



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**LA INFLAMACIÓN CRÓNICA COMO UN FACTOR
EN LA PATOGÉNESIS DEL CÁNCER**

SEMINARIO DE TITULACIÓN

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

P R E S E N T A:

MACARIO MARTÍNEZ CASTILLO



DIRECTOR DE TESIS:

Dr. EMILIO JOAQUÍN CÓRDOVA ALARCÓN

(2010)



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Hoja de Datos del Jurado

1. Datos del alumno. Apellido paterno Apellido materno Nombre(s) Teléfono Universidad Facultad o escuela Carrera No. de cuenta	1. Datos del alumno. Martínez Castillo Macario 58036377 Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Ciencias Biólogo 099000945
2. Datos del tutor. Grado Nombre(s) Apellido paterno Apellido materno	2. Datos del tutor. Dr. Emilio Joaquín Córdova Alarcón
3. Datos del sinodal 1 Grado Nombre(s) Apellido paterno Apellido materno	3. Datos del sinodal 1 Dra. Laura del Carmen Vargas Parada
4. Datos del sinodal 2 Grado Nombre(s) Apellido paterno Apellido materno	4. Datos del sinodal 2 Dr. Federico Centeno Cruz
5. Datos del sinodal 3 Grado Nombre(s) Apellido paterno Apellido materno	5. Datos del sinodal 3 Dra. Angélica Graciela Martínez Hernández
6. Datos del sinodal 4 Grado Nombre(s) Apellido paterno Apellido materno	6. Datos del sinodal 4 M. en C. José Hugo Aguilar Díaz
3. Datos de la tesis. Título: No. de páginas: Año:	3. Datos de la tesis La inflamación crónica como un factor en la patogénesis del cáncer 63 p. 2010

AGRADECIMIENTOS

Quiero externar un profundo agradecimiento a los miembros del jurado por apoyarme en la revisión de este trabajo, mediante sus valiosos comentarios y sugerencias oportunas.

Dra. Laura del Carmen Vargas Parada

Dr. Federico Centeno Cruz

Dr. Emilio Joaquín Córdova Alarcón

Dra. Angélica Graciela Martínez Hernández

M. en C. José Hugo Aguilar Díaz

Particularmente quisiera agradecer al Dr. Emilio Joaquín Córdova Alarcón, por aceptar ser mi tutor, por confiar en mí, por su gran apoyo, paciencia y excelente trato, que fueron determinantes para poder concluir este trabajo. Muchas gracias Maestro, por la oportunidad y por toda la ayuda.

I. ÍNDICE

II. RESUMEN	4
1. INTRODUCCIÓN	5
2. JUSTIFICACIÓN	7
3. OBJETIVO GENERAL	7
4. OBJETIVOS PARTICULARES	7
5. RELEVANCIA DEL TRABAJO	8
6. MARCO TEÓRICO	9-55

6.1. CAPÍTULO I. CÁNCER

6.1.1. Definición del cáncer	9
6.1.2. Tipos de carcinógenos	9
6.1.3. Etapas de la carcinogénesis	10
6.1.4. Biología molecular del cáncer	11
6.1.4.1. Oncogenes	12
6.1.4.2. Genes supresores de tumores.....	12
6.1.5. Características de la célula tumoral	13
6.1.5.1. Capacidad proliferativa	14
6.1.5.2. Evasión de la apoptosis	15
6.1.5.3. Potencial replicativo ilimitado	17
6.1.5.4. Angiogénesis	18
6.1.5.5. Metástasis	20

6.2. CAPÍTULO II. INFLAMACIÓN

6.2.1. Perspectiva histórica de la inflamación.....	22
6.2.2. Causas de la inflamación	22
6.2.3. Tipos de inflamación	22

6.2.3.1. Inflamación aguda	23
6.2.3.2 Inflamación crónica	24
6.2. 4. Vías de señalización involucradas en inflamación	24
6.2.4.1. Factor de necrosis tumoral alfa	25
6.2.4.2. Ciclooxygenasa-2	27
6.2.4.3. Óxido nítrico sintasa inducible	28

6.3. CAPÍTULO III. PADECIMIENTOS INFLAMATORIOS ASOCIADOS A CÁNCER

6.3.1. Generalidades	30
6.3.2. Modelos animales inflamación y cáncer.....	30
6.3.3. Enfermedades genéticas, inflamación y cáncer	31
6.3.3.1 Enfermedad inflamatoria del intestino (IBD)	31
6.3.3.2 Colangitis esclerosa primaria	31
6.3.4. Irritación química y mecánica, inflamación y cáncer	32
6.3.4.1. Esófago de Barret	32
6.3.4.2. Pancreatitis	32
6.3.4.3. Silicosis y asbestosis	33
6.3.5. Enfermedades infecciosas, inflamación y cáncer	34
6.3.5.1. Gastritis	34
6.3.5.2. Hepatitis	35
6.3.5.3. Inflamación crónica causada por infecciones helmínticas	35

6.4. CAPÍTULO IV. COMPONENTES MOLECULARES INFLAMATORIOS ALTERADOS EN CÁNCER

6.4.1. Generalidades	38
6.4.2. Elevada producción de Especies Reactivas de Oxígeno y Nitrógeno	38
6.4.3. Factor nuclear kappa B	39
6.4.4. Ciclooxygenasa-2	40
6.4.5. Óxido nítrico sintasa inducible	42

6.5. CAPÍTULO V. LA RUTA NRF2-KEAP1 Y SU PARTICIPACIÓN EN LA INFLAMACIÓN Y LA PATOGÉNESIS DEL CÁNCER	
6.5.1. Introducción	45
6.5.2. La ruta Nrf2-Keap1	45
6.5.3. Activación de Nrf2	46
6.5.4. Genes regulados por Nrf2	48
6.5.5. Nrf2 y cáncer	49
6.5.6. Nrf2 e inflamación	50
7. DISCUSIÓN	52
8. CONCLUSIONES	56
9. LISTA DE ABREVIATURAS	57
10. REFERENCIAS	58

II. RESUMEN

Este trabajo constituye una revisión documental de los mecanismos moleculares que regulan la inflamación crónica y son importantes en la patogénesis del cáncer. La inflamación es el proceso fisiológico de un organismo por medio del cual el tejido responde a un agente irritante o infeccioso, desencadenando en condiciones normales un proceso en el cual células y mediadores trabajan conjuntamente con el propósito de detener o eliminar el agente causal de la agresión; sin embargo, cuando no se puede conseguir este objetivo la respuesta inflamatoria se mantiene por un periodo prolongado de forma crónica. Dicho estado favorece un microambiente rico en radicales libres y caracterizado por vías de señalización desreguladas que alteran la homeostasis celular y contribuyen al desarrollo de diferentes patologías, incluido el cáncer.

Dada la relación existente entre la inflamación crónica y el cáncer, se ha evaluado el potencial de diferentes vías de señalización, comunes a ambos procesos, como blancos preventivos o terapéuticos; sin embargo, su uso no se encuentra tan ampliamente extendido debido a sus efectos adversos asociados. La revisión documental permitió identificar otras rutas importantes en el control de procesos desregulados en la inflamación y asociadas a la carcinogénesis, como la de Nrf2. A partir de esta información será posible llevar a cabo un análisis experimental para determinar su potencial quimiopreventor y terapéutico en el contexto de distintas neoplasias asociadas a procesos inflamatorios crónicos.

5. INTRODUCCIÓN

La inflamación es un proceso fisiológico ampliamente coordinado de la inmunidad innata y adaptativa en respuesta a una infección o daño tisular, de naturaleza endógena o exógena, que permite reestablecer la homeostasis celular [1].

El proceso inflamatorio, inicialmente involucra el reclutamiento de un amplio rango de células inmunes y la liberación de varios mediadores al sitio dañado, entre ellos, citocinas pro-inflamatorias. Ambos eventos se llevan a cabo de una manera ordenada, evolucionando a través de una fase de activación, mantenimiento y resolución de la cascada inflamatoria. Sin embargo, como consecuencia de una incapacidad para eliminar los inductores de daño, generalmente, se suele establecer un estado de inflamación crónica que se caracteriza por ciclos constantes y sostenidos de daño tisular y de proliferación compensatoria. Estos procesos, en conjunción con un aporte constante de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, citocinas, quimiocinas y factores de crecimiento, pueden alterar los procesos biológicos responsables de mantener la homeostasis celular, generando un estado de inestabilidad genética, que puede ser clave para el desarrollo de procesos carcinogénicos [1].

En general, los pacientes con enfermedades inflamatorias crónicas tienen un riesgo elevado de desarrollar cáncer. De hecho, se estima que las infecciones crónicas y la inflamación contribuyen a aproximadamente el 25% de todos los cánceres a nivel mundial [2].

De esta forma, diferentes estudios epidemiológicos han demostrado una asociación entre la inflamación crónica y varios tipos de cáncer. Por ejemplo, infecciones con *Helicobacter pylori*, virus de la hepatitis B y C, *Clonorchis sinensis* y *Schistosoma haematobium*, cuyos cuadros clínicos involucran etapas de inflamación crónica, predisponen al desarrollo de cáncer gástrico, hepatocarcinoma, colangiocarcinoma y cáncer de vejiga, respectivamente. De forma análoga, enfermedades inflamatorias causadas por irritación química como el esófago de Barrett y pancreatitis o por irritación mecánica como la asbestosis se asocian con un mayor riesgo de desarrollar cáncer de esófago, pancreático y mesotelioma, respectivamente [2].

Paralelamente a nivel molecular, el proceso inflamatorio *per se* involucra una compleja red de señalización inducida por citocinas, quimiocinas y mediadores inflamatorios lo cuales activan diferentes receptores, factores de transcripción y enzimas

pro-inflamatorias, que son capaces de regular una serie de procesos como la proliferación, arresto, muerte celular, la neovascularización y la invasión celular. La alteración o desregulación prolongada de estos procesos es clave para la evolución tumoral ya que cada uno de ellos, constituye una etapa limitante en la carcinogénesis [3].

La identificación de alteraciones específicas en componentes moleculares críticos y las vías de interacción que determinan el mantenimiento de un proceso inflamatorio crónico, pueden proporcionar los blancos moleculares convenientes para su evaluación desde la perspectiva terapéutica.

1. JUSTIFICACIÓN

El cáncer es una de las enfermedades más importantes a nivel mundial, siendo la principal causa de mortalidad al atribuírsele 7.9 millones de defunciones ocurridas en 2007. La Organización Mundial de la Salud estima que alrededor de 84 millones de personas morirán a causa de esta enfermedad entre 2005 y 2015 [4]. En el ámbito nacional en 2007, el cáncer representó la tercera causa de muerte entre las mujeres y la cuarta entre los varones [5].

La inflamación es una respuesta celular adaptativa a diversos tipos de daño tisular e infecciones cuya evolución regulada permite re-establecer la homeostasis celular; sin embargo, su desregulación se asocia al establecimiento de un microambiente patogénico que favorece el desarrollo tumoral. Diversos datos epidemiológicos han mostrado una relación causal entre la inflamación crónica y el desarrollo del cáncer [2], sin embargo, a nivel molecular los mecanismos o vías de señalización comunes a ambos procesos, se conocen en menor medida.

Es por ello que, la revisión y el análisis documental de los mecanismos moleculares a través de las cuales la inflamación crónica participa en la carcinogénesis, permitirá profundizar en el conocimiento de mediadores moleculares que se puedan evaluar como blancos terapéuticos para el tratamiento de tumores secundarios a padecimientos inflamatorios.

2. OBJETIVO GENERAL

Revisión y análisis documental sobre la evidencia molecular que relaciona a los procesos inflamatorios con el desarrollo de cáncer

3. OBJETIVOS PARTICULARES

- a) Describir los mecanismos moleculares y de señalización que participan en la regulación de la inflamación crónica.

- b) Determinar y describir aquellos mecanismos de la inflamación crónica que estén asociados con el proceso carcinogénico.

4. RELEVANCIA DEL TRABAJO

La identificación de los componentes moleculares y vías de señalización del proceso inflamatorio crónico, que participan en la evolución neoplásica, permitiría sentar las bases teóricas para el posterior desarrollo de diseños experimentales donde se valide la factibilidad de su uso, como blancos preventivos o terapéuticos para el tratamiento del cáncer.

6. MARCO TEÓRICO

6.1. CAPÍTULO I.

CÁNCER

6.1.1. Definición del cáncer

El cáncer se puede definir como un conjunto de enfermedades de origen multifactorial, caracterizadas por un crecimiento celular exacerbado y la capacidad de invasión y crecimiento en órganos distantes [3]. Es la principal causa de mortalidad a nivel mundial, atribuyéndosele 7,9 millones de defunciones (~13% de las defunciones mundiales), tan sólo en el 2007. Los principales tipos de cáncer con mayor mortalidad anual son: pulmón (1,4 millones de defunciones), estómago (866 000 defunciones), hígado (653 000 defunciones), colon (677 000 defunciones) y mama (548 999 defunciones) [4].

En México, durante el 2007, los tumores malignos ocuparon el tercer lugar entre las principales causas de muerte del país con 68 815 casos (13.4%), solamente por debajo de los decesos atribuibles a enfermedades del sistema circulatorio y enfermedades endócrinas, nutricionales y metabólicas. Considerando el género, se constituyó en la tercera causa de muerte entre las mujeres con 35 303 defunciones (15.4%); en el caso de los hombres, fue la cuarta causa con 33 509 muertes, representando el 11.8% del total de defunciones entre los varones [5].

6.1.2. Tipos de carcinógenos

El cáncer es un proceso monoclonal, cuyo desarrollo presenta diversas etapas caracterizadas por la adquisición de alteraciones genéticas y epigenéticas. Dichas alteraciones son inducidas por factores exógenos, principalmente de 3 tipos: a) carcinógenos físicos, b) carcinógenos químicos y c) carcinógenos biológicos. Los carcinógenos físicos (p. ej. luz ultravioleta, radiación ionizante, microondas, ondas de radio); causan rompimientos en cadena sencilla y doble del DNA, además favorecen la formación de dímeros de pirimidina y de transversiones G →T [6].

Los carcinógenos químicos, pueden ser genotóxicos o no genotóxicos. Los primeros son potentes mutágenos, capaces de causar malos apareamientos de bases, pequeñas deleciones o incluso rupturas y translocaciones cromosómicas. Por lo tanto, la participación de los químicos genotóxicos en el desarrollo del cáncer es principalmente

a través de la generación de mutaciones. Por otra parte, los *carcinógenos químicos no genotóxicos*, no interactúan con el DNA pero pueden modificar lípidos y proteínas, así como inducir la generación directa o indirecta de especies reactivas de oxígeno. A través de estas distintas acciones los compuestos no genotóxicos pueden estimular la proliferación celular, afectar los sistemas de reparación del DNA, inducir estados de inmunosupresión, cambios epigenéticos en la expresión de genes y la pérdida de uniones intracelulares promoviendo la expansión clonal de una célula alterada [7, 8].

Dependiendo de su mecanismo de acción, los carcinógenos químicos genotóxicos se clasifican en directos e indirectos. Los *carcinógenos químicos genotóxicos directos*, son compuestos electrofílicos, con una elevada reactividad química (dimetanosulfoxidobutano y *N*-estearoiletlenimina). Este tipo de carcinógenos tras absorberse a nivel intracelular, son capaces de interactuar directamente con componentes nucleofílicos del DNA, RNA y proteínas. Los *carcinógenos químicos genotóxicos indirectos* incluyen compuestos (como el 7,12-dimetilbenz[*a*]antraceno, la dimetilnitrosamina o el etilcarbamato) que deben ser metabolizados por el huésped para dar productos intermedios reactivos, capaces de interactuar con el DNA [9].

Los carcinógenos biológicos se pueden dividir en exógenos y endógenos. Los primeros hacen alusión principalmente a patógenos como virus (HPV, HBV), bacterias (*Helicobacter pylori*) y helmintos (*Schistosoma*, *Ophistorchis*, *Chlonorchis*). Estos patógenos favorecen la evolución neoplásica de forma directa, a través de la inserción y expresión de su material genético o indirectamente, vía la inducción de micro-ambientes promotores de proliferación, como la inflamación crónica. Por otra parte, los factores biológicos endógenos incluyen alteraciones del sistema inmune, composición genética, herencia, edad, balance endócrino y patologías inflamatorias crónicas de naturaleza no infecciosa (colitis ulcerativa, pancreatitis) [7].

6.1.3. Etapas de la carcinogénesis

Los estudios iniciales de carcinogénesis química en animales mostraron que algunos compuestos eran capaces de inducir cáncer por sí mismos; sin embargo, otros necesitaban de la aplicación de compuestos auxiliares para permitir el desarrollo tumoral. Estos análisis, junto con los estudios de la patogénesis tumoral en humanos, han permitido considerar a la carcinogénesis, como un proceso que se desarrolla a través de diferentes etapas con distintas características fenotípicas, genéticas y bioquímicas. Estas etapas se designan como: *iniciación*, *promoción* y *progresión* [10].

La *iniciación* es un evento de mutación de baja frecuencia y depende directamente de la dosis del carcinógeno. Los agentes iniciadores son por definición compuestos genotóxicos, que al inducir mutaciones proporcionan alguna ventaja selectiva de crecimiento a la célula afectada. El proceso de expansión clonal de las células *iniciadas*, a través de la estimulación de su proliferación se conoce como *promoción* tumoral. Los compuestos promotores no interactúan directamente con el DNA, en lugar de ello, actúan estimulando la proliferación de las clonas iniciadas. Adicionalmente, también pueden alterar los patrones de expresión, vía mecanismos epigenéticos. El efecto de los agentes promotores en la evolución neoplásica puede ser reversible y requiere de un periodo largo de exposición ya que al no actuar directamente sobre el DNA, su efecto final depende del período de tiempo en el que actúen estimulando la proliferación hasta que se produzca una mutación heredable, importante para la transformación neoplásica [11].

Finalmente, la *progresión tumoral* involucra la adquisición del carácter maligno por parte de la clona celular. Esta etapa irreversible se caracteriza por una elevada inestabilidad genética y cambios en las características morfológicas, bioquímicas y metabólicas de las células tumorales. Entre los cambios más importantes se encuentran el incremento en la tasa de proliferación, disminución de la muerte celular, invasión a tejidos adyacentes y diseminación a órganos distantes (metástasis), (Fig.1) [9].

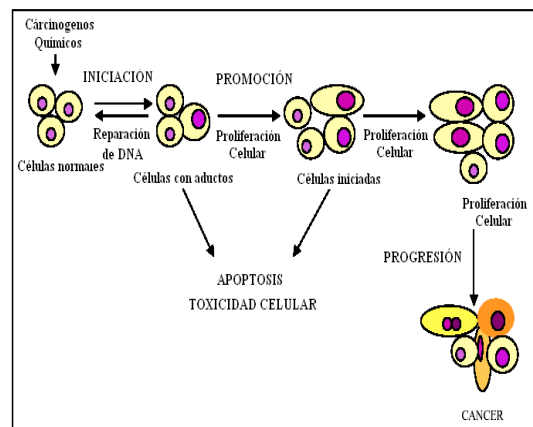


Figura 1. Etapas de la carcinogénesis. Las mutaciones inducidas en la etapa de iniciación se pueden mantener en el linaje celular, como resultado de una mayor proliferación asociada a la etapa de promoción y su herencia a la progenie, durante la progresión neoplásica [12]

6.1.4. Biología molecular del cáncer

El evento fundamental en la génesis del cáncer es la presencia de alteraciones genéticas y epigenéticas en dos grandes grupos génicos: oncogenes y genes supresores de tumores. Ambos grupos se encuentran involucrados en el control del crecimiento, diferenciación y muerte celular, por lo que su desregulación contribuye a la carcinogénesis [3].

6.1.4.1. Oncogenes

Los oncogenes se definen como la versión mutada de genes celulares (protooncogenes) que en condiciones normales participan en la regulación positiva de la homeostasis celular. Durante la evolución neoplásica los protooncogenes adquieren mutaciones y como resultado de ello, se incrementan los niveles o actividad de su producto proteico. La mutación de un oncogen tiene un efecto dominante dado que es suficiente alterar una de las dos copias génicas presentes en cada célula, para observar el fenotipo asociado (una ganancia de función) [13].

Los mecanismos inductores de la activación oncogénica contemplan: mutaciones puntuales en regiones codificantes o regulatorias, translocaciones cromosómicas, amplificaciones génicas e inserciones virales. Algunos ejemplos incluyen: mutaciones puntuales en la región codificante de *ras*, la amplificación de *myc* y la generación del gen quimérico *Bcr/Abl* a través de la translocación recíproca entre los cromosomas 9 y 22 [13, 14].

6.1.4.2. Genes supresores de tumores

Los supresores de tumores son genes que controlan negativamente la homeostasis celular y cuya inactivación contribuye al desarrollo de una neoplasia. Ante la pérdida de función de una de las dos copias de los supresores de tumor, el gen es capaz de realizar su función normal, por lo cual, la alteración de los supresores de tumores se considera de naturaleza recesiva. De esta forma, la expresión fenotípica del supresor de tumores se presenta solamente, cuando las dos copias del gen están alteradas. Algunos de los supresores de tumor más importantes incluyen: p53, Rb, p21, p16, APC, BRCA 1, 2 [13, 15]

El mecanismo clásico de inactivación de los genes supresores de tumor, corresponde al “*modelo de dos golpes*” basado en el trabajo de Alfred Knudson (1971) acerca de la herencia del Retinoblastoma (Rb), un tipo de tumor infantil de retina [16].

La hipótesis de Knudson, propone que se requieren dos eventos mutacionales separados para inactivar los dos alelos de un gen supresor de tumor y silenciar su expresión. Así, la mutación de un sólo alelo de un supresor de tumor no es suficiente para inhibir su actividad, siendo necesario para ello la pérdida de la heterocigocidad (LOH, del inglés, *loss of heterozygosity*) del gen [13].

De manera general, la pérdida de función de los supresores de tumor se debe a diversos mecanismo como: 1) mutaciones que generen proteínas truncadas o cambios

del marco de lectura; 2) deleciones génicas o cromosómicas, 3) silenciamiento transcripcional a través de la metilación de sus promotores, 4) inhibición de la función de sus productos proteicos a través de su interacción con proteínas virales [17].

La pérdida de heterocigocidad no es indispensable en todos los casos para la inactivación de un supresor tumoral debido a la haploinsuficiencia. La anterior es una condición donde la presencia de un solo alelo funcional de un gen supresor tumoral no es suficiente para llevar a cabo su función celular. La haploinsuficiencia puede ser resultado de varios mecanismos: 1) los niveles proteicos producidos por el alelo activo del supresor de tumor, son insuficientes para llevar a cabo su función; 2) el gen alterado produce una proteína dominante negativa, que bloquea la actividad de las formas proteicas silvestres o 3) se produce el silenciamiento transcripcional del alelo silvestre del supresor de tumor como resultado de eventos epistáticos o epigenéticos [18].

Independientemente, del mecanismo de inactivación; los supresores de tumores se suelen clasificar, en tres grupos principales:

(1) *gatekeeper*: cuya pérdida de función participa de manera activa en la progresión neoplásica al regular principalmente procesos de proliferación y apoptosis, por ejemplo, p53 y Rb; (2) *caretaker*: actúan indirectamente para suprimir el crecimiento tumoral al codificar componentes de los sistemas de fidelidad de la replicación y reparación del DNA, previniendo la inestabilidad genética. Son ejemplos HNPCC, MSH2 y MLH1; (3) *landscaper*: modulan el microambiente tumoral, a través de la regulación de las proteínas de matriz extracelular, los marcadores de superficie, las proteínas de adhesión y factores de crecimiento y sobrevivencia celular. Por ejemplo PTEN, un regulador negativo de la cinasa PI3K [15].

6.1.5. Características de la célula tumoral

El amplio catálogo de genotipos, producto de la alteración y desregulación de oncogenes y genes supresores de tumores, se manifiesta en seis alteraciones esenciales de la fisiología celular y determinantes en el crecimiento tumoral: 1) autonomía de señales de crecimiento; 2) evasión de las señales inhibitorias de crecimiento, 3) potencial replicativo ilimitado; 4) evasión de la apoptosis; 5) angiogénesis e 6) invasión y metastásis [19]. Cada una de las anteriores se describirán a continuación, con mayor profundidad.

6.1.5.1. Capacidad proliferativa: autonomía de señales de crecimiento y evasión de las señales inhibitorias de crecimiento

El ciclo celular es un conjunto ordenado de eventos que sincronizan la replicación del DNA con la división celular y es el eje central de la proliferación. El ciclo celular se conforma por 4 etapas básicas: G₁, S, G₂ y M. La progresión a través de cada una de estas fases está estrictamente controlada por el estado de activación de un grupo de cinasas de serina/treonina dependientes de ciclinas (CDKs, del inglés, *cyclin dependent kinases*). Las CDKs forman complejos heterodiméricos funcionales específicos, con sus subunidades regulatorias las ciclinas (A, B, D, E), a través de las diferentes etapas del ciclo celular (Fig. 2) [19].

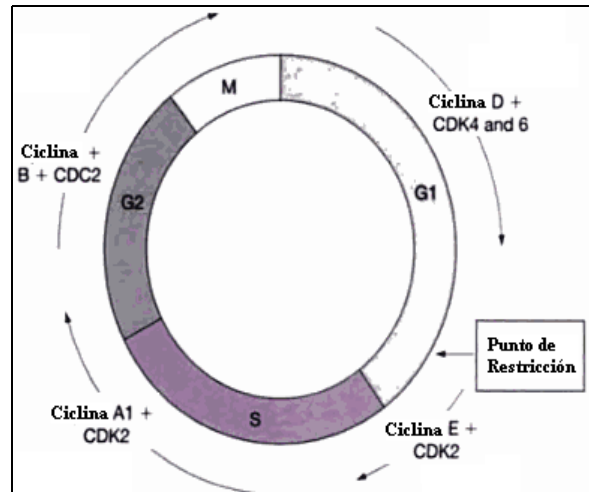


Figura 2. Etapas del ciclo celular. Se encuentra conformado por 4 fases: Mitosis (M), Gap1(G1), Gap2 (G2) y la etapa de síntesis del DNA (S) [20]

La principal función de los complejos ciclina/CDK es la fosforilación e inactivación de la proteína Retinoblastoma (Rb) y otras proteínas de la misma familia, como p107 y p130. En ausencia de mitógenos, Rb se encuentra hipofosforilada e interacciona con la familia de factores de transcripción E2F, evitando su translocación nuclear. Sin embargo, en presencia de mitógenos, se estimula la expresión de las ciclinas, favoreciendo el ensamblaje de complejos ciclinas/Cdks específicos, que catalizan la hiperfosforilación de Rb. Dicha modificación, altera la estructura conformacional de Rb y permite la liberación del complejo E2F/DP-1 y su translocación al núcleo. De esta forma, una vez activo,

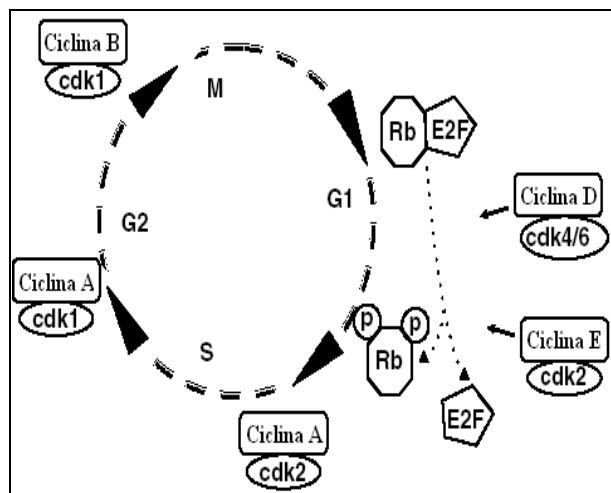


Figura 3. Hiperfosforilación de Rb por los complejos Ciclinas/Cdks. Rb y Rb-p representan las formas fosforiladas y no fosforiladas de la proteína retinoblastoma. En G₀ y G₁ temprana, Rb se asocia físicamente con los factores E2F y bloquea su dominio de transactivación. En la fase de G₁ tardía, Rb-p libera a E2F permitiendo la expresión de genes que codifican productos necesarios para la progresión en la fase S [21]

E2F/DP-1, regula la expresión de genes importantes para la progresión del ciclo celular, como: Cdk4, ciclina A, D y E, PCNA, DNA pol α y c-myc, (Fig. 3) [21].

