado que la COX-2 parece estar involucrada en la regulación de varios procesos celulares de gran importancia en el desarrollo de cánceres, como son la angiogénesis, la progresión del tumor, las metástasis y la resistencia a la quimioterapia antineoplásica<sup>16,17</sup>, el objetivo del estudio fue investigar la expresión de la COX-2 en el pulmón de pacientes con EPOC afectados de cáncer bronquial, con el fin de analizar la relación entre la expresión de la COX-2 en el tejido pulmonar no afectado por el cáncer y el tejido neoplásico.

Los hallazgos más relevantes de nuestro estudio han sido: a) La expresión de la COX-1 y la COX-2 está regulada al alza en el parénquima de los pacientes con EPOC. b) La expresión del ARNm de la COX-2 es más elevada en el parénquima que en el tejido tumoral, tanto de los adenocarcinomas como de los carcinomas escamosos. c) La expresión de la proteína de COX-2 está aumentada en los tejidos tumorales, en particular en las muestras procedentes de adenocarcinomas.

Este estudio confirma que la EPOC es una enfermedad caracterizada por la presencia de un aumento en la actividad de la vía COX del metabolismo del AA. La expresión aumentada de la COX-2 en la EPOC fue descrita por primera vez por nuestro grupo<sup>8</sup> y confirmada más tarde por otros investigadores<sup>9</sup>. En este estudio se demuestra por primera vez que, al igual que la COX-2, la COX-1 también tiene su expresión aumentada en la EPOC. Esta observación no debe considerarse excepcional, ya que, aunque la COX-1 es una enzima habitualmente involucrada en funciones fisiológicas, lo cierto es que en procesos inflamatorios se pueden producir pequeños cambios en su expresión<sup>10,11,18,19</sup>. Por lo tanto, es posible que el aumento en la producción pulmonar de PGE<sub>2</sub> en pacientes con EPOC sea en parte debido al aumento en la actividad metabólica de la COX-1.

En contraste con lo que ocurría con el ARNm, no fue posible demostrar diferencias en la expresión de la proteína de la COX-1 entre el parénquima pulmonar de los sujetos controles y de los pacientes con EPOC. Este hecho no es excepcional y, cuando ocurre, suele deberse a las diferencias en la precisión y en la sensibilidad

de los métodos empleados para medir el ARNm y la proteína sintetizada por los ribosomas celulares. La PCR es una técnica que permite detectar pequeños cambios en la síntesis del ARNm, mientras que el western blot, que es la técnica utilizada para evaluar la cantidad de proteína sintetizada, presenta una precisión y una sensibilidad mucho menores para evaluar diferencias poco marcadas. Otras razones posibles, aunque poco probables, como la presencia de alteraciones en la síntesis proteica o alteraciones en la vida media de las proteínas generadas, podrían explicar la diferencia en los resultados obtenidos con el ARNm y la la proteína de la COX-1.

Al comparar el nivel de expresión de la COX-2 en los tejidos tumorales destacaron dos observaciones: a) Los niveles de proteína estaban marcadamente aumentados, mientras que los de ARNm lo estaban mucho menos. b) Los niveles de proteína eran mucho más elevados en el tejido procedente de adenocarcinomas que en el obtenido de los carcinomas escamosos. Estas observaciones sugieren que, muy probablemente, el aumento en la transcripción del gen (ARNm) de la COX-2 tiene un papel menos relevante que los procesos de traslación (síntesis de la proteína) y post-traslacionales (regulación de la vida media de la proteína) en el aumento de la expresión de la proteína de COX-2 en los tumores bronquiales.

