



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de Grado en Veterinaria

Ciclooxigenasas y neoplasias: el papel de los AINEs

Cyclooxygenases and cancer: the role of NSAIDs

Autor/es

Luz Roda Huertas

Director/es

José Javier Aramayona Alonso

Facultad de Veterinaria

2021

Índice

1. Introducción	2
2. Justificación y objetivos	3
3. Metodología	3
4. Resultados y discusión	3
4.1. Generalidades sobre ciclooxigenasas y AINES	3
4.2. Relación de las COXs con las neoplasias	5
4.2.1. Apoptosis.....	6
4.2.2. Angiogénesis.....	7
4.2.3. Microambiente tumoral	8
4.2.4. Inmunovigilancia	9
4.2.5. Metástasis	10
4.2.6. El papel de la COX-1	11
4.3. Expresión de ciclooxigenasas en neoplasias de pequeños animales	12
4.3.1. Neoplasias de mama felinas.....	12
4.3.2. Neoplasias de mama caninas	12
4.3.3. Carcinoma prostático canino	16
4.3.4. Neoplasias de células transicionales caninos y felinos	16
4.3.5. Mastocitoma canino.....	17
4.3.6. Carcinoma de células escamosas canino y felino.....	17
4.3.7. Carcinoma nasal canino	18
4.3.8. Melanoma canino.....	19
4.3.9. Carcinoma renal canino.....	19
4.3.10. Carcinoma tiroideo canino	20
4.3.11. Osteosarcoma apendicular canino.....	20
4.3.12. Otras neoplasias	20
4.4. AINEs y COXIBs: terapia anticáncer en perros y gatos	20
4.4.1. Neoplasias mamarias caninas y felinas	20
4.4.2. Neoplasias prostáticas caninas.....	22
4.4.3. Carcinoma de células transicionales felino	23
4.4.4. Carcinoma de células transicionales canino.....	23
4.5. Sesgos y limitaciones de los estudios	25
5. Conclusiones/Conclusions	25
6. Valoración personal	26
7. Bibliografía	26

RESUMEN

El cáncer es una patología cuya relevancia va en aumento, que ha supuesto la publicación de múltiples estudios sobre los mecanismos y biomarcadores implicados, con el objetivo de mejorar las estrategias diagnósticas y terapéuticas tanto en humanos como en pequeños animales. La posible participación de la ciclooxigenasa-2 en la carcinogénesis no es una hipótesis reciente pero va cobrando más importancia según avanza la investigación. Actualmente, abundan los estudios que valoran la expresión de esta proteína en neoplasias de perros y gatos y aunque los resultados son variables parece razonable concluir que esta ciclooxigenasa se expresa en distintos tipos de cáncer. Los antiinflamatorios no esteroideos inhiben las ciclooxigenasas por lo que se espera que sean efectivos en aquellas neoplasias que las expresan y así lo han confirmado algunos estudios clínicos. Sin embargo, dichos estudios no están exentos de sesgos y limitaciones por lo que sería apropiado que continúe la investigación en este campo.

ABSTRACT

Cancer is a pathology of increasing relevance that has led to the publication of multiple studies on the mechanisms and biomarkers involved, aiming to improve diagnostic and therapeutic strategies in both humans and small animals. The possible participation of cyclooxygenase-2 in carcinogenesis is not a recent hypothesis but is gaining importance as research progresses. There are now many studies assessing the expression of this protein in neoplasms in dogs and cats and although the results are variable, it seems reasonable to conclude that this cyclooxygenase is expressed in different types of cancer. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs inhibit cyclooxygenases and are therefore expected to be effective in neoplasms expressing this protein, which has been confirmed in clinical studies. However, such studies are not exempt of biases and limitations so further research in this field is required.

1. Introducción

La historia de los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) y sus propiedades terapéuticas tan conocidas hoy en día comienza con el ácido acetilsalicílico, un compuesto presente en la corteza del sauce blanco que en el 1983 Bayer empezó a producir (Dubois et al., 1998). Las indicaciones más frecuentes de esta familia de fármacos se basan en sus acciones antiinflamatorias, antipiréticas y analgésicas aunque en los últimos años se ha extendido a otros campos como la oncología. A pesar de su amplio uso, los AINEs no están exentos de efectos adversos, principalmente a nivel gastrointestinal, renal y hepático. En pequeños animales no está tan acotada la incidencia real de estos efectos e incluso podría estar subestimada y no puede establecerse un paralelismo estricto con los observados en la especie humana ya que su metabolismo, su absorción y recirculación enterohepática son diferentes y pueden presentar diferencias significativas. En un intento de evitar dichos efectos se han desarrollado nuevos fármacos más seguros como los COXIBs, que se pueden administrar a largo plazo con mayor índice de seguridad (Bergh y Budsberg, 2005).