La actividad de los complejos ciclinas/CDKs se encuentra finamente regulada por diversos mecanismos, uno de los principales, incluye su asociación a un grupo de inhibidores de CDKs (CKIs, del inglés *CDK inhibitors*). Los CKIs se agrupan en dos diferentes clases: la familia CIP/KIP (p21^{WAF1}, p27^{KIP1} y p57^{KIP2}), capaces de inhibir a todas las CDKs y la familia INK4 (p15, p16, p18 y p19), las cuales, solo inhiben a CDK4 y CDK6 [19].

Muchos oncogenes actúan controlando las señales normales de crecimiento por lo cual las células tumorales adquieren autonomía en la regulación de su proliferación. Este proceso ocurre mediante tres posibles estrategias: producción descontrolada de factores de crecimiento, sobre-expresión de receptores membranales y la activación de diferentes componentes de las distintas cascadas de señalización intracelular. De esta forma, diferentes tipos tumorales exhiben una elevada producción de factores de crecimiento como el Factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF), receptores como EGFR, mediadores intracelulares de señalización tipo Ras, Raf y alteraciones en los componentes del ciclo celular, como la sobre-expresión de ciclinas, D, E, A y de diferentes Cdk's [22, 23]. De manera complementaria, los tumores son capaces de evadir las señales inhibitorias de crecimiento a través de la mutación de reguladores claves. Por ejemplo, es común en distintos tipos tumorales la delección de Rb. Lo anterior permite la progresión a través del ciclo celular a pesar de la presencia de señales inhibitorias, como la actividad de p53, que regula la expresión del CKI, p21 y en consecuencia evita, la activación de Rb.

Una repercusión funcional análoga es producto del silenciamiento de CKIs, principalmente p15 y p16, lo cual permite la activación constitutiva de algunos de sus blancos como la ciclina D/Cdk 4 y 6. Con ello, nuevamente se favorece la hiperfosforilación e inactivación de Rb, activándose el programa transcripcional regulado por E2F y la inducción de un estado de hiperproliferación [23].

6.1.5.2. Evasión de la apoptosis.

La apoptosis es un tipo de muerte celular programada, con una ejecución ordenada y regulada que evita la inducción de eventos de inflamación y daño tisular. En su ejecución son determinantes las caspasas, un grupo de cisteín proteasas sintetizadas como zimógenos y cuya activación ocurre por procesamiento proteolítico por otras

caspasas iniciadoras. Una vez activas, las caspasas, pueden escindir y activar otras procaspasas, generando una cascada proteolítica amplificadora capaz de degradar sustratos intracelulares como proteínas del citoesqueleto (actina, β -catenina), proteínas nucleares (láminas nucleares, histonas) y proteínas reguladoras (FAK, PKC, PLA, Bcl-xL, Bcl-2). De esta forma la célula se desmantela de una manera rápida y limpia, sin producir daño a los tejidos circundantes [24].

Existen dos vías principales para la ejecución del proceso apoptótico: la *vía extrínseca* y la *vía intrínseca*. La *vía extrínseca* está mediada por receptores transmembranales de muerte celular (CD95, TNFR), que al ser activados inducen el ensamblaje de un complejo de señalización inductor de muerte (DISC, del inglés *death inductor signaling complex*). Este complejo activa a la procaspasa-8 y subsecuentemente, a toda una cascada de procaspasas efectoras. Por otro lado, la *vía intrínseca* es activada por diferentes estímulos intracelulares y extracelulares (ausencia de factores de crecimiento, hipoxia, daño al DNA, sobreexpresión de oncogenes) que inducen una disminución en el nivel de las proteínas antiapoptóticas de la familia *Bcl-2* y un aumento de las proapoptóticas de la familia *Bax*. Como resultado del aumento de los mediadores proapoptóticos, la membrana mitocondrial pierde su permeabilidad, favoreciendo la liberación del *citocromo c*, la nucleasa *EndoG* y del factor inductor de la apoptosis (AIF, del inglés, *Apoptosis Inducing Factor*). El *citocromo c* tiene la capacidad de unirse a la proteína adaptadora Apaf-1, y a la procaspasa-9 conformando un complejo de señalización conocido como *Apoptosoma*. Dicho complejo, activa a la procaspasa-9 que activa a otras caspasas efectoras. Posteriormente, en una segunda etapa, si el inductor apoptótico permanece se induce la liberación de la proteína SMAC/DIABLO, la cual se une e inactiva a proteínas inhibitorias de las caspasas como las IAPs (del inglés, *inhibitory apoptosis proteins*), permitiendo la ejecución eficiente de la apoptosis, (Fig. 4) [25].

Una de las principales estrategias antiapoptóticas frecuentemente seleccionadas en la mayoría de los tumores es la inactivación de p53. La pérdida de este supresor de tumores se presenta en aproximadamente el 60% de los cánceres humanos como resultado de mutaciones o de su pérdida de heterocigocidad. Lo anterior significa una importante ventaja de crecimiento para el tumor, ya que en condiciones normales p53 tiene una función claramente proapoptótica, al regular transcripcionalmente de forma positiva, proteínas como *Bax* y *Puma* y de forma negativa, proteínas antiapoptóticas como *Bcl-2* [26].

Otros mecanismos antiapoptóticos seleccionados en el tumor incluyen la amplificación de *Bcl-2* y la activación de la vía de sobrevivencia de PI3K→Akt/PKB. Esta última ruta de señalización es capaz de fosforilar e inhibir a proteínas como Bad, caspasa-9, IκB (inhibidor de una ruta de sobrevivencia) y el factor de transcripción Forkhead, un regulador de genes proapoptóticos [14].

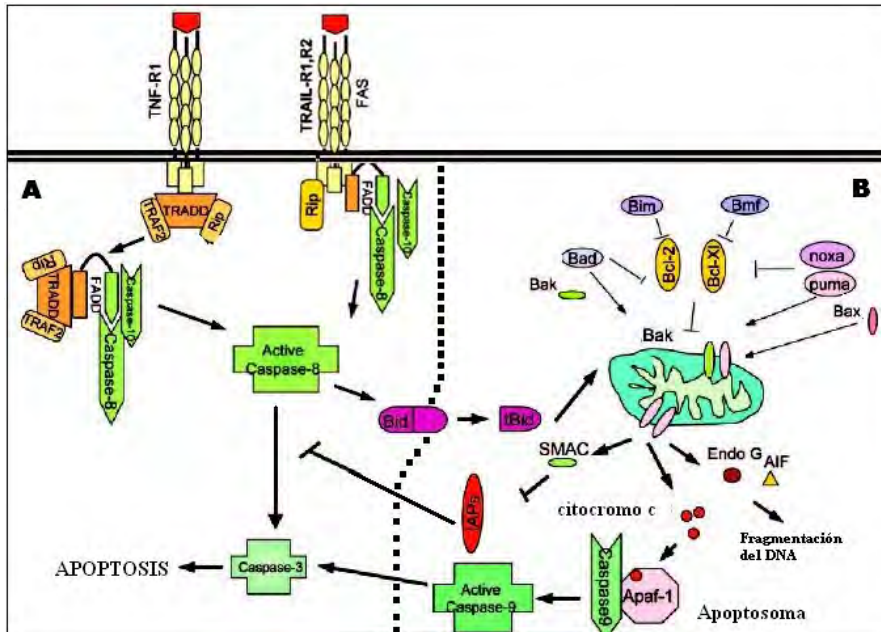


Figura 4. Representación esquemática de las dos vías apoptóticas. A) Vía extrínseca apoptótica mediada por receptores como TNF, TRAIL y FAS; B) Vía intrínseca apoptótica, mediada por la mitocondria, donde es fundamental la liberación del citocromo c y la conformación del apoptosoma [26].

6.1.5.3. Potencial replicativo ilimitado

La proliferación exacerbada y evasión de la apoptosis de las células pre-tumorales produce un rápido acortamiento de los telómeros (estructuras especializadas que contienen los cromosomas eucarióticos en sus extremos), debido a la elevada tasa de duplicación celular, lo cual activa un mecanismo intrínseco de la célula llamado senescencia. La senescencia o tiempo de vida definido de una célula, puede ser de dos tipos: replicativa o inducida por estrés.

La senescencia replicativa está definida por el tamaño de los telómeros, que se conforman por un arreglo repetitivo de secuencias hexaméricas TTAGGG, cuya longitud al nacer, alcanza hasta 15 kb. La longitud de los telómeros se mantiene en células germinales gracias a la enzima telomerasa; cuya función es la de adicionar repeticiones de hexanucleótidos a los extremos de los cromosomas. Sin embargo, en las células somáticas adultas esta enzima deja de expresarse y en condiciones normales, con cada ciclo de división, una célula somática, pierde cerca de 50-200 pb del DNA

telomérico, de tal manera que cuando los telómeros se acortan a un promedio de dimensión de 4-6 Kb, las células humanas arrestan irreversiblemente la proliferación, entrando en senescencia [27]. Los extremos cromosómicos no protegidos producidos por el acortamiento telomérico son reconocidos como rupturas de doble cadena por las cinasas ATM/ATR y Chk1/Chk2, que fosforilan, estabilizan y activan a p53. A su vez, este supresor de tumor induce la expresión de p21 favoreciendo el arresto del ciclo celular [28].

Por otra parte, la senescencia inducida por estrés se debe a la sobre-expresión de oncogenes. Dicha alteración, conduce a un estado de excesiva proliferación y de desregulación homeostática favoreciendo un microambiente oxidante. A nivel molecular en respuesta a esta desregulación de los oncogenes, se induce la expresión de p19^{ARF}, una proteína que secuestra en el nucleolo a la proteína Mdm2, un inhibidor de p53, que induce su ubiquitinación. En consecuencia p19^{ARF} favorece la estabilidad de p53 y con ello, la transcripción de p21 y el arresto del ciclo celular [29]. Por otro lado, en respuesta al estrés oxidativo se estimula la expresión de p16, permitiendo la inactivación de los complejos ciclina D/CDK 4, 6 y en consecuencia la hipofosforilación de Rb, el secuestro de E2F/DP-1 y el arresto estable en la fase G1 de las células senescentes (Fig. 5) [30].

Cerca del 90% de los tumores evade el primer tipo de senescencia, mediante la reexpresión del gen de la telomerasa (*hTERT*); en tanto la inactivación de p53, p16 y p21; permite la evasión del segundo mecanismo senescente [31].

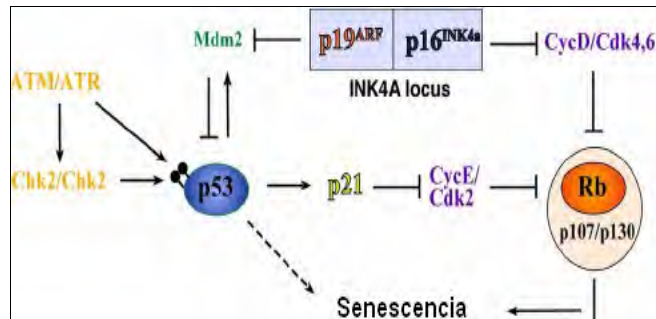


Figura 5. Vías de señalización inductoras de senescencia. La actividad de p19^{ARF} es determinante para estabilizar a p53 que favorece la transcripción de p21, que junto con la actividad de otros CKIs, como p16, permiten la hipofosforilación de Rb y el arresto estable del ciclo celular [32].

6.1.5.4. Angiogénesis

Para que la mayoría de los tumores *in situ* sean capaces de aumentar su volumen, convertirse en invasivos y eventualmente en metastásicos, se requiere la formación de una nueva red vascular a partir de vasos preexistentes en el huésped, un proceso conocido como angiogénesis [33].

La angiogénesis permite continuar el crecimiento de tumores con un volumen mayor a 1–2 mm³. Hasta este tamaño las células tumorales son capaces de obtener el

oxígeno y los nutrientes necesarios por simple difusión pasiva, desde los vasos preexistentes ubicados a un máximo de 150 μm de distancia. Sin embargo, de permanecer en estas condiciones, el tumor no podría crecer más allá de ese volumen, por ello para incrementarlo induce la formación de nuevos vasos sanguíneos que permitan abastecer sus crecientes requerimientos nutricionales y metabólicos [33].

La angiogénesis es resultado de la regulación y el equilibrio dinámico establecido entre una amplia serie de factores inductores y represores del proceso de vascularización. Varios factores proangiogénicos (VEGF, FGFb, EGF) conocidos por activar el crecimiento, migración y la diferenciación de células endoteliales hacia estructuras tubulares; frecuentemente se encuentran sobreexpresados en los tumores.

Complementariamente, un número importante de represores o moléculas antiangiogénicas (endostatina, angiostatina e inhibidores tisulares de metaloproteinasas), pierden su función en el desarrollo neoplásico [34].

Un inductor determinante de la angiogénesis son los bajos niveles de oxígeno (hipoxia) que se producen como resultado del mayor crecimiento tumoral. Estas condiciones favorecen la activación del factor de transcripción inducible por hipoxia (HIF, del inglés, *hypoxia inducible factor*), un complejo heterodimérico formado por las subunidades HIF-1 α y HIF-1 β . En condiciones de niveles normales de oxígeno (normoxia), la subunidad HIF-1 α es hidroxilada por una familia de prolil-4-hidroxilasas (PHD). Esta modificación es reconocida por la proteína Von Hippel-Lindau (VHL), la cual induce la ubiquitinación de HIF-1 α y su posterior degradación proteosómica [35]. Sin embargo, en condiciones de hipoxia al estar ausente el sustrato de PHD (O_2), la hidroxilación de HIF-1 α no se presenta por lo cual se puede translocar al núcleo donde dimeriza con HIF-1 β , uniéndose a la secuencia 5'-RCGTG-3'. Esta interacción, regula la transcripción de genes importantes para la angiogénesis como el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF), el receptor de VEGF, endoglin, endotelina, óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) [36]. Además HIF regula genes necesarios para el metabolismo tumoral como el transportador de glucosa (GLUT)-1 y la cinasa de fosfoglicerato (PGK-1) que participan en la vía glicolítica en respuesta a la gran demanda de nutrientes del tumor, producto de su acelerado crecimiento e ineficiente uso de los sustratos metabólicos [37].

La evolución de procesos angiogénicos se favorece en los tumores como resultado de alteraciones genéticas en receptores (*EGFR*), cinasas intracelulares (*Src*),

transductores intracelulares (*Ras*) y factores de transcripción (*fos*, *p53*) cuya desregulación produce la sobreexpresión de factores proangiogénicos como VEGF [13]. También se presenta la inactivación del supresor de tumores VHL que permite una activación constitutiva de HIF. En congruencia con lo anterior, HIF-1 también se ha reportado sobreexpresado en diferentes tipos tumorales como el de mama, cervix, orofaríngeo, ovario, útero y próstata [36, 38].

6.1.5.5. Metástasis

La metástasis se considera la culminación del proceso neoplásico y se desarrolla a través de una serie de etapas secuenciales, incluidas la invasión de tejidos adyacentes, la entrada a un vaso sanguíneo o linfático (intravasación), transporte a través del sistema circulatorio, salida del vaso sanguíneo (extravasación) y finalmente la colonización y crecimiento de las células del tumor primario en un órgano secundario (Fig. 6) [39].

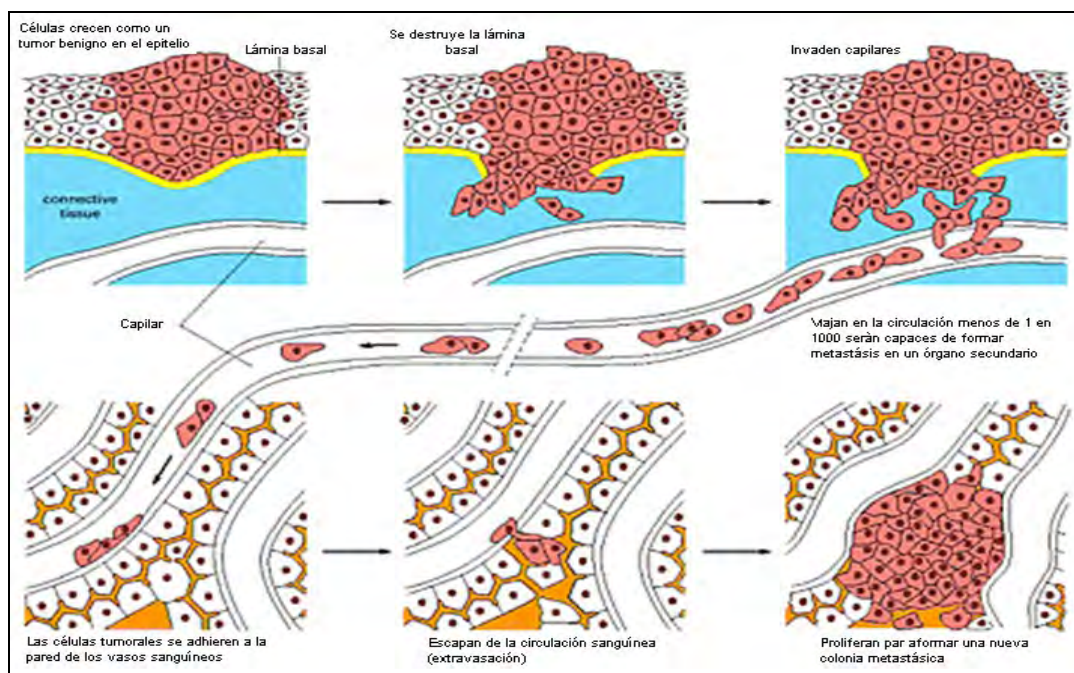


Figura 6. Representación esquemática del proceso de metástasis. Este proceso involucra la diseminación por vía linfática o sanguínea de células del tumor primario a un órgano secundario [24].

Los diferentes tipos de tumores primarios metastatizan de manera preferencial a determinados órganos blanco. Para explicar este fenómeno se ha propuesto la hipótesis “suelo-semilla”, según la cual algunos tipos de cáncer (semilla) metastatizan preferentemente a ciertos órganos (suelo) en los que encuentran un microambiente adecuado para su desarrollo. Esto, como resultado del establecimiento de interacciones célula-célula, célula-Matriz Extracelular (EMC, *del inglés extracellular matrix proteins*) y la activación de vías de señalización órgano/ específicas entre las células tumorales y

los componentes del tejido invadido que permiten establecer un anclaje conveniente para el crecimiento del tumor secundario; por ejemplo, al activarse vía integrinas la ruta de sobrevivencia de PI3K/Akt o la de proliferación de β -catenina. De esta forma se explica por qué el cáncer de mama, frecuentemente metastatiza a hueso, hígado, cerebro y pulmones. Una segunda hipótesis sugiere que los patrones de circulación entre el tumor primario y un determinado órgano secundario son suficientes para explicar una metástasis órgano-específica. Así las células neoplásicas en circulación metastatizarían al órgano, que en función del flujo sanguíneo, se encuentre en una posición inmediatamente posterior a la suya. En dicho órgano las células tumorales serían retenidas, probablemente como consecuencia de ser más grandes que la luz de los capilares sanguíneos del órgano secundario. Por ejemplo, el pulmón es el primer órgano a donde fluyen y metastatizan las células de un tumor primario de mama, vía la vena cava superior [40]. Ambas teorías no son mutuamente excluyentes, por lo cual actualmente los dos mecanismos se consideran importantes para la verificación del proceso metastático.

Finalmente, una vez en el órgano invadido las células tumorales crecen progresivamente utilizando nutrientes y gases adquiridos por difusión generando micrometástasis. Estas últimas, posteriormente, podrían vascularizarse y crecer más hasta convertirse en tumores macroscópicos que a su vez pueden metastatizar nuevamente [40].

Las células tumorales experimentan diferentes alteraciones que les permiten incrementar su capacidad para metastatizar. En primera instancia, sobreexpresan diversos tipos de metaloproteinasas (MMP, del inglés, *matrix metalloproteinases*) capaces de degradar la membrana basal para invadir el tejido subyacente. Además, pueden sobreexpresar integrinas para una adecuada unión a la MEC favoreciendo la migración celular; la evasión del sistema inmune y la muerte celular resultante de la pérdida de anclaje (anoikis), a través de la sobreactivación de vías de sobrevivencia como la de PI3K/Akt, principalmente [41].

6.2. CAPÍTULO II.

INFLAMACIÓN

6.2.1. Perspectiva histórica de la inflamación

La inflamación (*lat. inflammare* “prenderle fuego”) es el proceso fisiológico a través del cual el organismo responde a un agente mecánico, irritante o infeccioso (patógeno), cuya activación produce un aumento de células y moléculas del sistema inmune en el sitio dañado con el propósito de eliminar al agente causal de la agresión y reestablecer la homeostasis celular [42].

6.2.2. Causas de la inflamación

El proceso inflamatorio puede ser desencadenado por diversos agentes tanto exógenos como endógenos. Los primeros suelen subdividirse en microbianos y no microbianos.

Dentro de los inductores microbianos se contemplan exotoxinas y patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs, del inglés, *Patogen Associated Molecular Patterns*). Estos incluyen una combinación de carbohidratos, proteínas formilmetiladas, lipopolisacáridos y algunas secuencias de ácidos nucleicos (motivos CpG) del patógeno [43]. Los distintos inductores microbianos son detectados principalmente por macrófagos a través de receptores tipo Toll (TLR, del inglés *Toll like receptors*) y tipo NOD (NLR, del inglés *NOD like receptors*), así como receptores “*scavenger*”. Por otra parte, los inductores no microbianos pueden incluir alérgenos, sustancias irritantes, compuestos tóxicos y partículas inertes (sílice y asbesto) [43].

Los inductores endógenos, pueden ser señales producidas por tejidos dañados o con un mal funcionamiento como: productos de daño celular y tisular (ácido úrico); moléculas de reconocimiento del daño celular (factor de Hageman) y productos metabólicos (cristales de Urato monosódico) [43].

6.2.3. Tipos de inflamación

La respuesta inflamatoria suele ser dividida en aguda y crónica. La primera, involucra una respuesta rápida pero de corta duración, que se inicia cuando el agente agresor evade las barreras primarias del organismo como los epitelios. Por otro lado, la inflamación crónica es un proceso de larga duración que se presenta cuando los episodios de inflamación aguda no se resuelven favorablemente debido a la persistencia

de patógenos, respuestas autoinmunes, o una incapacidad para degradar cuerpos extraños [44].

6.2.3.1. Inflamación aguda

La respuesta inflamatoria aguda puede ser dividida en las siguientes fases: activación, mantenimiento y resolución.

La *fase de activación* consiste principalmente en el reconocimiento de los distintos tipos de inductores inflamatorios por parte de los TLRs y NLRs presentes en macrófagos, monocitos y células dendríticas.

La *fase de mantenimiento* involucra la secreción de citocinas tipo IL-1 β , IL-6 y TNF- α por parte de los macrófagos. Estas citocinas inducen la coagulación y el incremento en la permeabilidad vascular mediante la activación de enzimas proinflamatorias como la ciclooxigenasa-2 (COX-2) y la secreción de otros vasodilatadores; además favorecen la expresión de moléculas de adhesión en el endotelio y con ello, la migración transendotelial de linfocitos, granulocitos y macrófagos al tejido dañado [44, 45]. Estas células inflamatorias participan en la eliminación del inductor de daño vía fagocitosis y mediante la activación del estallido respiratorio y de enzimas tipo iNOS, principalmente en macrófagos. El estallido respiratorio y la activación de la iNOS, favorecen la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS, del inglés, *Reactive Oxygen Species*) como superóxido (O₂⁻), peróxido de hidrógeno (H₂O₂), radical hidroxilo (OH⁻), así como especies reactivas de nitrógeno (RNS, del inglés, *Reactive Nitrogen Species*), entre ellas, peroxinitrito (ONOO⁻) y dióxido de nitrógeno (NO₂). En ambos casos su efecto citotóxico asociado es importante para la eliminación del patógeno [46].

Tras la eliminación del inductor inflamatorio, la *fase de resolución* involucra la secreción de citocinas anti-inflamatorias (IL-10) principalmente por macrófagos y células T. Dichas citocinas regulan negativamente la actividad de neutrófilos y de subgrupos de macrófagos, reduciendo los niveles de inflamación [42]. Además se incrementa la producción de mediadores anti-inflamatorios (lipoxinas, resolvinas), los cuales disminuyen el flujo de polimorfonucleares y leucocitos al área inflamada. Finalmente, la población de macrófagos presentes en el tejido dañado se reduce al experimentar, una parte de ella, apoptosis y otra abandonar el tejido, a través de la circulación linfática [47].

6.2.3.2 Inflamación crónica

La persistencia de la infección o daño en el tejido produce que los niveles de inflamación aumenten y se prolonguen por más tiempo desencadenando un proceso de inflamación crónica. En esta última, a diferencia de la aguda, no predominan polimorfonucleares y en su lugar hay un flujo elevado de linfocitos, macrófagos y células plasmáticas hacia el tejido dañado así como una mayor producción de IL-2-4, TNF- α , TGF- β y quimiocinas (MCP-4). Las citocinas características de la inflamación crónica no solo mantienen y amplifican la respuesta inflamatoria, sino que además, inducen la formación de procesos fibróticos [48].

La inflamación crónica se caracteriza porque los macrófagos en un intento por eliminar al inductor inflamatorio, siguen liberando una cantidad importante de enzimas hidrolíticas, induciendo la sobreactivación de enzimas proinflamatorias tipo COX-2 e iNOS y produciendo una excesiva cantidad de ROS y RNS. Como resultado de ello, el aumento en los niveles intracelulares de especies reactivas puede causar daño tanto al patógeno como a las células normales circundantes al tejido inflamado. Por ejemplo, pueden dañar a las proteínas al inducir diversas modificaciones como la fosforilación, acetilación, nitrosilación, polyADP-ribosilación y la oxidación de aminoácidos [49]. También, pueden inducir la peroxidación de los lípidos, favoreciendo la formación de productos como el malonaldehído (MDA), el hexanal y el 4-hidroxinonal, incrementando aún más la generación de especies reactivas. Adicionalmente, pueden interactuar con el DNA, induciendo la formación de aductos, principalmente en los carbonos C4 y C8 del anillo de las purinas (p.ej. 8-oxo-7,8-dihidro-2'-desoxiguanosina, 8-oxo-desoxiadenosina); incrementan las probabilidades de que se induzcan alteraciones genéticas, como transiciones C \rightarrow T, transversiones G \rightarrow T, rompimientos en las cadenas de DNA, formación de sitios abásicos; además de la nitrosilación de las bases (8-nitro-2'-desoxiguanosina) que favorecen las transversiones G \rightarrow T [50, 51].

Las repercusiones funcionales de la actividad de las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno son importantes ya que la alteración de lípidos y proteínas permite la desregulación de diversas vías de señalización intracelular asociadas con la carcinogénesis. Por su parte, los daños en el DNA aumentan la tasa de mutación que puede afectar la adecuada expresión de oncogenes y genes supresores de tumores.