Es ampliamente aceptado que la COX-2 desempeña un papel relevante en los procesos inflamatorios, y está también asumido que el aumento de la expresión de esta enzima es el responsable principal del incremento en la producción de PGE<sub>2</sub> detectada en pacientes con EPOC<sup>9</sup>. Dadas las conocidas habilidades de la PGE<sub>2</sub> para promover la oncogénesis, se puede pensar que el aumento en la producción de PGE<sub>2</sub>, como consecuencia de la respuesta inflamatoria, podría contribuir al desarrollo de un cáncer en los pacientes con EPOC<sup>20</sup>. Una posible secuencia en los eventos que llevan al desarrollo del cáncer en fumadores podría ser la siguiente: el hábito tabáquico pone en marcha un proceso inflamatorio en el pulmón, y el tabaco y la inflamación ocasionan un aumento en la expresión de la COX-2 que conlleva un aumento en la producción de PGE<sub>2</sub>, la cual, con su conocida capacidad para inducir la oncogénesis y en asociación con otros factores proneoplásicos, finalmente promueve el desarrollo del cáncer asentado sobre un pulmón inflamado.

Si esta hipótesis fuera cierta, cualquier terapia capaz de reducir la síntesis de PGE<sub>2</sub> debería tener un efecto preventivo en el desarrollo del cáncer bronquial. Estudios recientes han mostrado que dosis bajas de ácido acetilsalicílico previenen el desarrollo de varios cánceres, entre ellos el cáncer bronquial<sup>21,22</sup>. Dado que una de las acciones del ácido acetilsalicílico es inhibir las dos enzimas COX, reduciendo con ello de forma drástica la síntesis de PGE<sub>2</sub>, estas observaciones refuerzan la hipótesis que señala la vía de la COX como el nexo de unión entre la inflamación presente en la EPOC y la predisposición de estos pacientes a desarrollar neoplasias bronquiales.

Un dato llamativo de este estudio es el diferente grado de expresión de la COX-2 dependiendo del tipo histológico. La mayor abundancia de COX-2 en los adenocarcinomas respecto a los carcinomas escamosos ha sido descrita en estudios previos<sup>16,23</sup>. Dada la capacidad preventiva de dosis bajas de ácido acetilsalicílico para prevenir el desarrollo del cáncer, el hecho de que existan grandes diferencias en los niveles de COX-2 entre escamosos y adenocarcinomas plantea la necesidad de realizar estudios que permitan conocer si los efectos antineoplásicos del ácido acetilsalicílico están relacionados con la dosis empleada del fármaco, el tipo histológico del tumor y su relación con el grado de expresión de la COX-2. La mayoría de los estudios se han realizado en pacientes que recibían tratamiento con dosis bajas de ácido acetilsalicílico con finalidad preventiva de enfermedades cardiovasculares<sup>21</sup>. Cabe la posibilidad de que dosis más elevadas a las indicadas con la citada finalidad tuvieran una capacidad preventiva del cáncer mucho mayor, en particular en los adenocarcinomas, en los cuales, como demuestra este

y otros estudios, la expresión de la proteína de COX-2 está muy elevada.

Merece la pena resaltar que el grado de expresión de la COX puede tener valor pronóstico. Estudios previos han demostrado que la regulación al alza en la expresión de la COX-2 se asocia a una peor evolución del cáncer bronquial<sup>19,24,25</sup>. Por otro lado, la inhibición de la COX-2 puede tener efectos no solo preventivos sino también terapéuticos, hecho sustentado por los resultados de estudios que han observado que la inhibición de la COX-2 mediante el ácido acetilsalicílico o los inhibidores selectivos de la COX-2 (coxibs) mejora los resultados terapéuticos cuando se asocia a otras terapias antineoplásicas<sup>26,27</sup>.

En este estudio evaluamos el grado de expresión de la COX-2 en la mucosa bronquial próxima al tumor. Nuestra hipótesis establecía que debería existir una relación entre la inflamación presente en las vías áreas —con el consiguiente aumento de la producción de PGE<sub>2</sub> debido a un aumento en la expresión de la COX-2— y el desarrollo posterior del cáncer sobre esta zona inflamada. De acuerdo a la hipótesis, la mucosa bronquial debería ser la zona del pulmón con una mayor expresión de la COX-2. Sorprendentemente, la mayor expresión de la COX-2 la encontramos en el parénquima. Las razones que pueden explicar este hallazgo son por ahora desconocidas. No obstante, debe señalarse que no se pudo comparar el grado de expresión de la COX-2 en la mucosa bronquial de los pacientes EPOC con cáncer y los sujetos control, ya que se pudo disponer de muestras de parénquima de sujetos sin EPOC (afectados por neumotórax), pero, por razones obvias, no fue posible obtener muestras de tejido bronquial de estos mismos individuos. No obstante, estudios previos han demostrado que los niveles de expresión de la COX-2 guardan una relación directa con el grado de malignidad de las lesiones histológicas bronquiales<sup>28</sup>.