La prevalencia de neoplasias en pequeños animales parece ir en aumento en los últimos años, de forma semejante a lo observado en la especie humana y asociado probablemente a una mayor esperanza de vida, que supone una mayor exposición a agentes carcinogénicos. Además, el cáncer es una de las principales causas de muerte tanto en humanos como en perros y gatos. En perros mayores de 10 años las neoplasias producen aproximadamente un 45% de muertes y en gatos un 32% (Bronson, 1982). El pronóstico de estas patologías está muy influido por la precocidad del diagnóstico lo cual permite aplicar tratamientos efectivos que mejoren la calidad de vida, y si es posible alarguen el tiempo de supervivencia del animal sometido a terapia. En este sentido, se han abierto muchas líneas de investigación que tratan de identificar los mecanismos implicados en la carcinogénesis y determinar la utilidad de diversos biomarcadores que pudieran resultar relevantes, uno de ellos es la ciclooxigenasa-2. Los estudios clínicos y epidemiológicos en humanos en relación a la COX-2 y su papel en el cáncer empezaron hace aproximadamente 20 años y hoy en día siguen siendo trascendentes (Szweda et al., 2020). Sin embargo, en medicina veterinaria las publicaciones sobre este tema no son tan abundantes.

La relación de la COX-2 con la progresión tumoral sugiere que el tratamiento del cáncer con AINEs podría ser opción una para aumentar el tiempo de supervivencia y mejorar la calidad de vida de los pacientes. El descubrimiento inicial de la asociación de los AINEs a una menor incidencia de cáncer de colon fue esperanzador en su día y cada vez la investigación sobre este tema progresa más, actualmente hay un número de publicaciones nada desdeñable que

estudian la posible implicación de la COX-2 en la carcinogénesis y su presencia en las neoplasias (Nardi et al., 2011).

2. Justificación y objetivos

Antes del año 2000 ya existía evidencia en medicina humana de que el uso continuado de aspirina reducía las muertes producidas por cáncer de colon, y no tardó en hipotetizarse el vínculo entre este AINE inespecífico y las ciclooxigenasas a las que inhiben. Los estudios en pequeños animales llegaron más tarde tratando de observar si estos fármacos también resultaban útiles en el tratamiento del cáncer en especies de interés veterinario.

Por una parte, este trabajo pretende revisar los mecanismos por los que las ciclooxigenasas y sus metabolitos se han asociado a la carcinogénesis, así como conocer los resultados y conclusiones de los estudios que analizan la expresión de ciclooxigenasas y prostanoïdes en una variedad de neoplasias en pequeños animales, en este caso perros y gatos.

Por otra parte, se busca revisar y reunir los resultados de los estudios sobre el tratamiento de neoplasias en estas especies con AINEs y sus implicaciones.

3. Metodología

Se ha realizado una revisión bibliográfica partiendo de las publicaciones procedentes de distintas bases de datos. Inicialmente se ha llevado a cabo una búsqueda en PubMed empleando términos como "cyclooxygenase", "neoplasia", "cancer", "COX-2", "carcinogenesis", "NSAID", "tumorigenesis" y "therapy". Una vez se han obtenido la mayoría de los artículos relevantes, se procede a efectuar una segunda búsqueda en Web of Science, ScienceDirect y en el Catálogo Roble de la Biblioteca de la Universidad de Zaragoza con el fin de acceder a estudios no hallados previamente o bien para comprobar si hay más publicaciones en estas bases de datos. También se buscan términos más específicos como los diferentes tipos de neoplasias ("transitional cell carcinoma", "prostatic carcinoma", "mammary tumour", etc) y la especie ("canine", "feline").

Los resultados se ordenan por fecha de publicación y los que se utilizan en esta revisión son por lo general posteriores al 2000, con alguna excepción puntual.

4. Resultados y discusión

4.1. Generalidades sobre ciclooxigenasas y AINES

Los prostanoideos son un conjunto de sustancias derivadas de ácidos grasos eicosanoides que incluyen las prostaglandinas, prostaciclina y tromboxanos. Actúan como mediadores en procesos fisiológicos y patológicos interaccionando con receptores de la superficie de las células diana (Patrignani et al., 2005).

Se forman a partir del ácido araquidónico, un ácido graso insaturado localizado en las membranas lipídicas celulares, cuyo metabolismo requiere su liberación previa mediante fosfolipasas. Una vez liberado puede metabolizarse por ciclooxigenasas, lipoxigenasas, citocromo P-450 o por vías no enzimáticas (Williams et al., 1999).