Finalmente, en la evolución del proceso inflamatorio crónico, si los macrófagos son incapaces aún de fagocitar y destruir a los patógenos o cuerpos extraños, en un

intento final por proteger al hospedero, se forman granulomas que son grupos de células gigantes multinucleadas, rodeadas por células epiteloides cuya función es limitar o encapsular al inductor del daño [44].

6.2.4. Vías de señalización involucradas en inflamación

En primera instancia, las vías de señalización más importantes en el proceso de inflamación aguda incluyen mecanismos sensores, tales como los inflamasomas y los receptores tipo Toll (TLR). Mientras que, en el caso del proceso inflamatorio crónico se torna importante la elevada producción de citocinas como TNF- α , cuya desregulación favorece la sobreactivación del factor nuclear kappa B (NF- κ B del inglés, *Nuclear factor kappa B*) y en consecuencia de algunos de sus genes blanco determinantes en la inflamación crónica, como las enzimas COX-2 e iNOS. Para los fines de este trabajo los mediadores moleculares anteriormente descritos, son los que interesan más, por ello se describirán con mayor detalle a continuación.

6.2.4.1. Factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α)

El factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) es una citocina pleiotrópica producida por los macrófagos que se reclutan al sitio inflamado; en donde desempeña algunas funciones esenciales: activación de las células endoteliales para que empiecen a reclutar leucocitos, activación de los fagocitos tisulares para que aseguren la resistencia innata, envío de señales que determinan el tipo de inmunidad necesaria (humoral o celular) y amplificación de la respuesta inflamatoria. Los niveles de TNF- α se incrementan en los estadios crónicos del proceso inflamatorio, constituyéndose en un mediador típico y altamente recurrente del mismo [44]. En condiciones normales el TNF- α es sintetizado como un precursor transmembranal de 233 aminoácidos y 26 kDa. Para ser activado es procesado por metaloproteinasas a una forma madura de 157 aminoácidos y 17 kDa agrupándose en homotrímeros funcionales de 52 kDa [52].

La actividad celular del TNF- α se inicia por la activación de su receptor membranar (TNFR, de inglés, *TNF Receptors*). Existen dos receptores distintos pero estructuralmente homólogos: a) el receptor del factor de necrosis tumoral 1 (TNFR1) de 60 kDa y b) el receptor del factor de necrosis tumoral 2 (TNFR2) de 80 kDa [52].

La mayor parte de la señalización de TNF- α se da a través de TNFR1. Este receptor puede inducir tanto señales apoptóticas como de sobrevivencia y proliferación

celular. La capacidad apoptótica de la vía de TNF- α está mediada por las proteínas adaptadoras TRADD cuyos dominios de muerte DD (del inglés, *death domain*) interaccionan con el receptor y reclutan a la proteína adaptadora FADD. Posteriormente, FADD interactúa por medio de dominios efectores de muerte DED (del inglés, *death effector domains*) con la procaspasa 8, produciendo su activación autoproteolítica y en consecuencia, la de una cascada de caspasas efectoras [53].

Por otra parte, la señalización de respuesta inmune, sobrevivencia y proliferación celular mediada por el TNF- α depende de la activación de la familia de factores de transcripción, NF- κ B, conformada por 5 miembros: NF- κ B1 (p50) y NF- κ B2 (p52), RelA (p65), c-Rel y RelB. El anterior proceso se inicia, cuando el complejo TNFR1/TRADD recluta a las proteínas TRAF-2 (del inglés, *TNF receptor associated factor*) y RIP-1 (del inglés, *receptor interacting protein*). TRAF-2 ubiquitina a RIP1 e induce el reclutamiento de las proteínas adaptadoras TAB1, TAB2 (del inglés, *TAK1 binding protein 1, 2*) y la consecuente activación de la cinasa TAK-1 (del inglés, *TGF- β activating kinase*). A su vez, TAK-1 fosforila y activa al complejo cinasa de I κ B (IKK, del inglés *I κ B kinase*) conformado por tres subunidades: dos de ellas catalíticas IKK α (84 kDa), IKK β (85 kDa) y una tercera de naturaleza regulatoria, NEMO (48 kD) [54].

La importancia de la activación del complejo IKK, radica en que este es capaz de fosforilar y marcar para su ubiquitinación y posterior degradación proteosómica a una serie de proteínas inhibitoras de NF- κ B (I κ Bs, del inglés, *inhibitors NF- κ B*), que en condiciones normales lo retienen en el citoplasma e impiden su translocación nuclear (Fig. 7) [55, 56].

Una vez degradadas las I κ Bs, NF- κ B se unen a los sitios κ B (5'-GGGRNWYYCC-3'; G= guanina, R= purina, W= adenina o timina, Y= pirimidina, N=cualquier base) [121–124]; que se

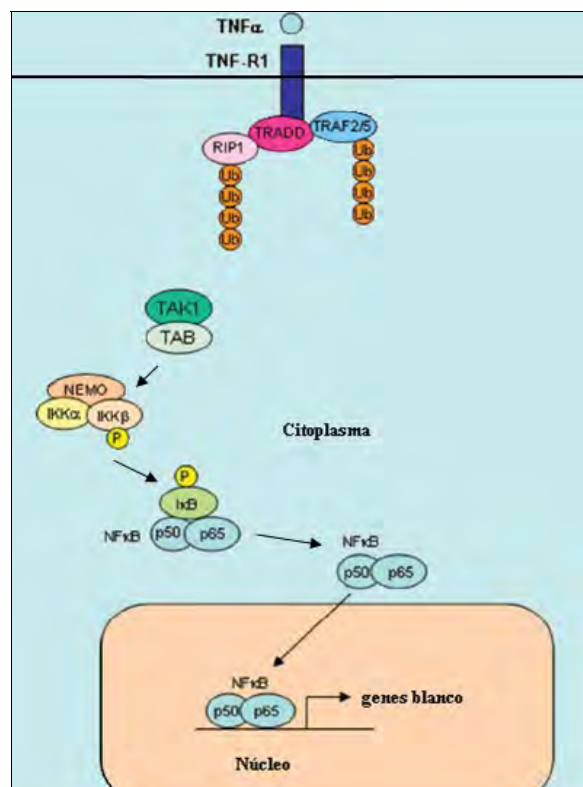


Figura 7. Activación vía TNF de NF- κ B. TAK-1 activa al complejo IKK, el cual fosforila y marca para ubiquitinación a las I κ Bs. Lo anterior permite la translocación nuclear de NF- κ B [55].

localizan en genes de diversas citocinas (IL-1, IL-2, IL-6, IL-12, TNF- α , TNF- β , GM-CSF), quimiocinas (IL-8, RANTES, MCP-1, MIP-1 α , Gro α), moléculas de adhesión (ICAM-1, VCAM-1, E-selectina), proteínas de fase aguda (SAA y CRP) y enzimas proinflamatorias como COX-2 e iNOS. Así como diversos genes con funciones antiapoptóticas y de regulación de la proliferación celular; que se discutirán con mayor detalle en el capítulo 4 [57, 58].

6.2.4.2. Ciclooxigenasa-2

Los inductores principales de la enzima ciclooxigenasa-2 (COX-2), incluyen citocinas como IL-2, TNF α , características de la inflamación crónica, que señalizan principalmente a través de las rutas de las MAPKs (ERK1/2, JNK/SAPK, y p38), PKC, PI3K y Akt/PKB. Estas vías, a su vez favorecen la sobreexpresión de COX-2 al activar al ya señalado, NF- κ B, así como AP-1 y C/EBP, los principales factores de transcripción que regulan su expresión [59]. De esta forma la activación constante de la vía de NF- κ B y de otros factores de transcripción, inducida por una citocina proinflamatoria típica como TNF- α es determinante para la expresión desregulada de la ciclooxigenasa.

Dicha enzima, forma parte de una familia constituida por dos isoformas: Ciclooxigenasa-1 (COX-1), de expresión constitutiva y COX-2, de expresión inducible. Ambas enzimas se localizan en la parte interna de la membrana celular, la superficie luminal del retículo endoplasmático y en la membrana interna y externa de la envoltura nuclear [45].

Las ciclooxigenasas catalizan la biosíntesis de prostanoideos o eicosanoides, utilizando como sustrato al araquidonato (principal precursor de los prostanoideos en los mamíferos), más dos moléculas de O₂ para producir prostaglandina G₂ (PGG₂). Este producto se acopla a una subsecuente reacción de peroxidación, permitiendo la formación de prostaglandina H₂ (PGH₂). Posteriormente, el intermediario PGH₂ es transformado por una serie de mecanismos enzimáticos y no enzimáticos en los prostanoideos primarios: PGE₂, PGF₂ α , PGD₂, PGI₂ (prostaciclina) y TXA₂ (tromboxano), (Fig. 8) [45, 60]. La función fisiológica de los prostanoideos primarios se realiza a través de receptores acoplados a proteínas G (GPCRs del inglés, *G-protein coupled receptors*) designados como EP1–4 para PGE₂ y receptores FP DP, IP y TP para PGF₂ α , PGD₂, PGI₂ y TXA₂, respectivamente [61].

En condiciones normales, COX-2 desempeña funciones en diferentes procesos biológicos como la reproducción, modulación de la hemodinámica glomerular, reabsorción tubular de cloruros y agua. Además, participa en la neurotransmisión, la absorción ósea, la respuesta inmunológica, la inducción de fiebre, dolor y la secreción

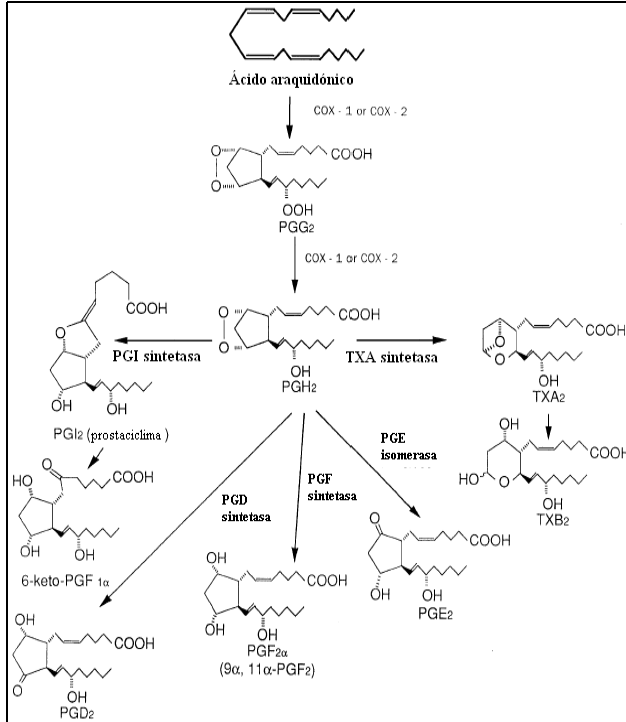


Figura 8. Diagrama de reacciones dependientes de COX. A partir del ácido araquidónico, las COXs, catalizan la producción de PGG₂, la cual se oxida para producir PGH₂, que mediante diversos mecanismos enzimáticos y no enzimáticos se transforma en el resto de los prostanooides [60].

pancreática. En los procesos inflamatorios crónicos, la expresión regulada de COX-2 favorece un aumento en la permeabilidad vascular y en consecuencia una mayor afluencia de células inflamatorias al tejido dañado; sin embargo su sobreexpresión favorece la amplificación exacerbada de la respuesta inflamatoria y una desregulación en el control de la proliferación, supervivencia, vascularización e invasión; etapas determinantes en los procesos carcinogénicos [61, 62].

6.2.4.3. Oxido nítrico sintasa inducible

De manera análoga a COX-2, la iNOS, es una enzima que se encuentra sobreexpresada en el contexto inflamatorio crónico como resultado de una desregulación de su vía principal de inducción, la del factor de transcripción, NF-κB. En condiciones normales la activación de iNOS forma parte de los mecanismos de la inmunidad innata activándose principalmente en macrófagos y células citotóxicas en respuesta a citocinas inflamatorias, como TNFα [63].

La iNOS o NOSII, forma parte de una familia enzimática que cataliza la oxidación del aminoácido L-arginina para producir citrulina y óxido nítrico (NO). Este último es un agente citotóxico efectivo que contribuye a la destrucción de microorganismos patógenos (Fig. 9) [64].

Además de iNOS existen dos isoformas más: la NOS endotelial (eNOS o NOSIII, 134 kDa) presente en células endoteliales y la NOS neuronal, presente principalmente en cerebro y médula espinal; ambas de expresión constitutiva [63].

La sobreexpresión de iNOS, no solamente permite un mayor nivel de inflamación y su transición hacia un estadio crónico; sino que también participa en la patogénesis de distintas enfermedades, incluido el cáncer. De hecho, en la carcinogénesis la iNOS, a través de la producción elevada de NO, presenta un papel

dual ya que dependiendo de factores como el microambiente celular o los niveles intracelulares de NO puede tener una función tanto pro-tumoral como anti-oncogénica, como se comentara a detalle en el capítulo 4 [65].

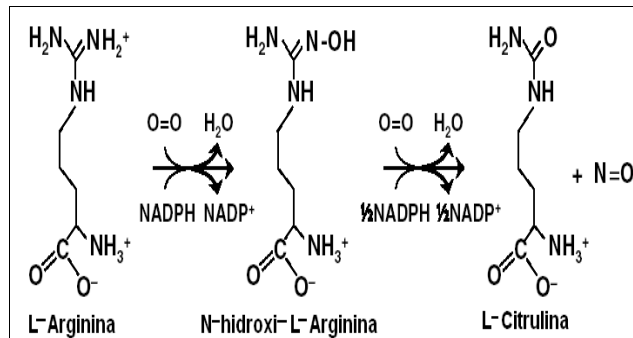


Figura 9. Reacciones catalizadas por la Óxido Nítrico Sintasa. La NOS, cataliza la oxidación de L-arginina para producir Óxido Nítrico (NO) y citrulina [64].

6.3. CAPÍTULO III.

PADECIMIENTOS INFLAMATORIOS ASOCIADOS A CÁNCER

6.3.1. Generalidades

Como ya se ha descrito, en la inflamación crónica se presenta la sobreexpresión de vías de señalización, altamente pleiotrópicas, como la de NF- κ B. Dicha desregulación permite el mantenimiento de estados inflamatorios crónicos que constituyen un factor etiológico importante asociado a distintas patologías, que en sus estadios más crónicos se vinculan fuertemente al riesgo de desarrollar determinados tipos de cáncer. De hecho, se estima que los procesos inflamatorios crónicos producidos por infecciones contribuyen en aproximadamente el 25% de todos los cánceres a nivel mundial [2].

Esta relación entre la inflamación crónica y el cáncer se basa en diversos modelos experimentales y estudios epidemiológicos en individuos afectados por padecimientos inflamatorios de origen genético (enfermedad inflamatoria del intestino, colangitis esclerosa primaria), químico-mecánico (esófago de Barret, pancreatitis, silicosis y asbestosis) y por infecciones (gastritis, hepatitis, esquistosomiasis y clonorquiasis); que se describirán a continuación.

6.3.2 Modelos animales de inflamación y cáncer

La utilización de diversos modelos animales ha permitido demostrar la participación de la inflamación crónica en el desarrollo de neoplasias. De esta forma, en modelos murinos de carcinogénesis química la administración de compuestos que inducen estados de inflamación crónica como la metilnitrosoguanidina o etilnitrosoguanidina producen hiperplasia, displasia y en algunos casos adenocarcinomas pancreáticos [66].

Complementariamente, modelos de colitis inducida por Carragenan, dextran sulfato de sodio (DSS), ácido sulfónico y trinitrobenceno (TNBS) favorecen la carcinogénesis colorectal [67–70]; mientras que el 12-O-tetradecanoil-forbol-13-acetato (TPA) funciona como un efectivo promotor tumoral en modelos de carcinogénesis de piel [71]. Análogamente, también se ha descrito el desarrollo de colitis en modelos murinos inoculados con *Helicobacter pylori*; que al acoplarse a un tratamiento inductor de procesos de irritación-inflamación, como una dieta rica en sales, incrementa la

frecuencia con la que se desarrollan tumores gástricos [72]. Como lo muestran los datos anteriormente señalados, existe evidencia experimental de la relación entre la inflamación crónica y el cáncer. Sumada a ella y de forma complementaria se han descrito un número importante de padecimientos inflamatorios cuyos estadios más crónicos se asocian al desarrollo de diferentes neoplasias. Algunos ejemplos de dichas enfermedades, incluyen:

6.3.3. Enfermedades genéticas, inflamación y cáncer

6.3.3.1 Enfermedad inflamatoria del intestino (IBD)

La enfermedad inflamatoria del intestino (IBD; por sus siglas en inglés, *inflammatory bowel disease*), comprende dos principales manifestaciones de inflamación crónica del tracto gastrointestinal: la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerativa. Dentro de los factores de riesgo asociados a esta enfermedad se incluyen: la predisposición genética, la participación de parásitos intestinales y la presencia de otros padecimientos, como la colangitis esclerosa primaria [73].

La asociación entre el cáncer colorectal y la IBD fue reconocida y reportada por primera vez en 1925 por Crohn y Rosenberg. Estudios epidemiológicos han reportado un incremento del orden de 20 veces más en el riesgo de desarrollar cáncer colorectal en sujetos con enfermedad de Crohn en comparación con los grupos controles correspondientes [74]. Además del cáncer colorectal, los pacientes con enfermedad de Crohn también presentan un mayor riesgo de desarrollar otros tipos tumorales a nivel del intestino delgado, ano y linfomas [74].

6.3.3.2 Colangitis esclerosa primaria

La colangitis esclerosa primaria (CSP) es una enfermedad crónica caracterizada por inflamación difusa y fibrosis de los ductos biliares intra- y extra-hepáticos. Los estadios crónicos de esta enfermedad pueden derivar en cirrosis biliar [75]. Aunque hasta el momento se desconoce la principal causa de la CSP la predisposición genética, los procesos autoinmunes y las infecciones bacterianas o virales inductoras de estadios inflamatorios han sido propuestas como posibles causas [76].

La CSP es uno de los principales factores de riesgo para el desarrollo del colangiocarcinoma, un cáncer fatal del epitelio biliar. El origen de este tipo tumoral se ubica dentro del hígado o en los ductos biliares extrahepáticos [75]. El

colangiocarcinoma es poco frecuente y representa menos del 2% de todos los tumores malignos de diagnóstico reciente. Sin embargo, se considera como el segundo tumor hepático más común después del hepatocarcinoma, incrementándose el riesgo de desarrollarlo en pacientes con CSP hasta en el orden del 8 a 36% [77, 78].

6.3.4. Irritación química y mecánica, inflamación y cáncer

6.3.4.1. Esófago de Barret

El esófago de Barret es una condición patológica donde el epitelio escamoso esofágico normal es reemplazado, mediante un proceso metaplásico, por epitelio columnar anormal más resistente a los agentes inductores de la inflamación crónica del esófago, en comparación con el epitelio escamoso nativo [79]. El principal factor de riesgo para el desarrollo del esófago de Barret, es la enfermedad del reflujo gastrointestinal (ERG), caracterizada por una inflamación crónica producto de la acción constante de los componentes del reflujo gastroesofágico (ácido clorhídrico, jugos biliares y enzimas pancreáticas) sobre el epitelio esofágico. Este escenario patológico se asocia significativamente al adenocarcinoma esofágico [80].

El cáncer de esófago es el 7^{mo} tipo tumoral más frecuente a nivel mundial y en México su incidencia se ha estimado en 1.5 % en el caso de los hombres y 0.4% en mujeres [5, 81]. El riesgo de desarrollar adenocarcinoma esofágico en pacientes con esófago de Barret es del orden de 30 a 125 veces mayor en comparación con pacientes sin este antecedente patológico [82].

6.3.4.2. Pancreatitis

La pancreatitis crónica es un proceso inflamatorio progresivo y severo de etiología multifactorial cuya evolución conduce a la irreversible destrucción del tejido endócrino pancreático y su sustitución por tejido fibroso. A consecuencia de la destrucción del tejido pancreático se presenta una incapacidad para producir diversas enzimas digestivas. Esta disfuncionalidad provoca una mala absorción de nutrientes y pérdida de peso [83]. Se considera al consumo de alcohol como el principal factor de riesgo para el desarrollo de esta enfermedad, al inducir procesos inflamatorios crónicos en el parénquima pancreático [84].

Los dos tipos principales de pancreatitis, la alcohólica y la hereditaria, incrementan el riesgo de desarrollar tumores pancreáticos. En el primer caso el

incremento es del orden de 10 a 20 veces más, en comparación con sujetos sanos; mientras que en presencia de la forma hereditaria, el riesgo aumenta hasta en 50 a 70 veces más [85, 86]. El cáncer pancreático constituye la cuarta causa de muerte por cáncer en EUA en hombres y mujeres, la sexta en Europa y en México ocupa el quinto lugar en hombres y el séptimo en mujeres [86, 87].

6.3.4.3. Silicosis y asbestosis

La silicosis y asbestosis son enfermedades pulmonares intersticiales resultantes de la inhalación continua y prolongada de partículas de sílice y asbesto [88]. Ambas se caracterizan por la formación de nódulos fibrosos en el parénquima pulmonar rodeados por células inflamatorias. En etapas avanzadas de la enfermedad, los nódulos fibrosos se pueden fusionar generando grandes lesiones de fibrosis masiva [89].

Ambos padecimientos son resultado de la inflamación crónica que se produce cuando las partículas de sílice o asbesto ubicadas en el espacio alveolar tras ser inhaladas son fagocitadas por los macrófagos. Dada su forma, tamaño y composición, las fibras de asbesto y sílice perforan la membrana del macrófago liberando todas sus enzimas proteolíticas al medio extracelular; con ello, se induce una excesiva producción de ROS y RNS, incrementándose el daño tisular y el desarrollo de procesos inflamatorios crónicos [90, 91].

Tanto la silicosis como la asbestosis pueden asociarse con el desarrollo de cáncer pulmonar y mesotelioma, respectivamente. Los pacientes con silicosis incrementan hasta en el orden de 3 veces más el riesgo de desarrollar cáncer pulmonar y en 2.5 veces más el de fallecer por este tipo tumoral, en comparación con sujetos sin silicosis [92]. Por otra parte, en el caso del mesotelioma aproximadamente el 0.17% de la tasa de mortalidad total de la población masculina de EUA se atribuye a casos de este tumor, de los cuales el 85% es causado por exposición a asbestos [93, 94]. Por ello, la Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer (IARC) clasificó al sílice y al asbesto como carcinógenos tipo I, es decir capaces de inducir tumores en humanos [95].

Las partículas de asbesto y sílice no solamente inducen procesos de inflamación crónica, determinantes en la carcinogénesis pulmonar y el mesotelioma, sino que además interaccionan directamente con el DNA y el huso mitótico causando rupturas en las cadenas del DNA y aneuploidías [96, 97]. También pueden favorecer el desarrollo de lesiones tisulares preneoplásicas (nódulos de fibrosis) tras depositarse en la pleura e inducir una elevada producción de diversos factores de crecimiento [98, 99].

6.3.5. Enfermedades infecciosas, inflamación y cáncer

6.3.5.1. Gastritis

La gastritis se caracteriza por un patrón de inflamación crónica que de prolongarse puede causar la destrucción de la mucosa glandular del estómago conduciendo a la reducción de la función gástrica secretora e hipoclorhidria. Esta enfermedad se asocia comúnmente con la infección por *Helicobacter pylori*, una bacteria Gram-negativa colonizadora de la mucosa gástrica [100].

La gastritis por *H. pylori* presenta una prevalencia de hasta 80% en países en vías de desarrollo como México [101, 102]. Se ha reportado que del 1 al 2% de los individuos con seroprevalencia elevada para *H. pylori* podrían desarrollar cáncer gástrico. Además, se estima un riesgo de hasta 3 a 9 veces superior de presentar dicho tumor, en pacientes con gastritis atrófica en comparación con sujetos normales [103].

El cáncer gástrico es el cuarto tipo tumoral más común y la segunda causa de muerte más frecuente en el mundo [4]. En México, en el 2007 fue la tercera causa de defunciones en hombres con un 9% y la cuarta en mujeres con un 7.5 % del total de decesos por tumores malignos [5].

Se estima que la infección por *H. pylori* es la responsable de aproximadamente el 63.4% de todos los cánceres gástricos. Por todo ello, la IARC en 1994 clasificó a esta bacteria, como un carcinógeno de clase I [104]. Los mecanismos importantes en el desarrollo neoplásico asociados a la infección por *H. pylori* se relacionan con *factores virulentos bacterianos, alteraciones en la fisiología gástrica e inflamación crónica*. Los principales factores de virulencia identificados en *H. pylori* incluyen las proteínas *CagA* y *VacA*. La primera promueve la proliferación, morfogénesis y motilidad celular; mientras que *VacA*, favorece un estado de inmunosupresión, permisible al crecimiento tumoral [105].

En cuanto a las alteraciones fisiológicas, la presencia de *H. pylori* a nivel del *corpus* gástrico genera un estado de hipoclorhidria. De tal suerte que los bajos niveles de ácido, favorecen tres eventos importantes en el desarrollo carcinogénico: a) producción por parte del metabolismo microbiano de compuestos *N*-nitrosos altamente carcinogénicos; b) disminución de las concentraciones de ácido ascórbico, un potente inhibidor de la *N*-nitrosilación, y c) estimulación de la secreción de la hormona gastrina, capaz de inducir la proliferación de las células epiteliales [106].

Finalmente, el proceso inflamatorio crónico asociado al cáncer gástrico no solamente es resultado de la respuesta inmune desencadenada por la infección, sino también de la actividad de proteínas bacterianas específicas como VacA y HP-NAP (del inglés *H. pylori neutrophil-activating protein*) las cuales activan a enzimas pro-inflamatorias como COX-2 y la NADPH oxidasa, respectivamente. En consecuencia, se incrementa la producción de mediadores inflamatorios y de ROS que inducen estados de mayor proliferación y daño a DNA [106, 107].

6.3.5.2. Hepatitis

La hepatitis es una enfermedad crónica que se caracteriza por un proceso inflamatorio severo del hígado y cuya causa más común es la infección con uno de 5 virus denominados hepatitis A, B, C, D y E [4]. Actualmente, existen 350 millones de personas infectadas con el virus de la hepatitis B (HBV) y 170 millones de personas, con el virus de la hepatitis C (HCV). Se ha reportado que más del 50% de los casos registrados de hepatocarcinomas se encuentran asociados con la infección por HBV y 25% son atribuibles a HCV [108]. El hepatocarcinoma es la tercera causa más común de muerte por cáncer en el mundo; en México, para el 2007 este tipo tumoral constituyó la tercera causa de muerte por tumores en mujeres y la cuarta en hombres con el 7.6% y 7.1% del total, respectivamente [5, 109].

La hepatitis favorece el desarrollo de hepatocarcinomas en varias formas. En primera instancia como resultado del proceso inflamatorio crónico, desencadenado por la infección viral se induce una respuesta regenerativa constante del parénquima hepático. Esta respuesta tisular involucra la activación de distintas vías de proliferación y sobrevivencia (HGF, TGF β y Wnt- β -catenina), cuya desregulación puede favorecer la hepatocarcinogénesis. Por otro lado, proteínas virales específicas como HBx son capaces de activar a iNOS, actuando en sinergia con la exacerbada producción de ROS inducidas por la infección, para permitir un aumento en los niveles de RNS y nitrosilación del DNA [110].

6.3.5.3. Inflamación crónica causada por infecciones helmínticas

La esquistosomiasis y clonorchiasis son enfermedades parasitarias causadas por helmintos de los géneros *Schistosoma*, *Opisthorchis* y *Clonorchis*, respectivamente. Los estadios crónicos de estos padecimientos se han asociado con un incremento en la ocurrencia de algunos tipos tumorales.