En síntesis, este estudio demuestra que la EPOC se caracteriza por mostrar un aumento en la actividad de la vía de la ciclooxigenasa, hecho que se asocia a un aumento en la expresión de la COX-2 en el tejido tumoral, en especial en el tejido de los adenocarcinomas. En conjunto, estos datos refuerzan la idea de que inflamación y cáncer pueden estar relacionados, y que en esta relación pueden desempeñar un papel relevante los mediadores lipídicos generados por la vía de la COX. La importancia que puede tener la inhibición de la COX-2 para prevenir y tratar el cáncer bronquial en los pacientes con EPOC merece ser evaluada en estudios prospectivos específicamente diseñados para conocer su impacto real.

## Agradecimientos

Este estudio se realizó con la ayuda de una beca de la Asociación Española Lucha contra el Cáncer.

## Bibliografía

- Ballaz S, Mulshine JL. The potential contributions of chronic inflammation to lung carcinogenesis. *Clin Lung Cancer*. 2003;5:46-62.
- Tockman MS, Anthonisen NR, Wright EC, Donithan MG. Airway obstruction and the risk for lung cancer. *Ann Intern Med*. 1987;106:512-8.
- Turner MC, Chen Y, Krewski D, Calle EE, Thum MJ. Chronic obstructive pulmonary disease is associated with lung cancer mortality in a prospective study of never smokers. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007;176:285-90.
- Young RP, Hopkins RJ, Christmas T, Black PN, Metcalf P, Gamble GD. COPD prevalence is increased in lung cancer independent of age, gender, and smoking history. *Eur Respir J*. 2009;34:380-6.
- Funk CD. Prostaglandin and leukotrienes: advances in eicosanoid biology. *Science*. 2001;294:1871-5.
- Wang MT, Honn KV, Nie D. Cyclooxygenases, prostanoids, and tumor progression. *Cancer Metast Rev*. 2007;26:525-34.
- Greenough A, Smart HJ, Moore AE, Roberts HR, Williams AC, Paraskeva C, et al. The COX-2/PGE2 pathway: key roles in the hallmarks of cancer and adaptation to the tumour microenvironment. *Carcinogenesis*. 2009;30:377-86.
- Xaubet A, Roca-Ferrer J, Pujols L, Ramírez J, Mullol J, Marin-Arguedas A, et al. Cyclooxygenase-2 is up-regulated in lung parenchyma of chronic obstructive pulmonary disease and down-regulated in idiopathic pulmonary fibrosis. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis*. 2004;21:35-42.
- Togo S, Holz O, Liu X, Sugiura H, Kamio K, Wang X, et al. Lung fibroblast repair functions in patients with chronic obstructive pulmonary disease are altered by multiple mechanisms. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008;178:248-60.
- Martey CA, Pollock SJ, Turner ChK, O'Reilly KMA, Baglolo CJ, Phipps RP, et al. Cigarette smoke induces cyclooxygenase-2 and microsomal prostaglandin E2 synthase in human lung fibroblasts: implications for lung inflammation and cancer. *Am J Physiol Cell Mol Physiol*. 2004;287:L9981.
- Profita M, Sala A, Bonanno A, Ricobono L, Ferraro M, La Grutta S, et al. Chronic obstructive pulmonary disease and neutrophil infiltration: role of cigarette smoke and cyclooxygenase products. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2010;298:L2261.
- Travis WD, Colby TV, Corrin B, Shimosato Y, Brambila E. *Histological Typing of Lung and Pleural Tumours*. 3.ª ed Berlín: Springer; 1999.