Inicialmente el ácido araquidónico se convierte en prostaglandina G₂ y esta se reduce para formar la prostaglandina H₂. La PGH₂ es la precursora de diferentes compuestos activos biológicamente: prostaglandina D₂ (PGD₂), prostaglandina E₂ (PGE₂), prostaglandina F₂ alfa (PGF₂α), prostaciclina (PGI₂) y tromboxano A₂ (TxA₂) (Evans y Kargman, 2004). Nos centraremos en el paso de ácido araquidónico a PGG₂ y PGH₂ por la vía de las ciclooxigenasas.

Existen dos ciclooxigenasas, las isoformas COX-1 y la COX-2, con una homología estructural elevada pero cuya expresión se regula de forma diferente. Se considera que la COX-1 es una isoforma constitutiva y la COX-2 una isoforma inducible (Jones y Budsberg, 2000). Ambas ciclooxigenasas emplean los mismos sustratos, producen los mismos productos y catalizan la misma reacción por el mismo mecanismo (Zha et al., 2004).

La COX-1 está presente de forma basal en múltiples tejidos como los que forman el estómago, riñones, tracto reproductivo femenino, plaquetas, pulmones, intestino delgado, ciego y colon (Jones y Budsberg, 2000). La COX-1 genera prostaglandinas de la serie E, prostaciclina y tromboxanos, sustancias asociadas a procesos fisiológicos como la agregación plaquetaria o la integridad de las mucosas (Flory y LeBlanc, 2005). La COX-2 solo se expresa constitutivamente en el sistema nervioso central, riñones y vesículas seminales de algunas especies (Jones y Budsberg, 2000). En el resto de los tejidos no se detecta o lo hace de forma muy minoritaria, concluyendo que su expresión se induce como respuesta a distintos estímulos.

Los estímulos que promueven la expresión de COX-2 son, entre otros, citoquinas proinflamatorias, carcinógenos y oncogenes como por ejemplo factores de crecimiento y algunas interleucinas (Flory y LeBlanc, 2005). Además, células como monocitos, macrófagos, condrocitos, células musculares lisas, fibroblastos y células endoteliales expresan COX-2 como respuesta a estímulos mitogénicos (Jones y Budsberg, 2000). Por el contrario, las citoquinas IL-10, IL-13 y la IL-4 han demostrado suprimir la expresión de COX-2 (Niironen et al., 1998).

La PGE2 es la prostaglandina más abundante en el organismo y también sobre la que más se ha estudiado en relación con las neoplasias. Una vez formada se difunde y se une a receptores de membrana acoplados a proteínas G que se denominan EP1, EP2, EP3 y EP4. Cada uno ejerce diferentes efectos, incluso opuestos en algunos casos, y activa diferentes vías celulares (Breyer et al., 2001; Schneider y Pozzi, 2011). Al parecer se ha detectado un aumento del receptor EP4 en algunas neoplasias, asociándose a la proliferación celular, migración, invasión y metástasis a través de la activación de vías de señalización como el ERK (quinasa regulada por señales extracelulares), cAMP (adenosín monofosfato cíclico) /PKA (proteína quinasa A), PI3K (fosfatidilinositol3-kinasa) /AKT (proteína kinasa B), and NF-κB (Ching, Reader y Fulton, 2020). Algunas prostaglandinas como la PGE2 pueden activar de forma indirecta los PPARs (Receptores activados por proliferadores peroxisómicos) (Wang et al., 2005).

Los AINEs poseen la capacidad de inhibir ambas ciclooxigenasas, aunque la proporción de inhibición de una u otra isoforma varía en función del fármaco estudiado. De esta forma, son capaces de disminuir las reacciones que generan las prostaglandinas y otros metabolitos que contribuyen a la inflamación y el dolor (Bacchi et al., 2012).

Hay diferentes clasificaciones de los AINES, entre otras, según su selectividad sobre las ciclooxigenasas. Los AINES pueden ser (a) no selectivos e inhibir por completo COX-1 y COX-2 (ibuprofeno), (b) selectivos e inhibir ambas pero con preferencia por la COX-2 (meloxicam), o (c) COXIBs e inhibir intensamente COX-2 y solo ligeramente COX-1 (rofecoxib) o inhibir ligeramente ambas (salicilato sódico) (Bacchi et al., 2012).