La **esquistosomiasis** es la segunda infección parasitaria más común en el mundo después de la malaria, con aproximadamente 200 millones de personas infectadas [111]. Esta enfermedad es responsable de por lo menos 280 000 muertes anualmente en la región africana del sub-Sahara [112]. La infección se contrae cuando el hombre se pone en contacto con cuerpos de agua que contengan las formas larvarias del parásito, las cuales son capaces de penetrar la piel de las personas [113]. Dos principales formas de esquistosomiasis se encuentran en el mundo: la esquistosomiasis intestinal y la esquistosomiasis urinaria. Está última se puede complicar, favoreciendo el desarrollo de cáncer de vejiga [114]. La asociación entre el cáncer de vejiga y la esquistosomiasis se evidencia en áreas endémicas de la infección, como en Egipto, donde el 82.5 % de los tumores de vejiga se asocian con la esquistosomiasis [115].

Por todo ello en 1997, la IARC, clasificó a *Schistosoma haematobium* como un carcinógeno de tipo I [104]. La esquistosomiasis contribuye al desarrollo carcinogénico mediante la formación de granulomas alrededor de sus huevos lo que genera zonas de fibrosis y la obstrucción mecánica de los uréteres, que produce una retención e interacción prolongada de la orina y diversos tipos de carcinógenos con el urotelio, induciendo e incrementando los niveles de inflamación de dicho epitelio [115, 116]. Es importante mencionar que en México no hay esquistosomiasis.

Por otra parte, la **clonorquiasis**, es causada por el consumo de carne cruda de peces de agua dulce infectados por la metacercaria del tremátodo *Clonorchis sinensis* [117]. Esta infección es común en el sur de Corea, China (Taiwan), Japón, el norte de Vietnam y el oriente de Rusia. En 2005, se estimaron cerca de 35 millones de personas infectadas a nivel mundial de las cuales 15 millones se ubicaban en China [117, 118]. La relación entre clonorquiasis y el desarrollo de colangiocarcinoma ha sido establecida en diferentes estudios epidemiológicos, siendo la prevalencia de este tipo tumoral significativamente alta en áreas donde la infección es endémica [119]. En modelos *in vivo* de colangiocarcinoma inducidos por *N*-nitroso-dimetilamina, la infección por *C. sinensis* funciona como un agente promotor efectivo [120]. Adicionalmente, en estudios *in vitro* se ha demostrado que los productos secretados por *C. sinensis* son capaces de inducir la sobre-expresión de genes reguladores del ciclo celular y reducir la expresión de genes relacionados con la apoptosis y adhesión celular [121–123].

En la gran mayoría de los padecimientos inflamatorios crónicos anteriormente descritos, los factores etiológicos comunes e importantes para el desarrollo secundario de tumores involucran el incremento de ROS y RNS, así como la desregulación de la

vía de NF- κ B y en consecuencia de los niveles de expresión de las enzimas COX-2 e iNOS. Todos estos elementos, contribuyen a la carcinogénesis por medio del control de mecanismos específicos que participan en la desregulación de procesos celulares claves como la proliferación, apoptosis, vascularización e invasión, en las diferentes etapas limitantes de la evolución tumoral.

6.4. CAPÍTULO IV.

COMPONENTES MOLECULARES INFLAMATORIOS ALTERADOS EN CÁNCER

6.4.1. Generalidades

Los hallazgos descritos en el capítulo precedente sobre el estudio de modelos animales y enfermedades inflamatorias crónicas asociadas a cáncer, permiten sugerir algunos procesos y componentes moleculares, que constituyen vínculos etiológicos comunes, a ambos padecimientos. En primera instancia se podría señalar la sobreproducción de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, y en segunda la desregulación de la ruta de señalización de NF- κ B y la consecuente sobre-expresión de sus genes blanco, COX-2 e iNOS.

6.4.2. Elevada producción de Especies Reactivas de Oxígeno y Nitrógeno

La principal consecuencia de la exacerbada producción de ROS y RNS, característica de la inflamación crónica, es la inducción de un microambiente oxidativo promutagénico, en el cual se incrementan las probabilidades de daño a DNA. De esta forma en algunos padecimientos inflamatorios crónicos asociados a cáncer, tales como, la gastritis producida por *H. pylori* y asociada a carcinomas gástricos, se ha descrito la formación de aductos tipo 8-hidroxideoxiguanosina (8-OHdG) [124]. También se ha reportado un aumento en los niveles de aductos tipo 8-nitroguanina y 8-oxo-7,8-dihidro-2'-deoxiguanosina (8-oxodG) en el epitelio biliar de hámsteres infectados con *O. viverrini* y en la orina y leucocitos de pacientes con opistorquiasis y colangiocarcinomas secundarios [125–127]. Ese tipo de lesiones en el DNA producto del estrés oxidativo, incrementan las probabilidades de inducir mutaciones en el genoma de las células afectadas. Un aumento en la tasa celular de mutaciones puede alterar la expresión y funcionalidad de oncogenes y genes supresores de tumor, importantes en la evolución neoplásica. En congruencia con lo anterior, se ha reportado la presencia de alteraciones en la regulación o expresión de dichos genes en padecimientos inflamatorios crónicos asociados a cáncer. Por ejemplo, en etapas preneoplásicas y carcinomas gástricos secundarios a la infección con *H. pylori*, se han descrito mutaciones en *TP53*, *APC* y *ERBB2*, además de una expresión alterada de *RAS*, *MYC*, *E2F* y *c-JUN* [128–131].

Análogamente en muestras de carcinoma pancreático secundario a una pancreatitis se ha descrito la presencia de mutaciones en *K-RAS*, *HER-2/NEU*, *TP53*,

DPC4 y *BRCA2* y en biopsias de cáncer de vejiga asociados a esquistosomiasis se ha mapeado la sobreexpresión de *BCL-2*, *c-MYC*, *MDM-2* y una expresión disminuida de *RB*, *P15* y *P16* [132–136].

Por otra parte, en lo referente al segundo componente inflamatorio vinculado a cáncer, es decir, las rutas de señalización de NF- κ B, COX-2 e iNOS, éstas contribuyen a la adquisición de las características principales de una célula transformada mediante la regulación de una serie de mecanismos específicos que se describirán a continuación.

6.4.3. Factor nuclear kappa B (NF- κ B)

Como ya se ha señalado la inflamación crónica favorece un incremento en la activación de NF- κ B. Dicho factor de transcripción es capaz de regular algunas funciones celulares como la inflamación, apoptosis, proliferación y diferenciación celular. De hecho, en diferentes modelos experimentales se ha demostrado su participación en el desarrollo de algunos tipos tumorales. Por ejemplo, se ha evaluado el uso de diferentes estrategias inhibitorias de NF- κ B en distintas líneas celulares de cáncer, observándose una disminución importante en la proliferación, capacidad metastásica y resistencia a drogas quimioterapéuticas, de las primeras [137–141].

Adicionalmente, en modelos *in vivo*, la inactivación del complejo IKK, el uso de inhibidores de NF- κ B o la expresión constitutiva del inhibidor de la ruta (I κ B), reduce el desarrollo de cáncer pulmonar, pancreático, hepático, de colón, glioblastomas, mama, piel y vejiga, además de incrementar la susceptibilidad del tumor a la quimioterapia en modelos de cáncer ovárico, colorectal y pancreático [142–150]. Por lo cual, el silenciamiento de la ruta de NF- κ B en diferentes modelos de carcinogénesis, es un factor limitante en la transformación neoplásica. En congruencia con lo anterior, la alteración más frecuente de NF- κ B que se presenta en las neoplasias, es su sobreexpresión; principalmente como resultado de alteraciones genéticas como la amplificación de su gen *Rel*, que se ha reportado en pacientes con linfoma de Hodgkin y linfoma de células B de tipo no Hodgkin, translocaciones cromosómicas en linfomas de células B, entre la ausencia de *Rel* y el *enhancer* de la cadena ligera de inmunoglobulina [151, 152]. En ambas situaciones, el resultado involucra un incremento en los niveles proteicos del factor de transcripción. También en linfomas de células B, se ha reportado la presencia de diversas mutaciones puntuales (S525P), en la región codificante del gen *Rel* que en estudios *in vitro* se asocian a un aumento en su actividad transcripcional y su

capacidad transformante [153]. La desregulación en los niveles de NF- κ B, también se ha descrito en pacientes con linfoma de Hodgkin como producto de mutaciones inactivantes en el gen de I κ B, y como consecuencia de un incremento en inductores de la ruta, como citocinas inflamatorias, tipo TNF e IL-1 [154].

La importancia de la activación constitutiva de NF κ B, como un evento frecuente en los procesos inflamatorios crónicos, es que esta ruta controla la expresión génica no sólo de mediadores inmunes, sino de una serie de proteínas determinantes en diferentes etapas de la carcinogénesis. Por ejemplo, a la par que NF- κ B mantiene la respuesta inflamatoria, es capaz de promover la proliferación celular al regular la expresión de componentes del ciclo celular como las ciclinas D y E, las CDK-2, -4, -6 y el oncogen *c-myc*. Por otro lado, NF- κ B participa en la evasión de la apoptosis a través de la inducción de la expresión de genes anti-apoptóticos como las IAPs (IAP-1,-2, XIAP), proteínas de la familia Bcl-2 (Bcl-2, Bcl-xL, A1 y A20) e inhibidores de la vía extrínseca apoptótica (c-FLIP) [155–157]. Además puede regular negativamente la estabilidad de p53 al inducir la expresión de su inhibidor Mdm2 y al evitar su unión a su co-activador transcripcional CBP. El anterior al ser fosforilado por la cinasa IKK- α , se une de manera preferencial a la subunidad p65 de NF- κ B, en lugar de interactuar con p53 [157].

En el caso de la angiogénesis y la metástasis, NF- κ B es capaz de incrementar la expresión de los reguladores pro-angiogénicos VEGF, MCP-1, iNOS y COX-2. Además, induce la expresión de moléculas de adhesión (VCAM-1, ICAM-1), diversas metaloproteinasas (MMP-2 y -9) y de la serina proteasa, activador de plasminógeno tipo urocinasa; importantes en los procesos de formación de nuevos vasos sanguíneos, migración e invasión tisular [155–157].

Este tipo de desregulación de NF- κ B y de sus genes blanco en diferentes etapas de la evolución neoplásica se ha descrito en tumores colorectales, de ovario, mama, próstata, carcinomas de cabeza y cuello, endometrial, pancreático, melanomas, linfoma de células B y leucemias linfoblásticas [158–166].

6.4.4. Ciclooxygenasa-2

Durante la inflamación crónica la sobreexpresión de COX-2 y sus principales productos metabólicos (PGH₂ PGE₂), no es resultado de alteraciones genéticas o epigenéticas, sino de su constante inducción por su principal factor de transcripción,

NF- κ B [167]. Esta enzima además de incrementar la permeabilidad celular y permitir el reclutamiento de un número mayor de células inmunes al sitio inflamado, participa en la evolución tumoral. De hecho, existe una amplia evidencia experimental de su participación en la carcinogénesis. Por ejemplo, en modelos murinos transgénicos donde la expresión del gen de COX-2 está bajo el control del promotor viral del tumor mamario murino (MMTV), se ha demostrado que la sobre-expresión de COX-2 y algunos de sus productos como PGE₂ favorecen el desarrollo de tumores de mama [168]. De forma análoga, en modelos murinos de carcinogénesis química, la ciclooxigenasa funciona como un agente promotor efectivo favoreciendo el desarrollo de tumores de piel y de neoplasias gástricas, iniciados con 7,12-dimetilbenz[a]antraceno (DMBA) y *N*-metil-*N*-nitrosourea, respectivamente [169, 170]. Incluso en algunos modelos la sobre-expresión de COX-2 es suficiente para causar hiperplasia y posteriormente carcinomas en la vejiga urinaria [171, 171]. En contraste, en modelos murinos de carcinogénesis *knockout* para COX-2 o tratados con inhibidores selectivos de COX-2 se ha descrito un incremento en la resistencia al desarrollo de tumores intestinales, de piel, mama y pulmón y una reducción significativa en el tamaño y multiplicidad de tumores de mama [173–179]. De tal suerte que la elevada expresión de COX-2 que se presenta en la inflamación crónica además de inducir vasodilatación, es determinante en la etiología tumoral. Dentro de los mecanismos mediante los cuales COX-2 participa en la carcinogénesis, se ha descrito su capacidad para inducir lesiones en el DNA (aductos), mediante la oxidación de su sustrato (araquidonato), que favorece la producción de radicales libres altamente mutagénicos, principalmente ROS [180]. Complementariamente, se ha descrito que la ruptura espontánea de productos de la COX-2 (PGH₂) o su catálisis vía enzimas del sistema P450 produce especies altamente mutagénicas como el malondialdehído (MDA). Estos productos pueden reaccionar con el DNA formando aductos de deoxiguanosina [181, 182].

Además, se ha demostrado que la sobreexpresión de COX-2 y sus productos (prostaglandinas), participan directamente en la regulación de procesos clave en la carcinogénesis, como el control de la proliferación, apoptosis, angiogénesis e invasión celular. Por ejemplo, COX-2 favorece un fenotipo hiperproliferativo, mediante la activación de los receptores de prostaglandina E₂ (particularmente EP₂, EP₄), que a su vez regulan rutas como la de β -catenina-TCF [183, 184]. Dicha vía controla a nivel transcripcional la expresión de componentes claves en la progresión del ciclo celular como ciclina D y *c-myc*. Además, COX-2 a través de PGE₂, también contribuye a la

estimulación autócrina de EGFR al inducir la expresión de amfiregulina, uno de sus ligandos y al transactivar al propio EGFR vía la activación de *Src* [185, 186].

En lo referente a la regulación de los procesos de muerte celular, la sobre-activación de COX-2 permite la evasión de la apoptosis al inhibir la producción de ceramida (un efectivo inductor de apoptosis) y favorecer la sobre-expresión de algunas proteínas antiapoptóticas como la survivina *Mcl-1* y *Bcl-2* [187–189]. Adicionalmente, se ha descrito que la activación de COX-2 induce algunas vías de sobrevivencia como la de Akt y la de NF- κ B [190, 191]. En cuanto a la regulación de la angiogénesis, COX-2 se asocia a una mayor expresión de factores de crecimiento proangiogénicos como VEGF y FGFb [192, 193]. También, estimula la adhesión y migración de las células endoteliales dependiente de la integrina $\alpha_v\beta_3$ y de la GTPasa, Rac [194]. Adicionalmente, puede promover la linfangiogénesis a través de la regulación positiva de la expresión de VEGF-C [195]. Finalmente, COX-2 participa en los procesos metastásicos facilitando la degradación de la membrana basal y de la MEC, correlacionándose su expresión con la de enzimas tipo MMP-2 y -9 [196, 197]. Además, induce la expresión del receptor CD44 del hialuronato, de glicosiltransferasas, antígenos tipo sialilo de Lewis y de la vía de PI3K/Akt [190, 198, 199]. Con todo ello, se facilita, la adhesión de las células tumorales al endotelio y la migración celular; siendo estos eventos fundamentales para la adquisición de un fenotipo invasivo.

La expresión alterada de COX-2 y sus productos se ha reportado en adenocarcinomas pulmonares, tumores de mama, colorectales, de ovario, prostático, glioblastomas, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, endometriales, vejiga, y hepatocarcinomas [200–209].

6.4.5. Óxido nítrico sintasa inducible

De manera similar al caso de COX-2, en el contexto de la inflamación crónica asociada a la carcinogénesis, la sobreexpresión de iNOS es básicamente resultado de la elevada producción de citocinas proinflamatorias (como TNF) que inducen la sobreactivación de NF κ B. Además otras rutas alternas que controlan la expresión de iNOS frecuentemente desreguladas en cáncer, incluyen la de JAK–STAT y la de las MAPK's. Inclusive, diversos factores de transcripción oncogénicos como el oncogen HIF-1 y el supresor de tumores, p53, actúan como un estimulador y trans-represor de la expresión de iNOS, respectivamente [210–212]. De esta forma, el mantenimiento de

una expresión elevada de iNOS en procesos inflamatorios crónicos asociados a tumores secundarios, se ha descrito como un factor que contribuye al desarrollo neoplásico. Por ejemplo, la expresión desregulada de iNOS es un evento recurrente en modelos animales de carcinogénesis química de colon, inducida con Azoximetano, tumores de piel, derivados del tratamiento con ciclos repetitivos de DMBA/TPA y de cáncer pancreático derivado del tratamiento con N-nitrobis(2-oxopropil)amina [213–215]. En congruencia con lo anterior, en diferentes modelos *knockout* para iNOS, se ha descrito una disminución en la tumorigénesis colorectal y de pulmón, en la incidencia de adenocarcinomas gástricos y en el crecimiento de melanomas [216–218].

De esta forma, la activación desregulada de iNOS, producto de la inflamación crónica, no solamente genera una gran cantidad de RNS que permiten la inducción de un ambiente promutagénico [219]; sino que de manera complementaria, los niveles elevados de NO favorecen la S-nitrosilación e inactivación de diferentes enzimas de reparación de daño al DNA (alquil transferasa, O₆-metilguanina-DNA-metil transferasa y la DNA ligasa). Con ello se incrementan las probabilidades de que se produzcan y fijen las mutaciones producto del estrés nitrosativo, sin ser reparadas [220, 221]. De hecho, una sobreactivación de iNOS se asocia positivamente con una frecuencia elevada de transiciones G:C→A:T en el codon 248 de p53 en tumores colónicos, de estómago, cerebro y mama [222, 223]. En consecuencia, dichas proteínas mutantes no pueden activar su programa transcripcional proapoptótico y funcionar como transrepresores de iNOS. Por lo tanto, la desregulación de iNOS y consecuentemente la elevada producción de NO en los tumores se constituye, no solamente en un mecanismo inductor de mutaciones inactivantes de p53, sino también en un mecanismo que le permite a la enzima incrementar sus propios niveles al inactivar a un represor de su expresión, como lo es p53.

Por otra parte, también existe evidencia experimental que ha demostrado que la sobreexpresión de iNOS afecta vías de señalización reguladoras de la proliferación, apoptosis, angiogénesis y metástasis. En el primer caso, la actividad desregulada de iNOS, induce la S-nitrosilación de la Cys118 de p21Ras e incrementa significativamente la síntesis de GMPc. Ambos eventos estimulan la actividad de Ras y consecuentemente de la vía de las MAPK's, induciendo con ello un aumento en la proliferación celular [224]. En cuanto a la evasión de la apoptosis, la iNOS puede inhibir la muerte celular al favorecer un incremento en los niveles de la proteína antiapoptótica Bcl-2 y el inhibidor de la vía extrínseca apoptótica c-FLIP tras S-

nitrosilarlas e inhibir su ubiquitinación y subsecuente degradación proteosómica [225, 226]. En contraste, este mecanismo de S-nitrosilación a nivel de residuos de cisteína claves de las caspasas induce su inactivación [227, 228]. De esta forma, el NO puede inhibir la liberación de *citocromo c* de la mitocondria al impedir el procesamiento proteolítico de las proteínas proapoptóticas Bid y antiapoptóticas Bcl-2, tras nitrosilar e inhibir a las caspasas -8, y -3 que activan a Bid y degradan a Bcl-2, respectivamente [229]. En estudios *in vitro*, se ha reportado que los altos niveles de NO producto de la sobreactivación de iNOS inhiben el ensamblaje del apoptosoma [230]. De tal suerte que ambas estrategias permiten evadir la vía intrínseca apoptótica. En lo referente a la angiogénesis tumoral, la sobreproducción de NO, producto de la desregulación de iNOS, es capaz de reaccionar con el grupo prostético (Fe) de la prolina hidroxilasa-2 induciendo su inhibición y permitiendo la estabilización de HIF-1 α . Análogamente el NO puede reaccionar con la Cys 520 de HIF-1 α formando un S-nitrosotiol que evita la unión de pVHL y consecuentemente su degradación proteosómica. En ambos casos con la estabilización de HIF-1 α , se favorece su translocación nuclear y una mayor expresión de VEGF y otros moduladores proangiogénicos [231–233].

Finalmente, en lo referente a procesos metastásicos, los niveles elevados de NO modulan la expresión de moléculas de adhesión (integrina $\alpha_v\beta_3$) y de toda una batería de enzimas proteolíticas (estromelisina, MMP-2,-9,-13, activador de plasminógeno tipo urocinasa (uPA)). Las anteriores, contribuyen a la ruptura de la membrana basal y la migración celular. Además la S-nitrosilación de *Src* favorece la pérdida de las uniones celulares, facilitando la movilidad e invasión celular [234–238]. Complementariamente, a favor de este proceso algunas RNS pueden aumentar la estabilidad de las MMPs al regular negativamente a sus inhibidores, TIMPs (del inglés, *tissue inhibitor of metalloproteinases*). Por ejemplo, el NO es capaz de nitrosilar e inhibir a TIMP-1 [239]. De esta forma los productos de la sobreactivación de iNOS (NO, RNS); no solamente estimulan de forma directa la desregulación de vías de señalización importantes en la carcinogénesis, sino que también lo hacen de forma indirecta al favorecer la inhibición de los reguladores negativos de dichas rutas.

La participación de la expresión desregulada de iNOS como un factor importante en la evolución de las distintas etapas limitantes en el desarrollo neoplásico se ha descrito en gliomas, en tumores de tiroides, ovario, mama, colon, próstata, vejiga, pulmón y hepatocarcinomas [240–248].

6.5. CAPÍTULO V.

LA RUTA NRF2-KEAP1 SU PARTICIPACIÓN EN LA INFLAMACIÓN Y EN LA PATOGÉNESIS DEL CÁNCER

6.5.1. Introducción

Como se discutió en el capítulo precedente, uno de los vínculos etiológicos comunes a la inflamación crónica y cáncer es la elevada producción de ROS y RNS, que funcionan como agentes mutagénicos y claramente citotóxicos. En condiciones normales, la célula contrarresta dichos efectos debido a que ha desarrollado una serie de mecanismos protectores contra el estrés oxidativo y que le permiten mantener la homeostasis celular. Una de las principales rutas de señalización con funciones antioxidantes y citoprotectoras es la del factor 2 relacionado con NF-E2 (Nrf2), cuya desregulación, recientemente se ha descrito como un factor importante en desarrollo de procesos inflamatorios y de algunos tipos de cáncer. Por ello, en este capítulo se pretende revisar con mayor detalle la ruta de Nrf2 y su relación con dichos padecimientos.

6.5.2. La Ruta NRF2-KEAP1

El factor de transcripción Nrf2 pertenece a una familia de proteínas básicas con un dominio de cierre de leucinas (bZip) en la región C-terminal. La región básica de la proteína es la responsable de la unión al DNA, mientras que la región ácida es requerida para la activación transcripcional. Además posee una región homóloga a la proteína "cap'n'collar" (CNC) de *Drosophila*, altamente conservada entre las proteínas de la familia CNC.

Nrf2 es codificado por el gen NFE2L2, formado por 5 exones y cuatro intrones: se ubica en la región cromosómica 2q31 [249].

A nivel estructural Nrf2, cuenta con seis dominios de homología Nrf2-ECH (Neh1-6). Neh1 involucra los dominios CNC-bZIP que le permiten a Nrf2 formar heterodímeros con el dominio ZIP de otros reguladores (proteínas Maf). Neh2 contiene dos motivos altamente conservados, ²⁹DLG₃₁ y ⁷⁹ETGE₈₂, a través de los cuales interacciona con la proteína inhibitoria Keap1 (del inglés, *Kelch-like ECH associated protein -1*). Además, Neh2 a nivel de su N-terminal contiene siete residuos de lisina que sirven para la conjugación de ubiquitina, mediada en gran parte por la interacción con *Keap1*. En consecuencia, Neh2 es importante para la degradación de Nrf2. Por otra

parte, el dominio Neh3 se localiza en el extremo C-terminal de Nrf2 y junto con los dominios Neh4 y Neh5 son importantes para la función de transactivación de la proteína. Finalmente, en la región vinculante de los dominios Neh4 y Neh5 se localiza Neh6; este dominio contiene una secuencia de marcaje para la degradación de Nrf2, (Fig. 10) [250–253].

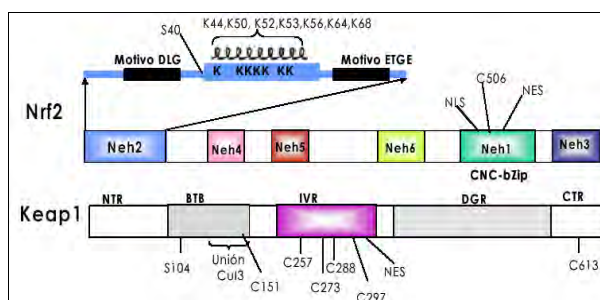


Figura 10. Dominios de interacción entre Keap1 y Nrf2. El dominio Neh2 de Nrf2, mediante los motivos ETGE y DLG se une al dominio DRG de Keap1, mientras que IVR contiene los residuos de Cys (C) capaces de oxidarse [253].

6.5.3. Activación de Nrf2

La activación de Nrf2 depende de la presencia de una gran cantidad de factores tanto exógenos como endógenos. Dentro de los factores exógenos destacan xenobióticos, metales pesados, luz UV y radiación ionizante. Dentro de los endógenos se cuentan diversos procesos fisiológicos generadores de estrés oxidativo tales como la activación de fagocitos durante la inflamación, procesos citotóxicos tipo “estallidos respiratorios”, fosforilación oxidativa y reacciones de auto-oxidación [254, 255].

En condiciones basales la expresión y traducción de Nrf2 se mantiene de manera constante. Sin embargo, la proteína es retenida y degradada en el citoplasma a través de su interacción con el represor citosólico Keap1. La proteína Keap1 contiene cinco dominios: una región amino terminal (NTR), un dominio BTB (del inglés, *broad complex tramtrack and bric a brac*), una región IVR (del inglés, *Intervening region*) con una secuencia de exportación nuclear, una repetición de glicinas Kelch/DGR (del inglés, *Kelch/double glycin repeat*) y un dominio carboxilo terminal (CTR) [252].

Keap1 se asocia en forma de dímero con el dominio Neh2 de Nrf2 a través de una serie de residuos altamente conservados de arginina (Arg380, 415, 483), serina (Ser363, 508) y asparagina (Asn382) ubicados dentro de su dominio Kelch/DGR. Este dominio interacciona con una afinidad elevada con el motivo ²⁹DLG₃₁ y con una afinidad baja, con el motivo ⁷⁹ETGE₈₂ del dominio Neh2 de Nrf2 [250, 256]. Keap1 se ubica principalmente en el citoplasma anclado a filamentos de actina del citoesqueleto vía su dominio Kelch/DGR. Dada esta localización Keap1 puede retener a Nrf2 en el citoplasma.

Keap1 funciona como una molécula adaptadora capaz de reclutar vía su dominio BTB al complejo de E3 ligasa dependiente de culina-3. De esta forma, Keap1 regula la degradación vía proteosoma de Nrf2 al permitir la conjugación de ubiquitina a distintos residuos de lisina ubicados dentro del dominio Neh2 de Nrf2 [250–252]. Se ha propuesto que una región central α -hélice de 33 a.a. y 50 Å de longitud entre los motivos DLG y ETGE de Nrf2 permitiría la unión a Keap1. Dicha interacción generaría una conformación determinada en Nrf2 que facilitaría la correcta ubiquitinación de los residuos de lisina, necesarios para la degradación de la proteína.

Se ha propuesto que Keap1 podría funcionar como un sensor del microambiente oxidante. De esta forma, en condiciones de elevado estrés oxidativo los residuos de cisteína (27 residuos) presentes en Keap1 podrían ser modificados químicamente, lo cual a nivel estructural produciría un cambio conformacional profundo en la molécula que afectaría su interacción con Nrf2, favoreciendo finalmente la disociación del complejo Nrf2/Keap1 [252, 256, 257].