- Grupo cooperativo de carcinoma broncogénico de la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica. Diagnóstico y estadificación del carcinoma broncogénico. *Arch Bronconeumol*. 2001;37:495-503.
- Peces-Barba G, Barberà JA, Agustí A, Casanova C, Casas A, Izquierdo JL, et al. Guía clínica SEPAR-ALAT de diagnóstico y tratamiento de la EPOC. *Arch Bronconeumol*. 2008;44:271-81.
- Picado C, Fernandez-Morata JC, Juan M, Roca-Ferrer J, Fuentes M, Xaubet A, et al. J. Cyclooxygenase-2 mRNA is down-expressed in nasal polyps from aspirin-sensitive asthmatics. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999;160:291-6.
- Yoshimoto A, Kasahara K, Kawashima A, Fujimura M, Nakao S. Characterization of the prostaglandin biosynthetic pathway in non-small cell lung cancer: A comparison with small cell lung cancer and correlation with angiogenesis, angiogenic factors and metastases. *Oncol Rep*. 2005;13:1049-57.
- Yuan A, Yu CY, Shun CT, Luh KT, Kuo KT, Kuo SH, et al. Total cyclooxygenase-2 mRNA levels correlates with vascular endothelial growth factor mRNA levels, tumor angiogenesis and prognosis in non-small cell lung cancer patients. *Int J Cancer*. 2005;115:545-55.
- Roca-Ferrer J, Pujols L, Garner S, Moreno A, Pumarola F, Mullol J, et al. Upregulation of COX-1 and COX-2 in nasal polyps in cystic fibrosis. *Thorax*. 2006;61:592-6.
- Wallace JL, McNight W, Reuter BK. NSAID-induced gastric damage in rats: requirement for inhibition of both cyclooxygenases 1 and 2. *Gastroenterology*. 2000;119:706-14.
- Huang RY, Chen GG. Cigarette smoking, cyclooxygenase-2 pathway and cancer. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2011;1815:158-69.
- Rothwell PM, Fowkes GR, Belch JF, Warlow C, Meade T. Effect of daily aspirin on long-term risk of death due to cancer: analysis of individual patient data from randomised studies. *Lancet*. 2011;377:31-41.
- Harris RE, Beebe-Donk J, Alshafie GA. Reduced risk of human lung cancer by selective cyclooxygenase 2 (COX-2) blockade: Results of a case control disease. *Int J Biol Sci*. 2007;3:328-34.
- Wolff H, Saukkonen K, Anttila S, Karjalainen A, Vainio H, Ristimäki A. Expression of cyclooxygenase-2 in human lung carcinoma. *Cancer Res*. 1998;58:4997-5001.
- Laga AC, Zander DS, Cagle PT. Prognostic significance of cyclooxygenase 2 expression in 259 cases of non-small lung cancer. *Arch Pathol Lab Med*. 2005;129:1113-7.
- Okada F, KaAng Y, Chong-Jen Y, Chia-Tung S, Kwen-Tay L, Sow-Hsong K, et al. Total cyclooxygenase-2 mRNA levels correlate with vascular endothelial growth factor mRNA levels, tumor angiogenesis and prognosis in non-small cell lung cancer patients. *Int J Cancer*. 2005;115:545-55.
- Zhongxing L, Komaki R, Milas L, Yuan C, Kies M, Chang JY, et al. A phase I clinical trial of thoracic radiotherapy and concurrent celecoxib for patients with unfavourable performance status unoperable/unresectable non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2005;11:3342-8.
- Fontaine E, McShane J, Page R, Shackcloth M, Mediratta N, Carr M, et al. Aspirin and non-small cell lung cancer resections: effect on long-term survival. *Eur J Cardio-Thoracic Surgery*. 2010;38:21-6.
- Mascaux C, Martin B, Verdebout JM, Ninane V, Sculler JP. COX-2 expression during early lung squamous cell carcinoma oncogenesis. *Eur Respir J*. 2005;26:198-203.