4.2. Relación de las ciclooxigenasas con las neoplasias

En base a evidencias obtenidas en experimentos con animales, genética molecular y pruebas epidemiológicas se ha demostrado que la COX-2 está implicada en el cáncer de colon en humanos (Prescott y Fitzpatrick, 2000). El primer indicio de la posible implicación de la COX-2 en el cáncer fue que el tratamiento con AINEs en pacientes con poliposis intestinal múltiple resultaba en una reducción del número de adenomas (Waddell y Loughry, 1983). En los resultados obtenidos del experimento con ratones APC, un modelo de la poliposis adenomatosa familiar humana, se observó que en animales knock-out para el gen de COX-2 (Ptgs2) y en animales tratados con inhibidores selectivos de COX-2 los pólipos eran menores en número y tamaño (Oshima et al., 1996). En estudios de tipo epidemiológico como el de Thun, Namboodiri y Heath (1991), se observó que el uso regular a dosis bajas de aspirina podía reducir la mortalidad por cáncer de colon. La COX-2 apenas está presente en los tejidos de forma

fisiológica, sin embargo se ha detectado una elevada expresión de COX-2 en algunas neoplasias en humanos como cáncer de próstata, vejiga, mama, piel, pulmón, esófago, páncreas, cuello y cabeza (Hayes, 2007).

Se considera que los efectos carcinógenos de la COX-2 están mayoritariamente relacionados con las PGE2 ya que se han detectado niveles elevados de esta prostaglandina en carcinomas y adenomas colorrectales humanos, entre otros (Greenhough et al., 2009). El estudio realizado por Wang et al., (2005) muestra que la PGE2 amplifica la expresión de COX-2, dándose un ciclo de realimentación positiva, pudiendo explicar por qué la ciclooxigenasa está aumentada en las neoplasias. Las prostaglandinas, especialmente la PGE2, pueden ejercer efectos pleiotrópicos contribuyendo a la apoptosis, proliferación, supervivencia, angiogénesis, migración e invasión, evasión del sistema inmune (Greenhough et al., 2009; Goradel et al., 2019;).

La COX-2 se ha asociado con la inflamación crónica y la posibilidad de que su sobreexpresión promueva la transformación de la inflamación en neoplasia se ha estudiado desde hace décadas (Williams et al., 1999).

4.2.1. Apoptosis

El crecimiento tumoral requiere de una intensa proliferación celular pero también depende de conseguir la supervivencia de las células alteradas lo cual implica una inhibición de la apoptosis (Cathcart et al., 2011). El proceso de muerte celular programada parece verse disminuido por la expresión de COX-2, lo que facilita la supervivencia de células que van acumulando cambios genéticos, favoreciendo así la carcinogénesis (Hayes, 2007). Se ha propuesto que la desregulación de la proliferación celular junto a la resistencia a la apoptosis son procesos necesarios y suficientes para el crecimiento de tumores y su malignidad (Green y Evan, 2002; Greenhough et al., 2009). La mayoría de los mecanismos que implican la evasión de la apoptosis se relacionan con la vía intrínseca. Esta depende de la proporción entre proteínas de la familia BCL-2 proapoptóticas y antiapoptóticas, que determinan el umbral a partir del que se activa la cascada de caspasas que conduce a la apoptosis (Danial y Korsmeyer, 2004).

En los últimos años se ha establecido una relación importante entre la recepción de señales extracelulares y la activación de vías que suprimen la apoptosis intrínseca, como la de PI3K/AKT y la de MAPK (proteínas quinasas activadas por mitógeno) /ERK. Es probable que este sea el mecanismo por el que COX-2/PGE2 regula la muerte celular, mediante la participación de vías de señalización como las mencionadas. Para que esto suceda previamente la PGE2 debe haber activado uno o más de sus receptores EP en la superficie celular (Greenhough et al., 2009).

Se han identificado otras vías de señalización que promueven la supervivencia celular y aumentan la expresión de BCL-2, como la señalización de cAMP/PKA y la activación de la señalización del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) (Greenhough et al., 2009). Wang et al., (2004) demostró que los receptores activados por proliferadores peroxisómicos (PPAR δ) están implicados en la supervivencia celular, promoviendo la carcinogénesis en neoplasias colorrectales mediante la transactivación de la vía PI3K/AKT. Sin embargo, todavía no está claro su papel específico en el desarrollo tumoral (Greenhough et al., 2009).