Un modelo alternativo propone que el cambio conformacional de Keap1 en respuesta al estrés oxidativo solamente favorecería la pérdida de la interacción fuerte, entre el motivo DLG de Nrf2 y Keap1. Como resultado de dicha modificación estructural se produciría la pérdida de la orientación apropiada de la α -hélice de Neh2 y con ello la efectiva ubiquitinación de los residuos de lisina claves de Nrf2; sin embargo, se mantendría la interacción de baja afinidad entre el dominio Kelch/DGR y el motivo ETGE de Nrf2. En dicho estado, las moléculas de Keap1 se mantendrían unidas a Nrf2 aunque sin poder inducir su ubiquitinación. La formación de estos dímeros no funcionales provoca la saturación de las distintas moléculas de Keap1 y en consecuencia se tornan incapaces de establecer nuevas interacciones funcionales con las moléculas de Nrf2 recién sintetizadas evitando de esta forma su secuestro citoplasmático y posible degradación (Fig. 11).

En ambos modelos, al liberar a Nrf2 de la represión por Keap1 el factor de transcripción se transloca al núcleo a través de una secuencia de señalización nuclear de su región básica. A nivel nuclear, Nrf2 heterodimeriza con las proteínas small Maf (miembros de la familia de factores de transcripción AP-1) uniéndose a los elementos de respuesta antioxidante (ARE, del inglés *antioxidant response element*) conformados por la secuencia consenso 5' - ^A/_GTGA^C/_GNNNGC^A/_G-3' [252, 258, 259].

Además de la función represora de Keap1, la actividad de la proteína Nrf2 puede ser modulada por su estado de fosforilación pudiendo ser fosforilada por las cinasas:

PKC, ERK-1 y PERK. Dichas modificaciones al parecer facilitan su disociación de Keap1 y su exportación nuclear [260–262].

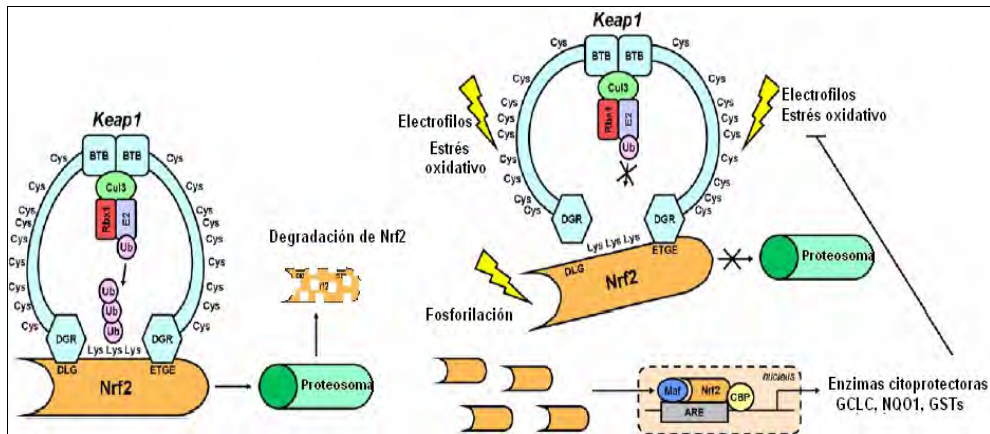


Figura 11. Modelo de interacción entre Nrf2 y Keap1. Lo oxidación de las cisteínas de Keap1 induce un cambio conformacional que permite la liberación del motivo DLG de Nrf2, que se posiciona en una orientación espacial que no permite que sea ubiquitinado Nrf2. Libre de la represión de Keap1, Nrf2 se puede translocar al núcleo donde controla la expresión de genes antioxidantes y citoprotectores [250].

6.5.4. Genes regulados por Nrf2

Ensayos de micro-arreglos de expresión han mostrado la existencia de casi 200 genes regulados por Nrf2 que dependen de distintos tipos de inductores. Los genes blanco se agrupan en varias categorías: (1) *enzimas metabolizadoras de xenobióticos de fase II* como la glutatión-S-transferasa (GST), NAD(P)H quinona oxidoreductasa-1 (NQO1), UDP-glucuronosiltransferasa (UDP-GTS), epóxido hidrolasa (EH), Aflatoxina B₁ aldehído reductasa (AFAR), que metabolizan los xenobióticos a formas menos tóxicas o incrementan su solubilidad para facilitar su eliminación; (2) *antioxidantes y sus enzimas moduladoras* como el glutamato cisteína ligasa (GCL), superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión reductasa (GR), tioredoxina reductasa (TrxR), peroxiredoxina (Prx), nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH), estas enzimas reducen los niveles de ROS; (3) *proteínas de respuesta anti-inflamatoria* como hemo-oxigenasa (HO-1), ferritina, leucotrieno B₄ dehidrogenasa, constituyen un mecanismo de respuesta antioxidante; (4) *transportadores* tales como las proteínas asociadas a resistencia a multidroga, controlan la entrada y salida de sustancias endógenas y xenobióticos; (5) *chaperonas* como Hsp40, Hsp68, Hsp84, Hsp86, importantes en el adecuado plegamiento proteico; (6) *factores de crecimiento* como FGF, HGF, neuregulina 1, TGF- α , TGF- β 1, β 2 y (7) receptores de factores de crecimiento como el receptor Eph A2 y A3, receptor de TGF- β II; que estimulan la proliferación; (8) *factores de transcripción* como Maf F, Maf G, Nrf2 y PPAR- δ , los

cuales transcriben diferentes genes con funciones antioxidantes y (9) *enzimas de reparación del DNA* que mantienen la estabilidad genética [263, 264].

6.5.5. Nrf2 y cáncer

Como se ha señalado, en condiciones normales la inducción de enzimas detoxificantes o antioxidantes dependientes de Nrf2 representa uno de los componentes más importantes de los mecanismos de defensa celular que evita el daño al material genético producido por compuestos oxidativos (tipo ROS) y electrofílicos (producidos por diferentes carcinógenos) [265]. De hecho, diferentes modelos murinos *knock-out* para Nrf2 muestran una mayor sensibilidad a diversos carcinógenos, una frecuencia elevada de mutaciones espontáneas en pulmones e hígado, una exacerbada formación de aductos en la parte anterior del estómago y un mayor desarrollo de neoplasias gástricas tras la exposición a Benzo[a]pireno (B[a]P) [266–268]. También se ha reportado un aumento en la formación de aductos tipo 8-hidroxideoxiguanosina y desarrollos hiperplásicos en el epitelio bronquial como resultado del tratamiento con partículas de diesel [269]. Además, la incidencia de tumores de vejiga *in situ* e invasivos derivados del tratamiento con *N*-nitrosobutil(4-hidroxibutil)amina se incrementan en ausencia de Nrf2 [270].

La delección de Nrf2 también produce un aumento en el número de marcadores proinflamatorios, focos de criptas aberrantes y en la incidencia, tamaño y número de tumores colorectales en un modelo tratado con Azoximetano (AOM)/Dextran sulfato de sodio (DSS) [271, 272]. Finalmente, se ha observado un incremento en la incidencia y multiplicidad de adenomas carcinomas hepatocelulares y de papilomas de piel producto del tratamiento con 2-amino-3metilimidazo[4,5-*f*]quinolina y la exposición a DMBA/TPA, respectivamente [273, 274].

Los datos anteriores sugieren que Nrf2 participa de manera importante en la protección celular contra la carcinogénesis. En congruencia con lo anterior, el uso de diferentes inductores de la vía de señalización de Nrf2 que se encuentran en algunos alimentos como sulforafán (Brócoli), curcumina (Curry), epigallocatequina galato (té verde) y medicamentos como el oltipraz, han mostrado una actividad quimiopreventora en diferentes modelos animales de carcinogénesis [275–280].

Contrario al papel de la ruta de Nrf2-Keap1 como un importante mecanismo de defensa contra el desarrollo carcinogénico, también se ha demostrado que la sobreexpresión de Nrf2 y de sus genes blanco confiere resistencia a distintas drogas

quimioterapéuticas en líneas celulares de cáncer pulmonar, ovárico, mama, del tracto biliar y neuroblastoma. Por otro lado, la inhibición de la sobreexpresión de Nrf2 en líneas celulares tumorales con un fenotipo quimioresistente permite reestablecer su sensibilidad a drogas como cisplatino, doxorubicina y 5-Flurouracilo [281–284] y en modelos *in vivo* de tumorigénesis, se ha reportado que el uso conjunto de carboplatino y un RNAi contra Nrf2, en el tratamiento de un tumor subcutáneo generado con una línea celular quimioresistente pulmonar (A549), produce una reducción significativa en la masa y proliferación del tumor, en comparación con el grupo tratado solamente con quimioterapia [586].

A nivel genético, en biopsias de tumores pulmonares se han reportado mutaciones tanto en Nrf2 como en Keap1 [286, 287]. El efecto funcional de estas mutaciones involucran un incremento de la actividad transcripcional de Nrf2 y por lo tanto la posible adquisición de un fenotipo quimioresistente. De forma análoga, en pacientes de cáncer pulmonar y de cabeza y cuello se han identificado mutaciones somáticas en los dominios ETGE y DLG de Nrf2, las cuales afectan la interacción de Nrf2 con Keap1 y en consecuencia la inhibición del primero [288]. Otras alteraciones de Keap1 descritas con repercusiones funcionales similares incluyen la pérdida bi-alélica en cáncer pulmonar de células no pequeñas, mutaciones dentro de los dominios DGR y IVR que modifican la conformación de Keap1 e impiden una adecuada ubiquitinación de Nrf2, y el silenciamiento epigenético de Keap1 en muestras y líneas celulares de cáncer pulmonar [289–291].

De esta forma, la participación de la ruta Nrf2-Keap1 en la carcinogénesis parece tener una naturaleza dual, ya que por una parte la inducción regulada de la expresión de Nrf2 en células normales tiene un efecto protector contra diferentes carcinógenos, mientras que en ciertos tipos tumorales su sobreexpresión se asocia a la adquisición de resistencia a distintos fármacos antineoplásicos.

6.5.6. Nrf2 e inflamación

La ruta de Nrf2 es clave en el control del microambiente oxidante inducido por la inflamación crónica [593]. De hecho, en modelos murinos *knockout* para Nrf2 se ha reportado que la desregulación de la expresión de vías de señalización y mediadores inflamatorios incrementa la susceptibilidad al desarrollo de distintas patologías, en comparación con los grupos controles (Nrf2 +/+) correspondientes. Por ejemplo, se ha descrito en modelos murinos con una nula expresión de Nrf2 una mayor susceptibilidad

a desarrollar: a) enfisemas inducidos por la acción de elastasas o por humo de tabaco, caracterizados por una acumulación significativa de neutrófilos [292, 293]; b) asma inducida por exposición a ovalbúmina, caracterizada por una mayor expresión de IL-4, IL-13 [294]; c) una elevada permeabilidad vascular e inflamación alveolar con acumulación de neutrófilos y aumento en los niveles de IL-6, IL-12 y G-CSF en respuesta al procedimiento terapéutico de ventilación mecánica [295]; d) inflamación de las vías aéreas por inhalación de partículas de diesel [296], entre otros padecimientos generados por distintos inductores inflamatorios [297–300]. Por otra parte, en el tejido hepático la ausencia de Nrf2 favorece: 1) el desarrollo de esteatohepatitis con elevada expresión de IL-1 β , TNF- α , NF- κ B, COX-2 e iNOS, en respuesta a una dieta deficiente en colina y metionina [301, 302]; 2) el desarrollo de fibrosis hepática inducida por tetracloruro de carbono [303] y c) daño hepático agudo inducido por concavalina [304].

Finalmente en otros órganos la ausencia de Nrf2 produce una respuesta inflamatoria intestinal, cerebral y de daño pulmonar agudo con una elevada producción de TNF- α , IL-1 β , IL-6, ICAM-1 y NF- κ B, en modelos de daño cerebral traumático [305–307]; una mayor susceptibilidad al desarrollo de colitis inducida por DSS en un modelo murino asociada a un incremento paralelo en COX-2, iNOS, IL-1 β , IL-6 [308]; inflamación crónica cerebral caracterizada por mayores niveles de iNOS, IL-6, TNF- α , en respuesta a LPS [309] y el desarrollo espontáneo de síndromes autoinmunes tipo lupus [310].

A nivel genético, aunque no hay reportes asociados a la pérdida germinal o somática de Nrf2, se ha descrito la presencia de polimorfismos de Nrf2 que se asocian a una disminución en su actividad y a una mayor predisposición a desarrollar determinados padecimientos inflamatorios crónicos. Particularmente, los polimorfismos -617 (C/A) y -653 (A/G) ubicados en la región promotora del gen se han vinculado con el desarrollo de inflamación en la mucosa gástrica infectada con *H. pylori* y con la evolución de procesos de colitis ulcerativa y úlceras gástricas en humanos [311–313], así como con un riesgo mayor de desarrollar daño pulmonar agudo [249].

Los datos anteriores indican la importancia de una adecuada funcionalidad de la ruta de Nrf2 para prevenir el desarrollo de procesos inflamatorios crónicos y en consecuencia de crecimientos neoplásicos secundarios.

7. DISCUSIÓN

Actualmente se acepta ampliamente que los distintos tipos tumorales comparten al menos seis alteraciones esenciales en la fisiología celular: *autonomía de señales de crecimiento, evasión de las señales inhibitorias de crecimiento, potencial replicativo ilimitado, evasión de la apoptosis, angiogénesis e invasión y metastásis*. Sin embargo, la creciente evidencia experimental sobre el vínculo entre el microambiente inflamatorio y el cáncer ha favorecido que algunos autores como Mantovani A. (2009), propongan a la *inflamación crónica*, como la séptima característica determinante en el desarrollo neoplásico [314]. La anterior propuesta se fundamenta en que como se ha señalado en este trabajo, en condiciones normales el proceso inflamatorio se inicia en respuesta a un daño tisular generado por algún patógeno u agente exógeno, con el objetivo de eliminar a dichos inductores de daño y finalmente reparar la lesión y reestablecer paulatinamente la homeostasis celular. Sin embargo, cuando el agente inductor de daño no se puede eliminar, se produce un estado de inflamación crónica asociado a la producción de altos niveles de radicales libres y la desregulación de diversas vías de señalización que regulan la proliferación y sobrevivencia celular.

La participación de la inflamación crónica en la patogénesis del cáncer se basa en los constantes ciclos de daño y regeneración tisular caracterizados por elevados niveles de factores de crecimiento y citocinas que estimulan la proliferación, así como la exacerbada producción de ROS y RNS, que permiten el establecimiento de un microambiente altamente reactivo que induce alteraciones en el DNA, principalmente aductos, descritos en diferentes modelos e incluso en pacientes con padecimientos inflamatorios crónicos asociados a cáncer [106, 124–127]. En dicho ambiente promutagénico, se incrementan las probabilidades de que se induzcan alteraciones genéticas capaces de desregular la expresión y actividad de diversos oncogenes y supresores tumorales. De hecho, tales alteraciones se han reportado en tumores secundarios a procesos inflamatorios crónicos [128–136].

Adicionalmente, un segundo mecanismo que vincula la inflamación crónica a la carcinogénesis, incluye la activación de vías de señalización como la de NF- κ B, COX-2 e iNOS cuya desregulación permite el establecimiento de circuitos nocivos de retroalimentación positiva caracterizados por la sobreactivación de NF- κ B, que a su vez, induce la sobreexpresión de COX-2 e iNOS. Lo anterior, no sólo permite la amplificación exacerbada de la respuesta inflamatoria sino que favorece la

desregulación de procesos de proliferación, apoptosis, vascularización e invasión celular, como ya se discutió ampliamente en el capítulo 4.

De esta manera, como resultado de la creciente evidencia de la participación de la inflamación en la patogénesis del cáncer, se ha buscado evaluar en distintos modelos experimentales el potencial terapéutico asociado a la inhibición de diversos mediadores inflamatorios para el tratamiento del cáncer. Una de las principales moléculas que se ha evaluado desde dicha perspectiva es la enzima proinflamatoria COX-2, debido a que en diferentes modelos experimentales se ha demostrado que su inhibición tiene un efecto antitumoral [173–179]. Sin embargo, el uso de terapias inhibitorias de COX-2 en el tratamiento de distintas neoplasias, no se encuentra ampliamente extendido debido a que su funcionamiento exitoso, se limita únicamente a determinados tipos tumorales (como el cáncer colorectal) y su uso se ha descrito asociado a una serie de efectos adversos, como un incremento en el riesgo de desarrollar diferentes afecciones cardiovasculares, edemas y nefrotoxicidad [315–318].

De manera análoga, como se ha mencionado en este trabajo, el uso de diferentes estrategias inhibitorias de NF- κ B, tiene un efecto antitumoral [142–150]. No obstante, este tipo de terapias tiene el inconveniente de que una inhibición excesiva y prolongada de NF- κ B puede llegar a producir un fenómeno de inmunosupresión y una elevada producción de IL-1 β favorece choques sépticos en presencia de infecciones bacterianas [319]. Por ello, en general las terapias anti-NF- κ B tienen una baja eficiencia en la prevención del cáncer, funcionando de mejor forma como adyuvantes en los esquemas de radioterapia o quimioterapia siempre y cuando se administren de forma intermitente y por periodos cortos [320].

Finalmente, en el caso del potencial terapéutico de iNOS existe una gran controversia acerca del efecto final de su inhibición, ya que este se ha demostrado que puede ser de naturaleza antitumoral o protumoral [321]. Por ejemplo, como ya se ha discutido, existen múltiples reportes de modelos murinos de carcinogénesis en los cuales una nula expresión de iNOS se asocia a una disminución en la incidencia de distintos tipos tumorales, como melanomas, cáncer pulmonar y colorectal [215–218]. En contraste, se ha descrito que la administración de inhibidores de iNOS, puede favorecer la formación de lesiones pre-neoplásicas y procesos metastásicos, en modelos *in vivo* de cáncer de colón y melanoma [322, 323]. Este tipo de resultados experimentales contradictorios, muestran que el uso de estrategias moduladoras de la

expresión de iNOS con fines terapéuticos en humanos, involucra un riesgo potencial elevado que evidencia la necesidad de comprender todos los factores del microambiente tumoral con los que interactúa esta enzima, antes de suponer su traslado a la clínica [219, 321].

Dado que el desarrollo de estrategias terapéuticas contra los mediadores inflamatorios anteriormente descritos se asocia a una gran cantidad de efectos secundarios adversos y contradictorios, se torna factible evaluar el potencial terapéutico y quimiopreventivo de otras vías de señalización, menos pleiotrópicas y que de manera análoga a NF- κ B, COX-2 e iNOS, se vinculan fuertemente a la patogénesis de procesos inflamatorios crónicos asociados a cáncer, tales como la del factor de transcripción Nrf2.

De esta forma en este trabajo se propone a Nrf2 como un blanco terapéutico interesante ya que regula una batería de genes antioxidantes y citoprotectores cuya adecuada expresión es importante en el control de la evolución de la inflamación crónica. Además, la disminución de la actividad de sistemas antioxidantes inducidos por Nrf2, se ha reportado como un factor etiológico importante y frecuente en distintos modelos experimentales de padecimientos inflamatorios crónicos asociados a cáncer [90, 324, 325]. Por ello, sería importante poder determinar si alteraciones en la ruta de Nrf2 que conducen a su pérdida de funcionalidad, se constituyen en componentes etiológicos determinantes en el desarrollo de neoplasias derivadas de procesos inflamatorios crónicos.

Para conseguir este objetivo, en este trabajo se proponen dos tipos de estrategia experimentales. La primera sería la búsqueda de mutaciones que afectan a Nrf2 en diferentes tumores secundarios a padecimientos inflamatorios crónicos. Dicho planteamiento tendría por objetivo evaluar si las mutaciones en Nrf2 asociadas a cáncer podrían derivar de contextos preneoplásicos asociados a microambientes inflamatorios crónicos. Para ello, se podrían emplear pacientes de cáncer gástrico con antecedentes de gastritis crónica que serían evaluados con base en una serie de planteamientos experimentales concretos:

- 1) Selección de una muestra de pacientes de cáncer gástrico.
- 2) Detección de alteraciones asociadas a la localización celular de Nrf2 en dichos tejidos tumorales, mediante inmunohistoquímica.
- 3) Análisis de mutaciones asociadas a Nrf2, sólo en las muestras donde se encuentre deslocalizado.

La segunda estrategia involucraría el mapeo de polimorfismos funcionales conforme a los siguientes criterios metodológicos:

- 1) Conformación de dos poblaciones, una de ellas constituida por individuos sanos y la otra por pacientes con cáncer gástrico secundario a gastritis crónica
- 2) Identificación de polimorfismos funcionales en los componentes de la ruta Nrf2-Keap1.
- 3) Determinación de la frecuencia de los polimorfismos en los casos y controles
- 4) Buscar definir si los polimorfismos se asocian con la enfermedad ya sea de manera individual o como haplotipos

Cabe señalar, que una consecuencia importante de la identificación de los polimorfismos funcionales asociados a una actividad disminuida de la ruta de Nrf2/Keap1 sería contar con biomarcadores de prevención o tratamiento. Estos marcadores indicarían la pertinencia del uso de determinados agentes quimiopreventores para inducir y reestablecer los niveles convenientes de expresión y consecuentemente de funcionalidad de Nrf2 y sus genes blanco, no sólo en pacientes con patologías inflamatorias crónicas y tumores secundarios, sino también en individuos normales.

Particularmente, en este último grupo, al presentar determinados polimorfismos, se podrían constituir grupos de riesgo, en los cuales mediante toda una estrategia de acciones preventivas (cambios en la dieta, nula ingesta de alcohol, etc.), podría reducirse de forma significativa la incidencia de padecimientos inflamatorios crónicos y de los tipos tumorales asociados.

Este tipo estrategias preventivas en la clínica en un futuro no sólo podrían mejorar la calidad de vida del paciente, sino que además tendrían un impacto económico al permitir ahorrar, los gastos presupuestarios asociados al tratamiento de los padecimientos inflamatorios crónicos y de sus complicaciones más severas; problemas de salud importantes y recurrentes en nuestro país.

8. CONCLUSIONES

- El proceso de inflamación crónica es un promotor del desarrollo tumoral al generar un microambiente celular rico en especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, que favorecen la inducción de alteraciones genéticas en oncogenes y genes supresores de tumor. Además, como resultado de la respuesta regenerativa inducida por el daño inflamatorio, se promueve una exacerbada proliferación celular que disminuye el tiempo para la adecuada reparación de dichas alteraciones genéticas favoreciendo su permanencia en la progenie celular.
- La inflamación crónica asociada a la carcinogénesis también induce la activación de vías de señalización como NF- κ B, COX-2, iNOS cuya desregulación no solamente contribuye a la amplificación de la respuesta inflamatoria, sino que participa directamente en el control de distintos procesos celulares limitantes en la evolución neoplásica como proliferación, apoptosis, angiogénesis y metástasis.
- Algunas terapias anti-inflamatorias que inhiben las vías de señalización comunes a la inflamación y cáncer han demostrado ser estrategias terapéuticas efectivas en el tratamiento de ciertos cánceres en modelos *in vitro*, *in vivo* o incluso en pacientes. Sin embargo, su uso se encuentra limitado por los efectos adversos que se pueden generar como consecuencia de su naturaleza pleiotrópica y su inespecificidad.
- La vía de Nrf2/Keap1 es fundamental para el mantenimiento de la homeostasis celular dada la importante cantidad de genes antioxidantes y citoprotectores que controla. De esta forma, se constituye en un blanco ideal para la quimioprevención de la carcinogénesis asociada al estrés oxidativo derivado de estados de inflamación crónica.

9. LISTA DE ABREVIATURAS

A= Adenina	iNOS= Óxido nítrico sintasa inducible
AFAR= Aflatoxina B ₁ aldehído reductasa	IκBs= Inhibidores de NF-κB
AOM= Azoximetano	IKK= Cinasa de IκB
B[a]P= Benzo[a]pireno	LPS= Lipopolisacáridos
C= Citocina	MMP= Matriz metaloproteinasas
CAT= Catalasa	NADPH= Nicotinamida adenina dinucleótido
CDK= Cinasas dependientes de ciclinas	fosfato
CKI= Inhibidores de CDKs	NF-κB = Factor nuclear kappa B
COX-2= Ciclooxygenasa-2	NQO1= NAD(P)H quinona oxidoreductasa-1
CRP= Proteína Reactiva C	NLR= Receptores tipo NOD
CSP= Colangitis esclerosa primaria	NO= Óxido nítrico
DD= Dominios de muerte	Nrf2= factor 2 relacionado con NF-E2
DED= Dominios efectores de muerte	PAMP= Patrones moleculares asociados a patógenos
DISC= Complejo de señalización inductor de Muerte	PG= Prostaglandinas
DMBA=12-dimetilbenzo[a]antraceno	Prx= Peroxiredoxina
DNA= Ácido Desoxirribonucleico	PKC = Proteína Cinasa C
DSS= Dextran sulfato de sodio	PLA= Fosfolipasa A
EMC= Matriz extracelular	RNA= Ácido Ribonucleico
EGF= Factor de crecimiento epidérmico	Rb= Retinoblastoma
EGFR= Receptores de EGF	RIP= Proteína de interacción con el receptor
EH= Epóxido hidrolasa	RNS= Especies reactivas de nitrógeno
ERG= Enfermedad del reflujo gastrointestinal	ROS= Especies reactivas de oxígeno
FAK= Cinasa de adhesión focal	SAA= Amiloide sérico A
FGF _b = Factor de crecimiento de fibroblastos básico	SOD= Duperóxido dismutasa
G= Guanina	T= Timina
GCL= Glutamato cisteína ligasa	TAB=Proteína de unión a TAK
G-CSF= Factor estimulador de Granulocitos	TAK= Cinasa activadora de TGF-β
GM-CSF= Factor estimulador de Granulocitos– Macrófagos	TGF-β= Factor de crecimiento transformante beta
GR= Glutación reductasa	TLR= Receptores tipo Toll
GST= Glutación-S-transferasa	TNF= Factor de Necrosis Tumoral
HBV= Virus de la Hepatitis C	TNBS= Ácido sulfónico y trinitrobenzoceno
HCV= Virus de la hepatitis C	TNFR= Receptor de TNF
HGF= Factor de crecimiento hepático	TPA= 12-O-tetradecanoil-forbol-13-acetato
HIF= Factor inducible por hipoxia	TRAF= Factor asociado al receptor de TNF
HPV= Virus del Papiloma Humano	TrxR= Tioeredoxina reductasa
IAP= Proteínas inhibidoras de la apoptosis	UDP-GTS= UDP-glucoronosiltransferasa
IBD= Enfermedad inflamatoria del intestino	UV= Luz Ultravioleta
IL= Interleucina	VEGF= Factor de crecimiento vascular endotelial

10. REFERENCIAS

- [1] Roitt Ivan, Brostoff Jonathan, Male David. 2000. *Inmunología*. 5ta. ed. Harcourt, España
- [2] Thun MJ., Henley SJ, Gansler T. *Inflammation and cancer: an epidemiological perspective*. Novartis Found Symp. (2004)256:6-21
- [3] Ruddon, Raymond W. 2007. *Cancer biology*. 4th ed. Oxford University, USA.
- [4] <http://www.who.int/en/>
- [5] <http://portal.salud.gob.mx/>
- [6] Calaf Gloria, Hei Tom K. *Carcinogénesis por radiación*. En: Bonfil Daniel R., Scharovsky Graciela O. 2003. *Oncología Molecular y Celular*. Editorial Dunken, Buenos Aires. pp. 113-124.
- [7] Toroella Kouri Marta, Villa Treva Saúl. 1998. *Bases genéticas del cáncer*. INCAN-FCE, México.
- [8] Bignold L. P. *Initiation of genetic instability and tumour formation: a review and hypothesis of a nongenotoxic mechanism*. Cell. Mol. Life Sci. (2003)60: 1107-1117
- [9] Oliveira Paula A., Colaço Aura, Chaves Raquel, Guedes-Pinto Henrique, De-La-Cruz Luis F. P., Lopes Carlos. *Chemical carcinogenesis*. Anais da Academia Brasileira de Ciências (2007)79(4): 593-616
- [10] Barrett J. Carl, Wiseman Roger W. *Cellular and Molecular Mechanisms of Multistep Carcinogenesis: Relevance to Carcinogen Risk Assessment*. Environmental Health Perspectives(1987)76: 65-70.
- [11] Yuspa Stuart H., Shields Peter G. *Etiología del cáncer: factores químicos*. En: Bonfil Daniel R., Scharovsky Graciela O. 2003. *Oncología Molecular y Celular*. Editorial Dunken, Buenos Aires pp.185-202
- [12] Fukushima Shoji, Kinoshita Anna, Puatanachokchai Rawiwan, Kushida Masahiko, Wanibuchi Hideki, Morimura Keiichirou. *Hormesis and dose-response-mediated mechanisms in carcinogenesis: evidence for a threshold in carcinogenicity of non-genotoxic carcinogens*. Carcinogenesis (2005)26(11): 1835-1845
- [13] Pecorino Lauren. 2008. *Molecular Biology of Cancer. Mechanisms, Targets, and Therapeutics*. 2nd ed. Oxford University Press, EUA
- [14] Kopnin B. P. *Biochemistry (Moscow)* (2000)65(1): 2-27
- [15] Macleod Kay. *Tumor suppressor genes*. Current Opinion in Genetics & Development (2000)10:81-93
- [16] Knudson AG. *Proc Natl Acad Sci USA* (1971)68: 820-823.
- [17] Macdonald F., Ford C.H.J., Casson A.G. 2004. *Molecular biology of cancer*. 2nd ed. London Bios Scientific, USA.
- [18] Santarosa Manuela, Ashworth Alan. *Haploinsufficiency for tumour suppressor genes: when you don't need to go all the way*. Biochimica et Biophysica Acta (2004)1654: 105-122
- [19] Hanahan D, Weinberg RA. *The hallmarks of cancer*. Cell (2000)100: 57-70.
- [20] Macdonald F., Ford C.H.J., Casson A.G. 2004. *Molecular biology of cancer*. 2nd ed. London Bios Scientific, USA.
- [21] Giacinti C., Giordano A. *RB and cell cycle progression*. Oncogene (2006) 25, 5220-5227
- [22] Favoni RE, de Cupis A. *The role of polypeptide growth factors in human carcinomas: new targets for a novel pharmacological approach*. Pharmacol Rev (2000)52(2):179-206
- [23] Malumbres Marcos, Carnero Amancio. *Cell cycle deregulation: a common motif in cancer*. Progress in Cell Cycle Research (2003)5: 5-18
- [24] Alberts Bruce, Johnson Alexander, Lewis Julian, Raff Martin, Roberts Keith, Walter Peter. 2002. *Molecular biology of the cell*. 4th ed. Garland Science, Nueva York, EUA.
- [25] Jin Zhaoyu, El-Deiry Wafik S. *Overview of Cell Death Signaling Pathways*. Cancer Biology & Therapy (2005)4(2): 139-163
- [26] Levine AJ, Momand J, Finlay CA. *The p53 tumour suppressor gene*. Nature (1991) 351 (6326):453-6
- [27] Cosme-Blanco W, Chang S. *Dual roles of telomere dysfunction in initiation and suppression of tumorigenesis*. Exp Cell Res. (2008)314(9):1973-9.
- [28] LLeonart Matilde E, Artero-Castro Ana, Kondo Hiroshi. *Senescence induction: a possible cancer therapy*. Molecular Cancer (2009)8:3
- [29] Levine AJ, Momand J, Finlay CA. *The p53 tumour suppressor gene*. Nature (1991) 351 (6326):453-6
- [30] Takahashi A, Ohtani N, Hara E. *Irreversibility of cellular senescence: dual roles of p16INK4a/Rb-pathway in cell cycle control*. Cell Div.(2007)2:10
- [31] Fridman AL, Tainsky MA. *Critical pathways in cellular senescence and immortalization revealed by gene expression profiling*. Oncogene (2008)27(46):5975-87
- [32] Ben-Porath Ittai, Weinberg Robert A. *The signals and pathways activating cellular senescence*. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology (2005)37: 961-976
- [33] Tonini T. et al. *Molecular basis of angiogenesis and cancer*. Oncogene (2003)22(42): 6549-6556
- [34] Plank M.J., Sleeman B.D. *Journal of Theoretical Medicine* (2003)5(3-4):137-153
- [35] Ferrara N. *Role of vascular endothelial growth factor in regulation of physiological angiogenesis*. Am J Physiol Cell Physiol. (2001)280(6):C1358-66.
- [36] Lee Ji-Won et al. *Hypoxia-inducible factor (HIF-1 α): its protein stability and biological functions*. Experimental And Molecular Medicine (2004)36(1): 1-12
- [37] Elson DA, Ryan HE, Snow JW, Johnson R, Arbeit JM. *Coordinate up-regulation of hypoxia inducible factor (HIF)-1 α and HIF-1 target genes during multi-stage epidermal carcinogenesis and wound healing*. Cancer Res. (2000)60(21):6189-95.
- [38] Zbar Berton, Kishida Takeshi, Chen Fan, Schmidt Laura, Maher Eamonn R., Richards Frances M., Crossey Paul A., Webster Andrew R., Affara Nabeel A., Ferguson-Smith Malcolm A., Brauch Hiltrud, Glavac Damjan, Neumann Hartmut P.H., Tisherman Sam, Mulvihill John J., Gross David J., Shuin Taro, Whaley Jean, Seizinger Berndt, Kley Nickolai, Olschwang Sylviane, Boisson Cecile, Richard Stephanie, Lips C.H.M., Linehan Marston W., Lerman Michael. *Germline Mutations in the Vonn Hippel-Lindau Disease (VHL) Gene in Families From America, Europe, and Japan*. Human Mutation (1996)8: 348-357
- [39] Mehlen P, Puisieux A. *Metastasis: a question of life or death*. Nat Rev Cancer. (2006)6(6):449-58.
- [40] Chambers Ann F., Groom Alan C., MacDonald Ian C. *Dissemination and growth of cancer cells in metastatic sites*. Nature Reviews Cancer (2002)2: 563-572
- [41] Eccles Suzanne A., Welch Danny R. *Lancet* (2007)369: 1742-57
- [42] Zambrano Villa Sergio A. 2007. *Inmunología básica y clínica*. Mc Graw Hill, México.
- [43] Medzhitov Ruslan. *Origin and physiological roles of inflammation*. Nature (2008) 454: 428-435
- [44] Kindt Thomas J., Goldsby Richard A., Osborne Barbara A. 2007. *Kuby' Immunology*. 6thed. W.H. Freeman and Company, USA, Nueva York. pp. 55-69
- [45] Smith WL., DeWitt DL., Garavito RM. *Cyclooxygenases: structural, cellular, and molecular biology*. Annu Rev Biochem.(2000)69:145-82.
- [46] García Barreno Pedro. *Inflamación*. Rev.R.Acad.Cienc.Exact.Fis.Nat. (Esp) (2008)102 (1): 91-159
- [47] Serhan Charles N., Chiang Nan, Van Dyke Thomas E. *Resolving inflammation: dual anti-inflammatory and pro-resolution lipid mediators*. Nature Reviews Immunology (2008): 349-361.
- [48] Sell Stewart, Max Edward E. 2001. *Immunology, Immunopathology and Immunity*. 6thed. ASM Press Washington D.C., USA. pp. 33-91.
- [49] Zentella de Piña Martha, Piña Enrique. *Daño a proteínas*. En: Konigsberg Fainstein Mina [ed.]. 2008. *Radicales libres y estrés oxidativo: aplicaciones médicas*. El Manual Moderno, México. pp. 97-118.
- [50] Goetz Mario E., Luch Andreas. *Reactive species: A cell damaging route assisting to chemical carcinogens*. Cancer Letters (2008)266: 73-83
- [51] Medeiros Marisa H. *Daño al DNA*. En: Konigsberg Fainstein Mina [ed.]. 2008. *Radicales libres y estrés oxidativo: aplicaciones médicas*. El Manual Moderno, México. pp. 119-134
- [52] Bodmer Jean-Luc, Schneider Pascal, Tschopp Jürg. *The molecular architecture of the TNF superfamily* TRENDS in Biochemical Sciences(2002) 27:19-26
- [53] Idriss Haitham T., Naismith James H. *TNF α and the TNF Receptor Superfamily: Structure-Function Relationship*. Microscopy Research and Technique (2000)50:184-195
- [54] Häcker Hans, Karin Michael. *Regulation and Function of IKK and IKK-Related Kinases*. Sci. STKE (2006)357.
- [55] Yamamoto Yumi, Gaynor Richard B. *I κ B kinases: key regulators of the NF- κ B pathway*. TRENDS in Biochemical Sciences (2004)29(2): 72-79
- [56] Hayden MS, Ghosh S. *Shared principles in NF- κ B signaling*. Cell (2008)132 (3): 344-62
- [57] Krakauer T. *Nuclear factor- κ B: fine-tuning a central integrator of diverse biologic stimuli*. Int Rev Immunol (2008)27(5):286-92.
- [58] Shen HM, Tergaonkar V. *NF κ B signaling in carcinogenesis and as a potential molecular target for cancer therapy*. Apoptosis. (2009)14(4):348-63.
- [59] Surh Young-Joon, Kundu Joydeb Kumar. *Signal Transduction Network Leading to COX-2 Induction: A Road Map in Search of Cancer Chemopreventives*. Arch Pharm Res(2005)28 (1): 1-15
- [60] Vane JR, Bakhle YS, Botting RM. *Cyclooxygenases 1 and 2*. Annu Rev Pharmacol Toxicol. (1998)38: 97-120.
- [61] Breyer Richard M., Bagdasarian Carey K., Myers Scott A., Breyer Matthew D. *Prostanoid Receptors: Subtypes and Signaling*. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 2001. 41:661-90
- [62] Turini Marco E., DuBois Raymond N. *Cyclooxygenase-2: A Therapeutic Target*. Annu. Rev. Med. (2002)53:35-57
- [63] Andrew Penelope J., Mayer Bernd. *Enzymatic function of nitric oxide synthases*. Cardiovascular Research (1999)43: 521-531
- [64] Rousseau Denis L., Li David, Couture Manon, Yeh Syun-Ru. *Ligand-protein interactions in nitric oxide synthase*. Journal of Inorganic Biochemistry (2005)99:306-323
- [65] Lala Peeyush K., Chakraborty Chandan. *Role of nitric oxide in carcinogenesis and tumour progression*. Lancet Oncol (2001)3: 149-56
- [66] Rivera Jaime A., Graeme-Cook Fiona, Werner Jens, Z'graggen Kaspar, Rustgi Anil K., Rattner David W., Warshaw Andrew L., Fernandez-del Castillo Carlos. *A rat model of pancreatic ductal adenocarcinoma: Targeting chemical Carcinogens stages of pancreatic carcinogenesis and techniques*. Surgery (1997)122: 82-90
- [67] Ashi K.W., Inagaki.T., Fujimoto.Y., Fukuda.Y. *Induction by degraded carrageenan of colorectal tumors in rats*. Cancer Lett. (1978)4: 171-176.
- [68] Hirono I., Kuhara.K., Yamaji.T., Hosaka.S., Golberg.L. *Induction of colorectal squamous cell carcinomas in rats by dextran sulfate sodium*. Carcinogenesis(1982)3: 353-355.
- [69] Tamaru T., Kobayashi.H., Kishimoto.S., Kajiyama.G., Shimamoto.F., Brown.W.R. *Histochemical study of colonic cancer in experimental colitis of rats*. Dig. Dis. Sci. (1993)38: 529-537
- [70] Yamada M., Ohkusa.T., Okayasu.I. *Occurrence of dysplasia and adenocarcinoma after experimental chronic ulcerative colitis in hamsters induced by dextran sulphate sodium*. Gut (1992)33: 1521-1527
- [71] Raick Alberto N. *Ultrastructural, histological, and biochemical alterations produced by 12-OTetradecanoyl-phorbol-13-acetate on mouse epidermis and their relevance to skin tumor promotion*. Cancer Research (1973)33: 269-286
- [72] Nozaki K., Shimizu N., Inada K, Tsukamoto T, Inoue M, Kumagai T, Sugiyama A, Mizoshita T, Kaminishi M, Tatematsu M. *Synergistic promoting effects of Helicobacter pylori infection and high-salt diet on gastric carcinogenesis in Mongolian gerbils*. Jpn J Cancer Res (2002)93:1083-9
- [73] Head Kathleen A., Jurenka Julie S. *Inflammatory Bowel Disease Part I: Ulcerative Colitis - Pathophysiology and Conventional and Alternative Treatment Options*, Altern Med Rev (2003)8(3):247-283
- [74] Von Roon Alexander C., Reese George, Teare Julian, Constantinides Vasilis, Darzi Ara W., Tekkis Paris P. *The Risk of Cancer in Patients with Crohn's Disease*. Dis Colon Rectum (2007)50:839-855
- [75] Fevery Johan, Verslype Chris, Lai Gillian, Aerts Raymond, Van Steenberghe Werner. *Incidence, Diagnosis, and Therapy of Cholangiocarcinoma in Patients with Primary Sclerosing Cholangitis*. Dig Dis Sci (2007)52:3123-3135
- [76] Weismüller Tobias J., Wedemeyer Jochen, Kubicka Stefan, Strassburg Christian P., Manns Michael P. *The challenges in primary sclerosing cholangitis - Aetiopathogenesis, autoimmunity, management and malignancy*. Journal of Hepatology (2008)48: S38-S57
- [77] Khan S.A., Toledano M.B., Taylor-Robinson S.D. *Epidemiology, risk factors, and pathogenesis of cholangiocarcinoma*. HPB(2008)10:77-82
- [78] Claessen Marian M.H., Vleggaar Frank P., Tytgat Kristien M.A.J., Siersema Peter D., Van Buuren Henk R. *High lifetime risk of cancer in primary sclerosing cholangitis*. Journal of Hepatology (2009)50:158-164
- [79] Bird-Lieberman Elizabeth L., Fitzgerald Rebecca C. *Barrett's Esophagus*. Gastroenterol Clin N Am (2008)37: 921-942

- [80] Chang John T., Katzka David A. *Gastroesophageal Reflux Disease, Barrett Esophagus, and Esophageal Adenocarcinoma*. Arch Intern Med (2004)164:1482-1488
- [81] Tamayo de la Cuesta JL. *Incidence and prevalence of Barrett's esophagus in Mexico*. Rev Gastroenterol Mex.(2005)70(1).
- [82] Holscher Arnulf H., Vallbohmer Daniel, Bollschweiler Elfriede. *Early Barrett's Carcinoma of the Esophagus*. Ann Thorac Cardiovasc Surg (2008)14(6): 347-354
- [83] Bhanot Umesh K., Möller Peter. *Mechanisms of parenchymal injury and signalling pathways in ectopic ducts of chronic pancreatitis: implications for pancreatic carcinogenesis*. Laboratory Investigation (2009) 89: 489-497
- [84] Klöppel Günter. *Chronic pancreatitis, pseudotumors and other tumor-like lesions*. Modern Pathology (2007)20: S113-S131
- [85] Charnley Richard M. *Hereditary pancreatitis*. World J Gastroenterol (2003)9(1):1-4
- [86] Lowenfels Albert B., Maisonneuve Patrick. *Epidemiology and Prevention of Pancreatic Cancer*. Jpn J Clin Oncol (2004)34(5): 238-244
- [87] Robles Diaz Guillermo, Fastag Daniela. *Cáncer de páncreas. Epidemiología y factores de riesgo*. Rev Gastroenterol Mex (2007)72, Suppl.2: 154-159
- [88] Roggli Victor L. *Human Disease Consequences of Fiber Exposures: A Review of Human Lung Pathology and Fiber Burden Data*. Environmental Health Perspectives (1990)88: 295-303.
- [89] Mossman Brooke T., Chung Andrew. *State of the Art. Mechanisms in the Pathogenesis of Asbestosis and Silicosis*. Am J Respir Crit Care Med (1998)157: 1666-1680
- [90] Fubini Bice, Hubbard Andrea. *Reactive Oxygen Species (ROS) and Reactive Nitrogen Species (RNS) Generation by Silica in Inflammation and Fibrosis*. Free Radical Biology & Medicine (2003)34(12):1507-1516.
- [91] Hamilton Raymond F. Jr., Thakur Sheetal A., Holian Andrij. *Silica binding and toxicity in alveolar macrophages*. Free Radical Biology & Medicine (2008)44:1246-1258
- [92] Kurihara Nobutaka, Wada Osamu. *Silicosis and Smoking Strongly Increase Lung Cancer Risk in Silica-Exposed Workers*. Industrial Health (2004)42: 303-314
- [93] Kazan-Allen Laurie. *Asbestos and mesothelioma: Worldwide trends*. Lung Cancer (2005)49S1: S3-S8
- [94] Yetkin Ozkan. *Malignant pleural mesothelioma: Occupational and environmental exposure*. Respiratory Medicine (2006)100: 1121-1122
- [95] International Agency for Research on Cancer (IARC). (1997) Silica and some silicates
- [96] Daniel LN, Mao Y, Williams AO, Saffiotti U. *Direct interaction between crystalline silica and DNA - a proposed model for silica carcinogenesis*. Scand J Work Environ Health (1995)21 Suppl 2:22-6.
- [97] Saffiotti U, Daniel LN, Mao Y, Shi X, Williams AO, Kaighn ME. *Mechanisms of carcinogenesis by crystalline silica in relation to oxygen radicals*. Environ Health Perspect. (1994)102 Suppl 10:159-63
- [98] Robledo R, Mossman B. *Cellular and molecular mechanisms of asbestos-induced fibrosis*. J Cell Physiol (1999)180:158-66.
- [99] Pache Jean-Claude, Janssen Yvonne M.W., Walsh Eric S., Quinlan Timothy R., Zanella Christine L., Low Robert B., Taatjes Douglas J., Mossman Brooke T. *Increased epidermal growth factor-receptor protein in a human mesothelial cell line in response to long asbestos fibers*. Am J Pathol(1998)152:333-340
- [100] Axon ATR. *Relationship between Helicobacter pylori gastritis, gastric cancer and gastric acid secretion*. Advances in Medical Sciences(2007)52:55-60
- [101] Camargo MC., Lazcano-Ponce E, Torres J, Velasco-Mondragon E, Quiterio M, Correa P. *Determinants of Helicobacter pylori seroprevalence in Mexican adolescents*. Helicobacter. (2004)9(2):106-14.
- [102] Torres J., Leal-Herrera Y, Perez-Perez G, Gomez A, Camorlinga-Ponce M, Cedillo-Rivera R, Tapia-Conyer R, Muñoz O. *A community-based seroepidemiologic study of Helicobacter pylori infection in Mexico*. J Infect Dis. (1998)178(4):1089-94
- [103] Sipponen P, Kosunen TU, Valle J, Riihelä M, Seppälä K. *Helicobacter pylori infection and chronic gastritis in gastric cancer*. J Clin Pathol. (1992)45(4):319-23
- [104] IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risks to humans. *Schistosomes, liver flukes and Helicobacter pylori*, vol 61. Lyon, France: World Health Organisation; 1994, p. 177-241.
- [105] Wen Sicheng, Moss Steven F. *Helicobacter pylori virulence factors in gastric carcinogenesis*. Cancer Letters (2009)282:1-8
- [106] Parsonnet J. *Helicobacter pylori and gastric adenocarcinoma*. En: Parsonnet J. (ed.)1999.Microbes and Malignancy. Oxford University Press, USA.372-408.
- [107] D'Elis MM., Montecucco C, de Bernard M. *VacA and HP-NAP, Ying and Yang of Helicobacter pylori-associated gastric inflammation*. Clin Chim Acta. (2007)381(1): 32-8
- [108] Marcellin Patrick. *Hepatitis B and hepatitis C in 2009*. Liver International (2009)29(s1): 1-8
- [109] Gomaa Asmaa Ibrahim, Khan Shahid A., Toledano Mireille B., Waked Imam, Taylor-Robinson Simon D. *Hepatocellular carcinoma: Epidemiology, risk factors and pathogenesis*. World J Gastroenterol (2008)14(27): 4300-4308
- [110] Berasain C., Castillo J., Perugorria M.J., Latasa M.U., Prieto J., Avila M.A. *Inflammation and Liver Cancer New Molecular Links*. Ann. N.Y. Acad. Sci. (2009)1155: 206-221
- [111] Khurana S., Dubey ML, Malla N. *Association of parasitic infections and cancers*. Indian Journal of Medical Microbiology(2005)23(2): 74-79
- [112] van der Werf, M. J., de Vlas, S. J., Brooker, S., Looman, C. W. N., Nagelkerke, N. J. D., Habbema, J. D. F. and Engels, D. *Quantification of clinical morbidity associated with schistosome infection in sub-Saharan Africa*. Acta Tropica (2003)86:125-139.
- [113] Gryseels Bruno, Polman Katja, Clerinx Jan, Kestens Luc. *Human schistosomiasis*. Lancet (2006)368: 1106-18
- [114] Doumenge J.P., Mott K.E., Cheung C., Villeneuve D., Chapuis O., Perrin M.F. (1987). *Atlas of the global distribution of Schistosomiasis*. Parasite Diseases Programme WHO—Département Santé et Développement et Laboratoire de Parasitologie. Université de Bordeaux II.
- [115] Sur Monalisa, Cooper Kum. *Schistosoma hematobium and Bladder Cancer*. pp. 435-448. En:Goedert James J. (ed.). 2000. *Infectious causes of cancer: targets for intervention*. Humana Press, USA
- [116] Salim Elsayed I., Morimura Keichirou, Menesi Ahmed, El-Lity Mohammed, Fukushima Shoji, Wanibuchi Hideki. *Elevated oxidative stress and DNA damage and repair levels in urinary bladder carcinomas associated with Schistosomiasis*. Int. J. Cancer (2008)123: 601-608
- [117] Lun Zhao-Rong, Gasser Robin B, Lai De-Hua, Li An-Xing, Zhu Xing-Quan, Yu Xing-Bing, Fang Yue-Yi. *Clonorchiasis: a key foodborne zoonosis in China*. Lancet Infect Dis (2005)5: 31-41
- [118] Kim Ho Gak et al. *Prevalence of clonorchiasis in patients with gastrointestinal disease: A Korean nationwide multicenter survey*. World J Gastroenterol (2009)15(1): 86-94
- [119] Kim Ho Gak et al. *Prevalence of clonorchiasis in patients with gastrointestinal disease: A Korean nationwide multicenter survey*. World J Gastroenterol (2009)15(1): 86-94
- [120] Lee, J. H., Rim H. J., Bak U. B. *Effect of Clonorchis sinensis infection and dimethylnitrosamine administration on the induction of cholangiocarcinoma in Syrian golden hamsters*. Korean J. Parasitol (1993)31:21-30.
- [121] Kim Young Ju, Choi Min-Ho, Hong Sung-Tae, Bae Young Mee. *Proliferative effects of excretory/secretory products from Clonorchis sinensis on the human epithelial cell line HEK293 via regulation of the transcription factor E2F1*. Parasitol Res (2008)102:411-417
- [122] Park Won IL, Yang Ung Suk, Song Geun Am, Cheong Jae Hun, Kim Ji Won, Kim Hyung Wook. *Excretory-Secretory Products of Clonorchis sinensis Induce Cholangiocyte Apoptosis and Proinflammatory Cytokine Production*. AGA Abstracts (2009):A-479
- [123] Pak Jhang Ho, Kim Dong-Wook, Moon Ju Hyun, Nam Joo-Hyun, Kim Jong-Hyeok, Ju Jung Won, Kim Tong-Soo, Seo Sang-Beom. *Differential gene expression profiling in human cholangiocarcinoma cells treated with Clonorchis sinensis excretory-secretory products*. Parasitol Res (2009)104:1035-1046
- [124] Baik SC., Youn HS, Chung MH, Lee WK, Cho MJ, Ko GH, Park CK, Kasai H, Rhee KH. *Increased oxidative DNA damage in Helicobacter pylori-infected human gastric mucosa*. Cancer Res(1996)56(6):1279-82.
- [125] Pinlaor S, Yongvanit P, Hiraku Y, Ma N, Semba R, Oikawa Shinji, Murata Mariko, Sripa Banchob, Sithithaworn Paiboon, Kawanishi Shosuke. *8-nitroguanine formation in the liver of hamsters infected with Opisthorchis viverrini*. Biochem Biophys Res Commun (2003)309: 567-571
- [126] Pinlaor S, Ma N, Hiraku Y, Yongvanit P, Semba R, Oikawa S, Murata M, Sripa B, Sithithaworn P, Kawanishi S. *Repeated infection with Opisthorchis viverrini induces accumulation of 8-nitroguanine and 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanine in the bile duct of hamsters via inducible nitric oxide synthase*. Carcinogenesis (2004b)25(8):1535-42
- [127] Thanan Raynoo, Murata Mariko, Pinlaor Somchai, Sithithaworn Paiboon, Khuntikeo Narong, Tangkanakul Walaluk, Hiraku Yusuke, Oikawa Shinji, Yongvanit Puangrat, Kawanishi Shosuke. *Urinary 8-Oxo-7,8-Dihydro-2-Deoxyguanosine in Patients with Parasite Infection and Effect of Antiparasitic Drug in Relation to Cholangiocarcinogenesis*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev (2008)17(3):518-24
- [128] Chiou C-C., Chan, C-C, Sheu D-L, Chen K-T, Li Y-S, Chan E-C. *Helicobacter pylori infection induced alteration of gene expression in human gastric cells*. Gut (2001)48: 598-604
- [129] Isomoto H., Furusu H, Shin M, Ohnita K, Miyazaki M, Omagari K, Mizuta Y, Murase K, Inoue K, Murata I, Koji T, Kohno S. *Enhanced expression of transcription factor E2F in Helicobacter pylori-infected gastric mucosa*. Helicobacter (2002)7(3):152-62.
- [130] Wang J., Chi DS, Kalin GB, Sosinski C, Miller LE, Burja I, Thomas E. *Helicobacter pylori infection and oncogene expressions in gastric carcinoma and its precursor lesions*. Dig Dis Sci. (2002)47(1):107-13
- [131] Parsonnet J. *Helicobacter pylori and gastric adenocarcinoma*. En: Parsonnet J. (ed.)1999.Microbes and Malignancy. Oxford University Press, USA.372-408.
- [132] Oliveira-Cunha Melissa, Siriwardena Ajith K., Byers Richard. *Molecular diagnosis in pancreatic cancer*. Diagnostic histopathology (2008)145:214-222
- [133] Rosin MP, Anwar WA, Ward AJ. *Inflammation, chromosomal instability, and cancer: the schistosomiasis model*. Cancer Res (1994)54(7 Suppl):1929S-1933S
- [134] Chaudhary K.S., Lu Q.L., Abel P.D., Khandan-Nia N., Shoma A.M., El Baz M., Stamp G.W.H, Lalani E.N. *Expression of bcl-2 and p53 oncoproteins in schistosomiasis associated transitional and squamous cell carcinoma of urinary bladder*. British Journal of Urology (1997)79: 78-84
- [135] Hammam Olfat Ali, Aziz Ahmed A., Roshdy Mamdouh S., Abdel Hadi Ahmed M. *Possible Role of Cyclooxygenase-2 in Schistosoma and Non-Schistosoma-Associated Bladder Cancer*. Medscape J Med. 2008; 10(3): 60
- [136] Sanaa Eissa, R. Ali-Labib, A. Khalifa. *Deletion of p16 and p15 genes in schistosomiasis associated bladder cancer (SABC)*. Clinica Chimica Acta (2000)300:159-169
- [137] Nakanishi Chikashi, Toi Masakazu. *Nuclear factor-kB inhibitors as sensitizers to anticancer drugs*. Nature Reviews Cancer (2005)5: 297-309
- [138] Cilloni D., Messa F., Arruga F., et al. *The NF-kappaB pathway blockade by the IKK inhibitor PS1145 can overcome imatinib resistance*. Leukemia (2006)20: 61-7.
- [139] Fujioka S, Selabas GM, Schmidt C, Niu J, Frederick WA, Dong QG, Abbruzzese JL, Evans DB, Baker C and Chiao PJ. *Inhibition of constitutive NF-kappa B activity by I kappa B alpha M suppresses tumorigenesis*. Oncogene(2003)22: 1365-1370.
- [140] Kunnammakara Ajaikumar B., Ichikawa Haruyo, Anand Preetha, Mohankumar Chiramel J., Hema Padmanabhan S., Nair Mangalam S., Aggarwal Bharat B. *Coronarin D, a labdane diterpene, inhibits both constitutive and inducible nuclear factor-KB pathway activation, leading to potentiation of apoptosis, inhibition of invasion, and suppression of osteoclastogenesis*. Mol Cancer Ther (2008)7(10):3306-17
- [141] Sethi Gautam, Ahn Kwang Seok, Sung Bokyoung, Aggarwal Bharat B. *Pinitol targets nuclear factor-KB activation pathway leading to inhibition of gene products associated with proliferation, apoptosis, invasion, and angiogenesis*. Mol Cancer Ther (2008)7(6): 1604-14
- [142] Meylan Etienne, Dooley Alison L., Feldser David M., Shen Lynn, Turk Erin, Ouyang Chensi, Jacks Tyler. *Requirement for NF-kB signaling in a mouse model of lung adenocarcinoma*. (2009)462(5): 104-108
- [143] Selabas GM, Uwagawa T, Schmidt C, Hess KR, Evans DB, Abbruzzese JL and Chiao PJ. *Nuclear factor kappa B activation is a potential target for preventing pancreatic carcinoma by aspirin*. Cancer (2005)103: 2485-2490.

- [144] Zhang Zhiqun, Rigas Basil. *NF- κ B, inflammation and pancreatic carcinogenesis: NF- κ B as a chemoprevention target*. International Journal of Oncology (2006)29: 185-192
- [145] Robe PA, Bentires-Alj M, Bonif M, Rogister B, Deprez M, Haddada H, et al. *In vitro and in vivo activity of the nuclear factor-kappaB inhibitor sulfasalazine in human glioblastoma*. Clin Cancer Res (2004)10: 5595-603.
- [146] Mabuchi, S. et al. *Inhibition of NF κ B increases the efficacy of cisplatin in vitro and in vivo ovarian cancer models*. J. Biol. Chem. (2004)279: 23477-23485
- [147] Cusack, J. C. et al. *Enhanced chemosensitivity to CPT-11 with proteasome inhibitor PS-341: implications for systemic nuclear factor- κ B inhibition*. Cancer Res. (2001)61: 3535-3540.
- [148] Shah S. A. et al. *26S proteasome inhibition induces apoptosis and limits growth of human pancreatic cancer*. J. Cell Biochem. (2001)82: 110-122.
- [149] Greten F.R., Eckmann L., Greten T.F., Park J.M., Li Z.W., Egan L.J., Kagnoff M.F., Karin M. *IKK beta links inflammation and tumorigenesis in a mouse model of colitis-associated cancer*. Cell(2004)118: 285-296
- [150] Stathopoulos Georgios T., Sherrill Taylor P., Cheng Dong-Sheng, Scoggins Robert M., Han Wei, Polosukhin Vasilii V., Connelly Linda, Yull Fiona E., Fingleton Barbara, Blackwell Timothy S. *Epithelial NF κ B activation promotes urethane-induced lung carcinogenesis*. PNAS (2007)104(47): 18514-18519
- [151] Courtois G, Gilmore TD. *Mutations in the NF-kappaB signaling pathway: implications for human disease*. Oncogene (2006)25(51):6831-43.
- [152] Barth TF., Bentz M, Leithäuser F, Stülgenbauer S, Siebert R, Schlotter M, Schlenk RF, Döhner H, Möller P. *Molecular-cytogenetic comparison of mucosa-associated marginal zone B-cell lymphoma and large B-cell lymphoma arising in the gastro-intestinal tract*. Genes Chromosomes Cancer (2001)31(4):316-25
- [153] Starczynowski DT., Trautmann H, Pott C, Harder L, Arnold N, Africa JA, Leeman JR, Siebert R, Gilmore TD. *Mutation of an IKK phosphorylation site within the transactivating domain of REL in two patients with B-cell lymphoma enhances REL's in vitro transforming activity*. Oncogene. (2007)26(19):2685-94
- [154] Chen F., Beezhold K, Castranova V. *Tumor promoting or tumor suppressing of NF-kappa B, a matter of cell context dependency*. Int Rev Immunol. (2008)27(4):183-204.
- [155] Maeda S, Omata M. *Inflammation and cancer: role of nuclear factor-kappaB activation*. Cancer Sci. (2008)99(5):836-42
- [156] Naugler WE, Karin M. *NF-kappaB and cancer-identifying targets and mechanisms*. Curr Opin Genet Dev. (2008)18(1):19-26
- [157] Shen HM, Tergaonkar V. *NF-kappaB signaling in carcinogenesis and as a potential molecular target for cancer therapy*. Apoptosis. (2009)14(4):348-63
- [158] Yang J., Pan WH, Clawson GA, Richmond A. *Systemic targeting inhibitor of kappaB kinase inhibits melanoma tumor growth*. Cancer Res (2007)67(7):3127-3134.
- [159] Weichert W., Boehm M, Gekeler V et al. *High expression of RelA/p65 is associated with activation of nuclear factor-kappaB dependent signaling in pancreatic cancer and marks a patient population with poor prognosis*. Br J Cancer (2007)97(4):523-530.
- [160] Horst D, Budczies J, Brabletz T, Kirchner T, Hlubek F. *Invasion associated up-regulation of nuclear factor kappaB target genes in colorectal cancer*. Cancer. (2009)115(21): 4946-58.
- [161] Niesporek S, Weichert W, Sinn B, Röske A, Noske A, Buckendahl AC, Wirtz R, Sehouli J, Koensgen D, Dietel M, Denkert C. *NF-kappaB subunit p65/RelA expression in ovarian carcinoma: prognostic impact and link to COX-2 overexpression*. Verh Dtsch Ges Pathol. (2007)91: 243-9. Solo Abstract.
- [162] Lerebours F, Vacher S, Andrieu C, Espie M, Marty M, Lidereau R, Bieche I. *NF-kappa B genes have a major role in inflammatory breast cancer*. BMC Cancer. (2008)8: 41.
- [163] Ayala GE, Dai H, Ittmann M, Li R, Powell M, Frolov A, Wheeler TM, Thompson TC, Rowley D. *Growth and survival mechanisms associated with perineural invasion in prostate cancer*. Cancer Res. (2004)64(17): 6082-90.
- [164] Chang AA, Van Waes C. *Nuclear factor-kappaB as a common target and activator of oncogenes in head and neck squamous cell carcinoma*. Adv Otorhinolaryngol. (2005)62: 92-102.
- [165] Pallares J, Martinez-Guitarte JL, Dolcet X, Llobet D, Rue M, Palacios J, Prat J, Matias-Guiu X. *Abnormalities in the NF-kappaB family and related proteins in endometrial carcinoma*. J Pathol. (2004)204(5): 569-77.
- [166] Tracey L, Pérez-Rosado A, Artiga MJ, Camacho FI, Rodriguez A, Martinez N, Ruiz-Ballesteros E, Mollejo M, Martinez B, Cuadros M, Garcia JF, Lawler M, Piris MA. *Expression of the NF-kappaB targets BCL2 and BIRC5/Survivin characterizes small B-cell and aggressive B-cell lymphomas, respectively*. J Pathol. (2005)206(2): 123-34.
- [167] Surh Young-Joon, Kundu Joydeb Kumar. *Signal Transduction Network Leading to COX-2 Induction: A Road Map in Search of Cancer Chemopreventives*. Arch Pharm Res(2005)28(1): 1-15
- [168] Chang, S. H., Liu C. H., Conway R, Han D. K., Nithipatikom K., Trifan O. C., Lane T. F., Hla T. *Role of prostaglandin E2-dependent angiogenic switch in cyclooxygenase 2-induced breast cancer progression*. Proc Natl Acad Sci U S A (2004)101: 591-6
- [169] Müller-Decker K., Neufang G., Berger I., Neumann M., Marks F., Furstnberger G. *Transgenic cyclooxygenase-2 overexpression sensitizes mouse skin for carcinogenesis*. Proc Natl Acad Sci U S A (2002)99: 12483-8
- [170] Leung Wai K., Wu Kai-chun, Wong Christine Y.P, Cheng Alfred S.L., Ching Arthur K.K., Chan Anthony W.H., Chong Wilson W.S., Go Minnie Y.Y., Yu Jun, To Ka-Fai, Wang Xin, Chui Y.L., Fan D.M., Sung Joseph J.Y. *Transgenic cyclooxygenase-2 expression and high salt enhanced susceptibility to chemical-induced gastric cancer development in mice*. Carcinogenesis (2008)29(8): 1648-1654
- [171] Klein DR, van Pelt CS, Sabichi AL, de la Cerda J, Fischer SM, Furstnberger G, Müller-Decker K. *Transitional cell hyperplasia and carcinomas in urinary bladders of transgenic mice with keratin 5 promoter-driven cyclooxygenase-2 overexpression*. Cancer Res (2005)65: 1808-1813.
- [172] Wang Xingya, Colby Jennifer K.L, Rengel Robert C., Fischer Susan M., Clinton Steven K., Klein Russell D. *Overexpression of Cyclooxygenase-2 (COX-2) in the mouse urinary bladder induces the expression of immune- and cell proliferation-related genes*. Molecular Carcinogenesis (2009)48: 1-13
- [173] Chulada PC, Thompson MB, Mahler JF, Doyle CM, Gaul BW, Lee C, et al. *Genetic disruption of Pigs-1, as well as Pigs-2 reduces intestinal tumorigenesis in Min mice*. Cancer Res (2000)60: 4705-
- [174] Oshima M., Dinchuk J.E., Kargman S.L., Oshima H., Hancock B., Kwong E., Trzaskos J.M., Evans J.F., Taketo M.M. *Suppression of intestinal polyposis in Apc delta 716 knockout mice by inhibition of cyclooxygenase-2 (COX-2)*. Cell(1996)87: 803-809.
- [175] Fischer S. M., Lo H.-H., Gordon G. B., Seibert K., Kelloff G., Lubet R. A., Conti C. J. *Chemopreventive activity of celecoxib, a specific cyclooxygenase-2 inhibitor, and indomethacin against ultraviolet light-induced skin carcinogenesis*. Mol. Carcinog (1999)25: 231-240.
- [176] Tiano Howard F., Loftin Charles D., Akunda Jackie, Lee Christopher A., Spalding Judson, Sessoms Alisha, Danson David B., Rogan Eleanor G., Morham Scott G., Smart Robert C., Langenbach Robert. *Deficiency of either Cyclooxygenase (COX)-1 or COX-2 alters epidermal differentiation and reduces mouse skin tumorigenesis*. Cancer Research (2002)62: 3395-3401
- [177] Howe Louise R., Chang Sung-Hee, Tolle Kelly C., Dillon Rachelle, Young Lawrence J.T., Cardiff Robert D., Newman Robert A., Yang Peiyang, Thaler Howard T., Muller William J., Hudis Clifford, Brown Anthony M.C., Hla Timothy, Subbaramaiah Kotha, Dannenberg Andrew J. *HER2/neu-induced mammary tumorigenesis and angiogenesis are reduced in Cyclooxygenase-2 knockout mice*. Cancer Res (2005)65(21): 10113-10119
- [178] Williams Christopher S., Tsujii Masahiko, Reese Jeff, Dey Sudhansu K., DuBois Raymond N. *Host cyclooxygenase-2 modulates carcinoma growth*. J. Clin. Invest. (2000)105: 1589-1594.
- [179] Narko, K., Zweifel B., Trifan O., Ristimaki A., Lane T.F., Hla T. *COX-2 inhibitors and genetic background reduce mammary tumorigenesis in cyclooxygenase-2 transgenic mice*. Prostaglandins Other Lipid Mediat (2005)76: 86-94
- [180] Bakhle Y.S. *COX-2 and cancer: a new approach to an old problem*. British Journal of Pharmacology (2001)134:1137-1150
- [181] Marnett Lawrence J., Basu Ashis K., O'Hara Shawn M., Weller Paul E., Rahman A. F. M. Maqsudur, Oliver John P. *Reaction of malondialdehyde with guanine nucleosides: formation of adducts containing oxadiazabicyclononene residues in the base-pairing region*. J. Am. Chem. Soc.(1986)108(6): 1348-1350
- [182] Plastaras John P., Guengerich F. Peter, Nebert Daniel W., Marnett Lawrence J. *Xenobiotic-metabolizing cytochromes P450 convert prostaglandin endoperoxide to hydroxyheptadecatrienoic acid and the mutagen Malondialdehyde*. The Journal of Biological Chemistry(2000)275(16):11784-11790
- [183] Fujino Hiromichi, West Kimberly A., Regan John W. *Phosphorylation of Glycogen Synthase Kinase-3 and stimulation of T-cell Factor signaling following activation of EP2 and EP4 Prostanoid Receptors by Prostaglandin E2*. The Journal Of Biological Chemistry (2002)277(4): 2614-2619.
- [184] Castellone Maria Domenica, et al. *Axis-Axin- β -Catenin Signaling s Growth Through a G Promotes Colon Cancer Cell 2 Prostaglandin E. Science (2005)310 1504-1509*
- [185] Pai R., Soreghan, B., Szabo I.L., Pavelka M., Baatar D., Tarnawski A.S. *Prostaglandin E2 transactivates EGF receptor: A novel mechanism mechanism for promoting colon cancer growth and gastrointestinal hypertrophy*. Nat. Med. (2002)8: 289-293.
- [186] Shao J., Lee S.B., Guo H., Evers B.M., Sheng H. *Prostaglandin E2 stimulates the growth of colon cancer cells via induction of amphiregulin*. Cancer Res. (2003)63: 5218-5223
- [187] Krysan K, Dalwadi H, Sharma S, Pöld M, Dubinett S. *Cyclooxygenase 2-dependent expression of survivin is critical for apoptosis resistance in non-small cell lung cancer*. Cancer Res. (2004)64(18): 6359-62.
- [188] Sheng Hongmiao, Shao Jinyi, Morrow Jason D., Beauchamp R. Daniel, DuBois Raymond N. *Modulation of apoptosis and Bcl-2 expression by Prostaglandin E2 in human colon cancer cells*. Cancer Research (1998)58: 362-366
- [189] Lin Ming-Tsan, Lee Rung-Chi, Yang Pan-Chyr, Ho Feng-Ming, Kuo Min-Liang. *Cyclooxygenase-2 Inducing Mcl-1-dependent Survival Mechanism in Human Lung Adenocarcinoma CL1.0 Cells*. The Journal of Biological Chemistry (2001)276(52): 48997-49002
- [190] Han C, Wu T. *Cyclooxygenase-2-derived prostaglandin E2 promotes human cholangiocarcinoma cell growth and invasion through EP1 receptor-mediated activation of the epidermal growth factor receptor and Akt*. J Biol Chem. (2005)280(25): 24053-63
- [191] Poligone Brian, Baldwin Albert S. *Positive and Negative Regulation of NF- κ B by COX-2: Roles of Different Prostaglandins*. JBC (2001)
- [192] Pai Rama, Szabo Imre L., Soreghan Brian A., Atay Songul, Kawanaka Hirofumi, Tarnawski Andrzej S. *PGE2 Stimulates VEGF Expression in Endothelial Cells via ERK2/JNK1 Signaling Pathways*. Biochemical and Biophysical Research Communications (2001)286: 923-928
- [193] Tsujii Masahiko, Kawano Sunao, Tsuji Shingo, Sawaoka Hitoshi, Hori Masatsugu, DuBois Raymond N. *Cyclooxygenase regulates angiogenesis induced by colon cancer cells*. Cell(1998)93: 705-716
- [194] Dormond O, Bezzi M, Mariotti A et al. *Prostaglandin E2 promotes integrin α V β 3-dependent endothelial cell adhesion, Rac-activation and spreading through cAMP/PKA signaling*. J Biol Chem (2002)277: 45838-46
- [195] Zhang XH, Huang DP, Guo GL, Chen GR, Zhang HX, Wan L, Chen SY. *Coexpression of VEGF-C and COX-2 and its association with lymphangiogenesis in human breast cancer*. BMC Cancer. (2008)8: 4.
- [196] Byun Jae Ho, Lee Myung Ah, Roh Sang Young, Shim Byoung Young, Hong Sook Hee et al. *Association between Cyclooxygenase-2 and Matrix Metalloproteinase-2 expression in non-small cell lung cancer*. Jpn J Clin Oncol (2006)36(5):263-268
- [197] Sun Wei Hao, Sun Yun Liang, Fang Ren Nian, Shao Yun et al. *Expression of Cyclooxygenase-2 and Matrix Metalloproteinase-9 in Gastric Carcinoma and its Correlation with Angiogenesis*. Jpn J Clin Oncol (2005)
- [198] Dohadwala Mariam, Luo Jie, Zhu Li, Lin Ying, Dougherty Graeme J., Sharma Sherven, Huang Min, Pold Mehis, Batra Raj K., Dubinett Steven M. *Non-small cell lung cancer Cyclooxygenase-2-dependent invasion is mediated by CD44*. The Journal of Biological Chemistry(2001)276(24): 20809-20812
- [199] Kakiuchi Y, Tsuji S, Tsujii M, Murata H, Kawai N, Yasumaru M, Kimura A, Komori M, Irie T, Miyoshi E, Sasaki Y, Hayashi N, 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.
- [200] Kirschenbaum A, Klausner AP, Lee R, et al. *Expression of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 in the human prostate*. Urology (2000)56: 671-676.

- [201] Ristimäki A., Nieminen O, Saukkonen K, et al. *Expression of cyclooxygenase-2 in human transitional cell carcinoma of the urinary bladder. Am J Pathol.* (2001)158:849-853.
- [202] New Pamela. *Cyclooxygenase in the Treatment of Glioma: Its Complex Role in Signal Transduction.* Cancer Control (2004)11(3):152-164
- [203] Zhang XH, Huang DP, Guo GL, Chen GR, Zhang HX, Wan L, Chen SY. *Coexpression of VEGF-C and COX-2 and its association with lymphangiogenesis in human breast cancer.* BMC Cancer. (2008)8: 4.
- [204] Krysan K, Dalwadi H, Sharma S, Pöld M, Dubinett S. *Cyclooxygenase 2-dependent expression of survivin is critical for apoptosis resistance in non-small cell lung cancer.* Cancer Res. (2004)64(18): 6359-62.
- [205] Nakamoto RH, Uetake H, Iida S, Kolev YV, Soumaoro LT, Takagi Y, Yasuno M, Sugihara K. *Correlations between cyclooxygenase-2 expression and angiogenic factors in primary tumors and liver metastases in colorectal cancer.* Jpn J Clin Oncol. (2007)37(9):679-85.
- [206] Guo H, Tatsuguchi A, Shinji S, Fujimori S, Tanaka S, Gudis K, Sugisaki Y, Furukawa K, Tajiri T, Fukuda Y, Kishida T, Sakamoto C. *Cyclooxygenase-2 expression correlates with membrane-type-1 matrix metalloproteinase expression in colorectal cancer tissue.* Dis Colon Rectum. (2006)8: 1184-92.
- [207] Lee JS, Choi YD, Lee JH, Nam JH, Choi C, Lee MC, Park CS, Juhng SW, Min KW. *Expression of cyclooxygenase-2 in epithelial ovarian tumors and its relation to vascular endothelial growth factor and p53 expression.* Int J Gynecol Cancer. (2006)16 Suppl 1: 247-53.
- [208] Lim SC, Park SY, Do NY. *Correlation of cyclooxygenase-2 pathway and VEGF expression in head and neck squamous cell carcinoma.* Oncol Rep. (2003)10(5):1073-9.
- [209] Fujiwaki R, Iida K, Kanasaki H, Ozaki T, Hata K, Miyazaki K. *Cyclooxygenase-2 expression in endometrial cancer: correlation with microvessel count and expression of vascular endothelial growth factor and thymidine phosphorylase.* Hum Pathol. (2002)33(2):213-9.
- [210] Zagórska Anna, Dulak Józef. *HIF-1: the knowns and unknowns of hypoxia sensing.* Acta Biochimica Polonica (2004)51(3): 563-585
- [211] Forrester Kathleen, Ambs Stefan, Lupold Shawn E., Kapust Rachel B., Spillare Elisa A., Weinberg Wendy C., Felley-Bosco Emanuela, Wang Xin W., Geller David A., Tzeng Edith, Billiar Timothy R., Harris Curtis C. *Nitric oxide-induced p53 accumulation and regulation of inducible nitric oxide synthase expression by wild-type p53.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1996)93: 2442-2447
- [212] Ambs S, Ogunfusika MO, Merriam WG, Bennett WP, Billiar TR, Harris CC. *Up-regulation of inducible nitric oxide synthase expression in cancer-prone p53 knockout mice.* Proc Natl Acad Sci U S A. (1998)95(15): 8823-8.
- [213] Takahashi Mami, Fukuda Kazunori, Ohata Takeji, Sugimura Takashi, Wakabayashi Keiji. *Increased Expression of Inducible and Endothelial Constitutive Nitric Oxide Synthases in Rat Colon Tumors Induced by Azoxy methane.* Cancer Research (1997)57: 1233-1237
- [214] Robertson Fredika M., Long Brooks W., Tober Kathleen L., Ross Mary S., Oberszyn Tatiana M. *Gene expression and cellular sources of inducible nitric oxide synthase during tumor promotion.* Carcinogenesis (1996)17(9): 2053-2059
- [215] Takahashi Mami, Kitahashi Tsukasa, Ishigami Rikako, Mutoh Michihiro, Komyia Masami, Sato Hidetaka, Kamanaka Yoshihisa, Naka Masao, Maruyama Takayuki, Sugimura Takashi, Wakabayashi Keiji. *Increased expression of inducible nitric oxide synthase (iNOS) in N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine-induced hamster pancreatic carcinogenesis and prevention of cancer development by ONO-1714, an iNOS inhibitor.* Carcinogenesis (2008)29(8): 1608-1613
- [216] Kiskey LR., Barrett BS, Bauer AK, et al. *Genetic ablation of inducible nitric oxide synthase decreases mouse lung tumorigenesis.* Cancer Res (2002)62: 6850-6856.
- [217] Wang Bailiang, Xiong Qinghua, Shi Qian, Tan Daniel, Le Xiangdong, Xie Keping. *Genetic disruption of host Nitric Oxide Synthase II gene impairs melanoma-induced angiogenesis and suppresses pleural effusion.* Int. J. Cancer (2001)91: 607-611
- [218] Nam KT., Oh S-Y, Ahn B., Kim YB., Jang DD., Yang K-H., Hahn K-B., Kim D-Y. *Decreased Helicobacter pylori associated gastric carcinogenesis in mice lacking inducible nitric oxide synthase.* Gut (2004)53: 1250-1255
- [219] Fukumura Dai, Kashiwagi Satoshi, Jain Rakesh K. *The role of nitric oxide in tumour progression.* Nature Reviews Cancer (2006)6: 521-534
- [220] Laval F., Wink DA. *Inhibition by nitric oxide of repair protein, O6-methylguanine-DNA-methyl transferase.* Carcinogenesis (1994)15: 443-7
- [221] Graziewicz M., Wink DA, Laval F. *Nitric oxide inhibits DNA ligase activity: potential mechanisms for NO-mediated DNA damage.* Carcinogenesis (1996)17: 2501-5
- [222] Goodman Julie E., Hofseth Lorne J., Hussain S. Perwez, Harris Curtis C. *Nitric oxide and p53 in cancer-prone chronic inflammation and oxyradical overload disease.* Environmental and Molecular Mutagenesis (2004)44: 3-9
- [223] Hussain S. Perwez, Hofseth Lorne J., Harris Curtis C. *Radical Causes of Cancer.* Nature Reviews Cancer (2003)3: 276-285
- [224] Lander, H. et al. *A molecular redox switch on p21ras. Structural Basis for the nitric oxide-p21ras interaction.* J. Biol. Chem. (1997)272: 4323-4326
- [225] Chanvorachote P, Nimmannit U, Stehlik C, Wang L, Jiang BH, Ongpipatanakul B, Rojanasakul Y. *Nitric oxide regulates cell sensitivity to cisplatin-induced apoptosis through S-nitrosylation and inhibition of Bcl-2 ubiquitination.* Cancer Res. (2006)66(12):6353-60.
- [226] Chanvorachote P, Nimmannit U, Wang L, Stehlik C, Lu B, Azad N, Rojanasakul Y. *Nitric oxide negatively regulates Fas CD95-induced apoptosis through inhibition of ubiquitin-proteasome-mediated degradation of FLICE inhibitory protein.* J Biol Chem. (2005)280(51): 42044-50.
- [227] Rossig L. et al. *Nitric oxide inhibits caspase-3 by S-nitrosylation in vivo.* J. Biol. Chem. (1999)274: 6823-6826.
- [228] Tarr J.M., Eggleton P., Winyard P.G. *Nitric Oxide and the Regulation of Apoptosis in Tumour Cells.* Current Pharmaceutical Design (2006)12: 4445-4468
- [229] Choi Byung-Min, Pae Hyun-Oek, Jang Seon Il, Kim Young-Myeong, Chung Hun-Taeg *Nitric oxide as a pro-apoptotic as well as anti-apoptotic modulator.* Journal of Biochemistry and Molecular Biology (2002)35(1): 116-126
- [230] Zech B, Kohl R, von Knethen A and Brune B. *Nitric oxide donors inhibit formation of the Apaf-1/caspase-9 apoptosome and activation of caspases.* Biochem. J. (2003)371: 1055-1064
- [231] Metzzen E., Zhou J, Jelkmann W, Fandrey J, Brune B. *Nitric oxide impairs normoxic degradation of HIF-1alpha by inhibition of prolyl hydroxylases.* Mol Biol Cell (2003)14 (8):3470-81
- [232] Li F., Sonveaux P, Rabbani ZN, et al. *Regulation of HIF-1alpha stability through S-nitrosylation.* Mol Cell (2007)26(1):63-74.
- [233] Park YK., Ahn DR, Oh M, et al. *Nitric oxide donor (+/-)-S-nitroso-N-acetylpenicillamine, stabilizes transactive hypoxia-inducible factor-1alpha by inhibiting von Hippel-Lindau recruitment and asparagine hydroxylation.* Mol Pharmacol (2008)74 (1):236-45.
- [234] Ziche M., Parenti A, Ledda E, Dell'era P, Granger HJ, Maggi CA, et al. *Nitric oxide promotes proliferation and plasminogen activator production by coronary venular endothelium through endogenous bFGF.* Circ Res (1997)80: 845-52
- [235] Lee PC., Kibbe MR, Schuchert MJ, Stolz DB, Watkins S.C, Griffith BP, et al. *Nitric oxide induces angiogenesis and upregulates alpha(v)beta(3) integrin expression on endothelial cells.* Microvasc Res (2000)60: 269-80
- [236] Zaragoza, C. et al. *Activation of the mitogen activated protein kinase extracellular signal-regulated kinase 1 and 2 by the nitric oxide-cGMP-GMP-dependent protein kinase axis regulates the expression of matrix metalloproteinase 13 in vascular endothelial cells.* Mol. Pharmacol. 62, 927-935 (2002).
- [237] Marcet-Palacios, M. et al. *Nitric oxide and cyclic GMP increase the expression of matrix metalloproteinase-9 in vascular smooth muscle.* J. Pharmacol. Exp. Ther (2003) 307: 429-436.
- [238] Rahman MA, Senga T, Ito S, Hyodo T, Hasegawa H, Hamaguchi M. *S-nitrosylation at cysteine 498 of c-Src tyrosine kinase regulates nitric oxide-mediated cell invasion.* J Biol Chem. 2009
- [239] Frears ER., Zhang Z, Blake DR, O'Connell JP, Winyard PG. *Inactivation of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 by peroxynitrite.* FEBS Lett (1996)381: 21-4.
- [240] Giannopoulou E, Ravazoula P, Kalofonos H, Makatsoris T, Kardamak D. *Expression of HIF-1alpha and iNOS in astrocytic gliomas: a clinicopathological study.* In Vivo. (2006)20(3):421-5.
- [241] Nakamura Y, Yasuoka H, Zuo H, Takamura Y, Miyachi A, Nakamura M, Kakudo K. *Nitric oxide in papillary thyroid carcinoma: induction of vascular endothelial growth factor D and correlation with lymph node metastasis.* J Clin Endocrinol Metab. (2006)91(4):1582-5.
- [242] Simoes Nomelini Rosekeila, de Abreu Ribeiro Livia Carolina, Martins Tavares-Murta Beatriz, Adad Sheila Jorge, Candido Murta Eddie Fernando. *Production of nitric oxide and expression of inducible nitric oxide synthase in ovarian cystic tumors.* Mediators of Inflammation (2008).
- [243] Nakamura Y, Yasuoka H, Tsujimoto M, Yoshidome K, Nakahara M, Nakao K, Nakamura M, Kakudo K. *Nitric oxide in breast cancer: induction of vascular endothelial growth factor-C and correlation with metastasis and poor prognosis.* Clin Cancer Res. (2006)12(4):1201-7.
- [244] Cianchi F, Cortesini C, Fantappiè O, Messerini L, Schiavone N, Vannacci A, Nistri S, Sardi I, Baroni G, Marzocca C, Perna F, Mazzanti R, Becchi P, Masini E. *Inducible nitric oxide synthase expression in human colorectal cancer: correlation with tumor angiogenesis.* Am J Pathol. (2003)162(3): 793-801.
- [245] Kasper Hans U., Wolf Hella, Dreber Uta, Wolf Helmut K., Kern Michael A. *Expression of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in pancreatic adenocarcinoma: Correlation with microvessel density.* World J Gastroenterol (2004)10(13):1918-1922.
- [246] Lin Z., Chen S, Ye C, Zhu S. *Nitric oxide synthase expression in human bladder cancer and its relation to angiogenesis.* Urol Res (2003)31: 232-235.
- [247] Masri FA, Comhair SA, Koeck T, Xu W, Janocha A, Ghosh S, Dweik RA, Golish J, Kinter M, Stuehr DJ, Erzurum SC, Aulak KS. *Abnormalities in nitric oxide and its derivatives in lung cancer.* Am J Respir Crit Care Med. (2005)172(5):597-605.
- [248] Wang L, Tang Z, Sun H. *Nitric oxide synthase and vascular endothelial growth factor expression in hepatocellular carcinoma and their relation to angiogenesis.* Zhonghua Zhong Liu Za Zhi. (2000)22(4):301-3. Sólo Abstract
- [249] Marzee Jacqui M., Christie Jason D., Reddy Sekhar P., Jedlicka Anne E., Vuong Hue, Lanken Paul N., Aplenc Richard, Yamamoto Tae, Yamamoto Masayuki, Cho Hye-Youn, Kleeberger Steven R. *Functional polymorphisms in the transcription factor NRF2 in humans increase the risk of acute lung injury.* FASEB J. (2007)21: 2237-2246.
- [250] Copple IM., Goldring CE, Kitteringham NR, Park BK. *The Nrf2-Keap1 defence pathway: role in protection against drug-induced toxicity.* Toxicology (2008)246(1): 24-33
- [251] Zhang DD. *Mechanistic studies of the Nrf2-Keap1 signaling pathway.* Drug Metab Rev. (2006)38(4):769-89
- [252] Li W., Kong AN. *Molecular mechanisms of Nrf2-mediated antioxidant response.* Mol Carcinog (2009)48(2):91-104
- [253] Königsberg Fainstein Mina. *Nrf2: la historia de un nuevo factor de transcripción que responde a estrés oxidativo.* Revista de Educación Bioquímica-UNAM (2007)26(1):18-25
- [254] Jaiswal Anil K. *Nrf2 signaling in coordinated activation of antioxidant gene expression.* Free Radical Biology & Medicine (2004)36(10): 1199-1207.
- [255] Lee Jong-Min et al. *Nrf2, a multi-organ protector?.* FASEB J.(2005)19: 1061-1066
- [256] Tong Kit I., Kobayashi Akira, Katsuoka Fumiki, Yamamoto Masayuki. *Two-site substrate recognition model for the Keap1-Nrf2 system: a hinge and latch mechanism.* Biol. Chem (2006)387:1311-1320
- [257] Nguyen Truyen, Yang Chung S., Pickett Cecil B. *The pathways and molecular mechanisms regulating nrf2 activation in response to chemical stress.* Free Radical Biology & Medicine (2004)37(4): 433 - 441
- [258] Jaiswal AK. *Nrf2 signaling in coordinated activation of antioxidant gene expression.* Free Radic Biol Med. (2004)36(10):1199-207
- [259] Motohashi H., Katsuoka F., Engel J.D., Yamamoto M. *Small Maf proteins serve as transcriptional cofactors for keratinocyte differentiation in the Keap1-Nrf2 regulatory pathway.* Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.(2004)101:6379-6384
- [260] Cullinan S.B., Zhang D, Hannink M., Arvisais E., Kaufman R.J., Diehl J.A. *Nrf2 is a direct PERK substrate and effector of PERK-dependent cell survival.* Mol. Cell Biol. (2003)23: 7198-7209
- [261] Jain A.K., Jaiswal A.K. 2007. *GSK-3beta acts upstream of Fyn kinase in regulation of nuclear export and degradation of NF-E2 related factor 2.* J. Biol. Chem (2007)282: 16502-16510.
- [262] Papaiahgari S., Zhang Q., Kleeberger S.R., Cho H.Y., Reddy S.P. *Hyperoxia stimulates an Nrf2-ARE transcriptional response via ROSEGF-R-P13K-Akt/ERK MAP kinase signaling in pulmonary epithelial cells.* Antioxid. Redox Signal (2006)8: 43-52.

- [263] Giudice Aldo, Montella Maurizio. *Activation of the Nrf2-ARE signaling pathway: a promising strategy in cancer prevention*. *BioEssays* (2006)28: 169-181
- [264] Lau Alexandria, Villeneuve Nicole F., Sun Zheng, Wong Pak Kin, Zhang Donna D. *Dual roles of Nrf2 in cancer*. *Pharmacological Research* (2008)58: 262-270
- [265] Surh Young-Joon. *NF- κ B and Nrf2 as potential chemopreventive targets of some anti-inflammatory and antioxidative phytonutrients with anti-inflammatory and antioxidative activities*. *Asia Pac J Clin Nutr* (2008)17(S1):269-272 269
- [266] Aoki Yasunobu, Hashimoto Akiko H., Amanuma Kimiko, Matsumoto Michi, Hiyoshi Kyoko, Takano Hirohisa, Masumura Ken-ichi, Itoh Ken, Nohmi Takehiko, Yamamoto Masayuki. *Enhanced spontaneous and Benzo(a)pyrene-induced mutations in the lung of Nrf2-deficient gpt delta mice*. *Cancer Res* (2007)67(12): 5643-5648
- [267] Ramos-Gomez Minerva, Dolan Patrick M., Itoh Ken, Yamamoto Masayuki, Kensler Thomas W. *Interactive effects of nrf2 genotype and oltipraz on benzo(a)pyrene-DNA adducts and tumor yield in mice*. *Carcinogenesis* (2003)24(3): 461-467
- [268] Ramos-Gomez Minerva, Kwak Mi-Kyoung, Dolan Patrick M., Itoh Ken, Yamamoto Masayuki, Talalay Paul, Kensler Thomas W. *Sensitivity to carcinogenesis is increased and chemoprotective efficacy of enzyme inducers is lost in nrf2 transcription factor-deficient mice*. *PNAS* (2001)98(6): 3410-3415
- [269] Aoki Y., Sato H., Nishimura N., Takahashi S., Itoh K., and Yamamoto M. *Accelerated DNA adduct formation in the lung of the nrf2 knockout mouse exposed to diesel exhaust*. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* (2001)173: 154-160.
- [270] Iida Katsuyuki, Itoh Ken, Kumagai Yoshito, Oyasu Ryoichi, Hattori Kazunori, Kawai Koji, Shimazui Toru, Akaza Hideyuki, Yamamoto Masayuki. *Nrf2 Is Essential for the Chemopreventive Efficacy of Oltipraz against Urinary Bladder Carcinogenesis*. *Cancer Research* (2004)64: 6424-6431
- [271] Osburn William O., Karim Baktiar, Dolan Patrick M., Liu Guosheng, Yamamoto Masayuki, Huso David L., Kensler Thomas W. *Increased colonic inflammatory injury and formation of aberrant crypt foci in Nrf2-deficient mice upon dextran sulfate treatment*. *Int. J. Cancer* (2007)121: 1883-1891
- [272] Khor T., Huang M., Kwon K., Chan J., Reddy B., Kon A. Ng. *Nrf2-deficient mice have an increased susceptibility to dextran sulfate sodium-induced colitis*. *Cancer Res* (2006)66: 11580-11584
- [273] Kitamura Yasuki, Umemura Takashi, Kanki Keita, Kodama Yukio, Kitamoto Sachiko, Saito Koichi, Itoh Ken, Yamamoto Masayuki, Masegi Toshiaki, Nishikawa Akiyoshi, Hirose Masao. *Increased susceptibility to hepatocarcinogenicity of Nrf2-deficient mice exposed to 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline*. *Cancer Sci* (2007)98 (1):19-24
- [274] auf dem Keller Ulrich, Huber Marcel, Beyer Tobias A., Künin Angelika, Siemes Christina, Braun Susanne, Bugnon Philippe, Mitropoulos Varvara, Johnson Delinda A., Johnson Jeffrey A., Hohl Daniel, Werner Sabine. *Nrf transcription factors in keratinocytes are essential for skin tumor prevention but not for wound healing*. *Molecular and Cellular Biology* (2006)26(10): 3773-3784
- [275] Xu Changjiang, Huang Mou-Tuan, Shen Guoxiang, Yuan Xiaoling, Lin Wen, Khor Tin Oo, Conney Allan H., Kong Ah-Ng Tony. *Inhibition of 7,12-Dimethylbenz(a)anthracene-induced skin tumorigenesis in C57BL/6 mice by sulforaphane is mediated by nuclear factor E2-related factor 2*. *Cancer Res* (2006)66(16): 8293-8296
- [276] Zhang Y., Kensler T., Cho C., Posner G., Talalay P. *Anticarcinogenic activities of sulforaphane and structurally related synthetic norbornyl isothiocyanates*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* (1994)91: 3147-3150
- [277] Fahey J., Haristoy X., Dolan P., Kensler T., Scholtz I., Stephenson K., Talalay P., Lozniewski A. *Sulforaphane inhibits extracellular, intracellular, and antibiotic-resistant strains of Helicobacter pylori and prevents benzo(a)pyrene-induced stomach tumors*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* (2002)99: 7610-7615.
- [278] Xu C., Huang M., Shen G., Yuan X., Lin W., Khor T., Conney A., Kong A.T. *Inhibition of 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced skin tumorigenesis in C57BL/6 mice by sulforaphane is mediated by nuclear factor E2-related factor 2*. *Cancer Res* (2006)66: 8293-8296.
- [279] Farombi O., Shrotiya S., Na HK, Surh YJ. *Curcumin attenuates dimethylnitrosamine-induced liver injury in rats via Nrf2-mediated induction of heme oxygenase-1*. *Food and Chemical Toxicology* (2008)46: 1279-1287
- [280] Yuan Jun-Hua, Li Yan-Qing, Yang Xiao-Yun. *Protective Effects of Epigallocatechin Gallate on Colon Preneoplastic Lesions Induced by 2-Amino-3-Methylimidazo[4,5-f]Quinoline in Mice*. *Mol Med* (2008)14 (9-10): 590-598
- [281] Hu Liangao, Miao Weimin, Loignon Martin, Kandouz Mustapha, Batist Gerald. *Putative chemopreventive molecules can increase Nrf2-regulated cell defense in some human cancer cell lines, resulting in resistance to common cytotoxic therapies*. *Cancer Chemother Pharmacol* (2009)
- [282] Cho Jeong-Min, Manandhar Sarala, Lee Hyang-Rim, Park Hyun-Min, Kwak Mi-Kyoung. *Role of the Nrf2-antioxidant system in cytotoxicity mediated by anticancer cisplatin: Implication to cancer cell resistance*. *Cancer Letters* (2008)260: 96-108
- [283] Shim Gi-seong, Manandhar Sarala, Shin Dong-ha, Kim Tae-Hyung, Kwak Mi-Kyoung. *Acquisition of doxorubicin resistance in ovarian carcinoma cells accompanies activation of the NRF2 pathway*. *Free Radical Biology & Medicine* (2009)47: 1619-1631
- [284] Akhdar Hanane, Loyer Pascal, Rauch Claudine, Corlu Anne, Guillouzo André, Morel Fabrice. *Involvement of Nrf2 activation in resistance to 5-fluorouracil in human colon cancer HT-29 cells*. *European Journal of Cancer* (2009)45: 2219-2227
- [285] Singh Anju, Boldin-Adamsky Svetlana, Thimmulappa Rajesh K., Rath Srikanta K., Ashush Hagit, Coulter Jonathan, Blackford Amanda, Goodman Steven N., Bunz Fred, Watson Walter H., Gabrielson Edward, Feinstein Elena, Biswal Shyam. *RNAi-mediated silencing of nuclear factor erythroid-2-related factor 2 gene expression in non-small cell lung cancer inhibits tumor growth and increases efficacy of chemotherapy*. *Cancer Res* (2008)68(19):7975-84
- [286] Hayes John D., McMahon Michael. *Nrf2 and Keap1 mutations: permanent activation of an adaptive response in cancer*. *Trends in Biochemical Sciences* (2008)34(4):176-188
- [287] Padmanabhan B., Tong K.I., Ohta T., Nakamura Y., Scharlock M., Ohtsui M., Kang M.I., Kobayashi A., Yokoyama S., Yamamoto M. *Structural basis for defects of Keap1 activity provoked by its point mutations in lung cancer*. *Mol. Cell* (2006)21: 689-700
- [288] Shibata T., Ohta T., Tong K.I., Kokubu A., Odogawa R., Tsuta K., Asamura H., Yamamoto M., Hirohashi S. *Cancer related mutations in NRF2 impair its recognition by Keap1-Cul3 E3 ligase and promote malignancy*. *PNAS, U.S.A.* (2008)105: 13568-13573
- [289] Singh Anju, Misra Vikas, Thimmulappa Rajesh K., Lee Hannah, Ames Stephen, Hoque Mohammad O., Herman James G., Baylin Stephen B., Sidransky David, Gabrielson Edward, Brock Malcolm V., Biswal Shyam. *Dysfunctional KEAP1-NRF2 interaction in non-small-cell lung cancer*. *PLoS Medicine* (2006)3(10):1865-1876
- [290] Ohta Tsutomu, Iijima Kumiko, Miyamoto Mamiko, Nakahara Izumi, Tanaka Hiroshi, Ohtsui Makiko, Suzuki Takafumi, Kobayashi Akira, Yokota Jun, Sakiyama Tokuki, Shibata Tatsuhiro, Yamamoto Masayuki, Hirohashi Setsuo. *Loss of Keap1 function activates Nrf2 and provides advantages for lung cancer cell growth*. *Cancer Res* (2008)68 (5):1303-9
- [291] Wang Rui, An Jing, Ji Fengqing, Jiao Huiqin, Sun Haimei, Zhou Deshan. *Hypermethylation of the Keap1 gene in human lung cancer cell lines and lung cancer tissues*. *Biochemical and Biophysical Research Communications* (2008)373: 151-154
- [292] Ishii Yukio, Itoh Ken, Morishima Yuko, Kimura Toru, Kiwamoto Takumi, Iizuka Takashi, Hegab Ahmed E., Hosoya Tomonori, Nomura Akihiro, Sakamoto Tohru, Yamamoto Masayuki, Sekizawa Kiyohisa. *Transcription factor Nrf2 plays a pivotal role in protection against elastase-induced pulmonary inflammation and emphysema*. *The Journal of Immunology* (2005)175: 6968-6975
- [293] Iizuka Takashi, Ishii Yukio, Itoh Ken, Kiwamoto Takumi, Kimura Toru, Matsuno Yosuke, Morishima Yuko, Hegab Ahmed E., Homma Shinsuke, Nomura Akihiro, Sakamoto Tohru, Shimura Masako, Yoshida Aruto, Yamamoto Masayuki, Sekizawa Kiyohisa. *Nrf2-deficient mice are highly susceptible to cigarette smoke-induced emphysema*. *Genes to Cells* (2005)10:1113-1125
- [294] Rangasamy Tirumalai, Guo Jia, Mitzner Wayne A., Roman Jessica, Singh Anju, Fryer Allison D., Yamamoto Masayuki, Kensler Thomas W., Tuder Rubin M., Georas Steve N., Biswal Shyam. *Disruption of Nrf2 enhances susceptibility to severe airway inflammation and asthma in mice*. *JEM* (2005)202: 47-59
- [295] Papaiahgari Srinivas, Yerrapureddy Adi, Reddy Swetha R., Reddy Narsa M., Dodd-O Jeffery M., Crow Michael T., Grigoryev Dimitry N., Barnes Kathleen, Tuder Rubin M., Yamamoto Masayuki, Kensler Thomas W., Biswal Shyam, Mitzner Wayne, Hassoun Paul M., Reddy Sekhar P. *Genetic and pharmacologic evidence links oxidative stress to ventilator-induced lung injury in mice*. *Am J Respir Crit Care Med* (2007)176:1222-1235
- [296] Ji Li Ying, Takizawa Hajime, Azuma Arata, Kohyama Tadashi, Yamauchi Yasuhiro, Takahashi Satoru, Yamamoto Masayuki, Kawada Tomoyuki, Kudoh Shoji, Sugawara Isamu. *Disruption of Nrf2 enhances susceptibility to airway inflammatory responses induced by low-dose diesel exhaust particles in mice*. *Clinical Immunology* (2008)128: 366-373
- [297] Cho Hye-Young, Kleeberger Steven R. *Nrf2 protects against airway disorders*. *Toxicology and Applied Pharmacology* (2009)
- [298] Mochizuki Mie, Ishii Yukio, Itoh Ken, Iizuka Takashi, Morishima Yuko, Kimura Toru, Kiwamoto Takumi, Matsuno Yosuke, Hegab Ahmed E, Nomura Akihiro, Sakamoto Tohru, Uchida Koji, Yamamoto Masayuki, Sekizawa Kiyohisa. *Role of 15- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin F₂ and Nrf2 pathways in protection against acute lung injury*. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* (2005)171:1260-1266
- [299] Reddy Narsa M., Kleeberger Steven R., Kensler Thomas W., Yamamoto Masayuki, Hassoun Paul M., Reddy Sekhar P. *Disruption of Nrf2 impairs the resolution of hyperoxia-induced acute lung injury and inflammation in mice*. *The Journal of Immunology* (2009a) 182: 7264-7271.
- [300] Reddy Narsa M., Suryanaraya Veerajaru, Yates Melinda S., Kleeberger Steven R., Hassoun Paul M., Yamamoto Masayuki, Liby Karen T., Sporn Michael B., Kensler Thomas W., Reddy Sekhar P. *The tripterenone CDDO-imidazole confers potent protection against hyperoxic acute lung injury in mice*. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* (2009)180: 867-874
- [301] Chowdhry Sudhir, Nazmy Maiiada H., Meakin Paul J., Dinkova-Kostova Albena T., Walsh Shaun V., Tsujita Tadayuki, Dillon John F., Ashford Michael L.J., Hayes John D. *Loss of Nrf2 markedly exacerbates nonalcoholic steatohepatitis*. *Biol. Med.* (2009).
- [302] Sugimoto Hirokazu, Okada Kosuke, Shoda Junichi, Warabi Eiji, Ishige Kazunori, Ueda Tetsuya, Taguchi Keiko, Yanagawa Toru, Nakahara Akira, Hyodo Ichinosuke, Ishii Tetsuro, Yamamoto Masayuki. *Deletion of Nuclear Factor-E2-Related Factor-2 leads to rapid onset and progression of nutritional steatohepatitis in mice*. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* (2009).
- [303] Xu Weihua, Hellerbrand Claus, Köhler Ulrike A., Bugnon Philippe, Kan Yuet-Wai, Werner Sabine, Beyer Tobias A. *The Nrf2 transcription factor protects from toxin-induced liver injury and fibrosis*. *Laboratory Investigation* (2008)88: 1068-1078
- [304] Osburn William O., Karim Baktiar, Dolan Patrick M., Liu Guosheng, Yamamoto Masayuki, Huso David L., Kensler Thomas W. *Increased colonic inflammatory injury and formation of aberrant crypt foci in Nrf2-deficient mice upon dextran sulfate treatment*. *Int. J. Cancer* (2007)121: 1883-1891
- [305] Jin Wei, Wang Handong, Yan Wei, Xu Lizhi, Wang Xiaoliang, Zhao Xiaoning, Yang Xiaohu, Chen Gang, Ji Yan. *Disruption of Nrf2 enhances upregulation of Nuclear Factor- κ B activity, proinflammatory cytokines, and intercellular adhesion Molecule-1 in the brain after Traumatic Brain Injury*. *Mediators of Inflammation* (2008)725: 1-7
- [306] Jin Wei, Wang Handong, Ji Yan, Hub Qingang, Yan Wei, Chen Gang, Yin Hongxia. *Increased intestinal inflammatory response and gut barrier dysfunction in Nrf2-deficient mice after traumatic brain injury*. *Cytokine* (2008)44:135-140
- [307] Jin Wei, Wang Handong, Ji Yan, Zhu Lin, Yan Wei, Qiao Liang, Yin Hongxia. *Genetic ablation of Nrf2 enhances susceptibility to acute lung injury after traumatic brain injury in mice*. *Exp Biol Med* (2009)234:181-189
- [308] Khor Tin Oo, Huang Mou-Tuan, Prawan Auemduan, Liu Yue, Hao Xingpei, Yu Siwang, Lung Cheung William Ka, Chan Jefferson Y., Reddy Bandaru S., Yang Chung S., Kong Ah-Ng. *Increased susceptibility of Nrf2 knockout mice to colitis-associated colorectal cancer*. *Cancer Prev Res* (2008)1(3):187-191
- [309] Innamorato Nadia G., Rojo Ana I., Garcia-Yague Ángel J., Yamamoto Masayuki, de Ceballos María L., Cuadrado Antonio. *The transcription factor Nrf2 is a therapeutic target against brain inflammation*. *The Journal of Immunology* (2008)181: 680-689.
- [310] Ma Qiang, Battelli Lori, Hubbs Ann F. *Immunopathology and infectious diseases multiorgan autoimmune inflammation, enhanced lymphoproliferation,*

- and impaired homeostasis of Reactive Oxygen Species in mice lacking the antioxidant-activated transcription factor *Nrf2*. *American Journal of Pathology* (2006)**168**(6): 1960–1974
- [311] Arisawa Tomiyasu, Tahara Tomomitsu, Shibata Tomoyuki, Nagasaka Mitsuo, Nakamura Masakatsu, Kamiya Yoshio, Fujita Hiroshi, Hasegawa Shin, Takagi Tamaki, Wang Fang-Yu, Hirata Ichiro, Nakano Hiroshi. *The relationship between Helicobacter pylori infection and promoter polymorphism of the NRF2 gene in chronic gastritis*. *Int. J. Mol. Med.*(2007)**19**: 143–148.
- [312] Arisawa, T., Tahara T., Shibata T., Nagasaka M., Nakamura M., Kamiya Y., Fujita H., Yoshioka D., Okubo M., Sakata M., *et al.* *NRF2 gene promoter polymorphism is associated with ulcerative colitis in a Japanese population*. *Hepatology* (2008)**55**: 394–397.
- [313] Arisawa, T., Tahara T., Shibata T., Nagasaka M., Nakamura M., Kamiya Y., Fujita H., Yoshioka D., Okubo M. *Association between promoter polymorphisms of nuclear factor-erythroid 2-related factor 2 gene and peptic ulcer diseases*. *Int. J. Mol. Med* (2007)**20**: 849–853.
- [314] Mantovani Alberto. *Inflaming metastasis*. *Nature* (2009)**457**(1):36-37
- [315] Gajraj Noor M. *Cyclooxygenase-2 Inhibitors*. *Anesth Analg* (2003)**96**:1720–38
- [316] Bresalier RS, Sandler RS, Quan H *et al.* *Cardiovascular events associated with rofecoxib in a Colorectal Adenoma Chemoprevention Trial*. *N Engl J Med* (2005)**352**: 1092–102.
- [317] FitzGerald GA. *Coxibs and cardiovascular disease*. *N Engl J Med* (2004)**351**: 1709–11.
- [318] Mukherjee D., Nissen SE, Topol EJ. *Risk of cardiovascular events associated with selective COX-2 inhibitors*. *JAMA* (2001)**286**: 954–9.
- [319] Baud Véronique, Karin Michael. *Is NFκB a good target for cancer therapy? Hopes and pitfalls*. *Nature Reviews Drug Discovery* (2009)**8**: 33-40
- [320] Karin Michael. *Nuclear factor-κB in cancer development and progression*. *Nature* (2006)**441**(25): 431-436
- [321] Huerta Sergio, Chilka Sapna, Bonavida Benjamin. *Nitric oxide donors: Novel cancer therapeutics*. *International Journal of Oncology* (2008)**33**: 909-927
- [322] Yamamoto T., Terada N, Nishizawa Y, *et al.* *Effects of NGitro- L-arginine and/or L-arginine on experimental pulmonary metastasis in mice*. *Cancer Lett* (1994)**87**: 115-120.
- [323] Schleiffer R, Duranton B, Gosse F, Bergmann C., Raul F. *Nitric oxide synthase inhibition promotes carcinogen-induced preneoplastic changes in the colon of rats*. *Nitric Oxide* (2000)**4**: 583-589
- [324] Wetscher G.J., Hinder R.A., Bagchi D., Hinder P.R., Bagchi M., Perdakis G., McGinn T. *Reflux esophagitis in humans is mediated by oxygen-derived free radicals*. *Am. J. Surg.* (1995)**170**: 552–556.
- [325] Cobbe S.C., Scobie G.C., Pohler E., Hayes J.D., Kernohan N.M., Dillon J.F. *Alteration of glutathione-S-transferase levels in Barrett's metaplasia compared to normal oesophageal epithelium*. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* (2003)**15**: 41–47.