Pese a no conocerse con exactitud los mecanismos implicados en la inhibición de la apoptosis por mediación de la COX-2, la evidencia revela que esta enzima podría favorecer la carcinogénesis. Por ejemplo, hay estudios que indican que la PGE2 fomenta la resistencia de las células a condiciones ambientales como la hipoxia y posiblemente esté vinculada en la transición de adenoma a carcinoma (Greenhough et al., 2009). Asimismo, la COX-2/PGE2 podría disminuir la sensibilidad de las células tumorales a tratamientos citotóxicos. En estudios como el de Tessner et al., (2004) se observó que la PGE2 inhibía la apoptosis de un tratamiento de radiación, por mediación del receptor EP2, la fosforilación de AKT y la inhibición de la translocación de bax.

4.2.2. Angiogénesis

La angiogénesis consiste en la formación de nuevos vasos sanguíneos necesarios para el crecimiento tumoral y la metástasis. Los factores proangiogénicos liberados por las células tumorales implican el reclutamiento de células, su proliferación, migración y formación de túbulos (Cathcart et al., 2011). Generalmente los factores que favorecen la angiogénesis son producidos por las propias células neoplásicas aunque también pueden proceder del propio organismo; de origen endocrino, paracrino o autocrino (Sobczyńska-Rak, Silmanowicz y Polkowska, 2016). Algunos de los factores conocidos son el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) y el factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF) (Ghosh et al., 2010). La COX-2 ha demostrado inducir ciertos factores proangiogénicos como la óxido sintasa inducible, el VEGF, las interleucinas 6 y 8 y el TIE2 (Mazhar, Gillmore y Waxman, 2005).

El tromboxano A2, la PGI2 y la PGE2, todos ellos metabolitos de la vía de las ciclooxigenasas, ejercen efectos proangiogénicos mediante la producción de VEGF, neoformación y migración de vasos, mayor supervivencia de las células endoteliales mediante la expresión de Bcl-2 y la vía de señalización AKT, inducción de metaloproteinasas, activación de la angiogénesis mediada por el receptor del VEGF y supresión de la producción de interleucina (Ghosh et al., 2010).

El papel de la PGE2 en la angiogénesis se conoce desde tiempo atrás y varios estudios han demostrado que puede estimular la formación de nuevos vasos induciendo de forma indirecta la liberación de diferentes factores o bien de forma directa influyendo sobre las células endoteliales (Finetti et al., 2008; Rizzo, 2011). Asimismo, la PGE2 también es capaz de inducir IL-6 y haptoglobina, moléculas mediadoras de la angiogénesis y la metástasis (Fosslien, 2000).

Se ha demostrado que la expresión de COX-2 en el endotelio está ligada a un incremento en la angiogénesis, tanto en modelos animales que sobreexpresan COX-2 (Hull et al., 2017) como en pacientes con cáncer en los que una mayor expresión de COX-2 se asociado con una densidad mayor de microvasos (Uefuji, Ichikura y Mochizuki, 2000). Además, diversos estudios han señalado la localización conjunta de la COX-2 y factores angiogénicos como el VEGF, el PDGF, el factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) y el bFGF en tinciones inmunohistoquímicas de diferentes neoplasias (Fosslien, 2001).

4.2.3. Microambiente tumoral

El microambiente tumoral (TME) está constituido por células no cancerosas y su estroma, a las que se les atribuye un rol en la carcinogénesis por inducir la sobreexpresión de COX-2 pese a no ser malignas *per se*. Los macrófagos tipo 2, los fibroblastos asociados al cáncer (CAF) y las células cancerosas contribuyen a liberar COX-2 al TME (Li, Fan y Houghton, 2007; Goradel et al., 2019).

Los CAF son el componente mayoritario del estroma que rodea las neoplasias. Actúan como soporte para el crecimiento e invasión de células cancerosas y a diferencia de los fibroblastos normales, se activan continuamente sin volver al fenotipo normal ni sufrir apoptosis (Li et al., 2007; Shiga et al., 2015).

Krishnamachary et al. (2017) demostraron una relación positiva entre la expresión de COX-2 y la abundancia de CAF en neoplasias primarias y nódulos metastáticos. Por otra parte, se ha observado que los CAF favorecen la expresión de COX-2 y como consecuencia la síntesis de PGE2 al detectar niveles significativamente mayores de la enzima en cultivos celulares de CAF que en fibroblastos normales (Zhu, Hua y Lance, 2003). Otros estudios en neoplasias colorrectales no solo han llegado a esa conclusión sino que además han observado que factores proinflamatorios como la interleucina 1 β y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) pueden inducir la expresión de COX-2 y el aumento de PGE2 en los CAF. La activación de la ciclooxigenasa en los CAF generó una mayor respuesta invasiva y proliferativa que en los fibroblastos normales, se sugirió y posteriormente confirmó que dicha respuesta estaba principalmente causada por el aumento de PGE2 (Zhu, Zhu y Lance, 2012; 2013). Como se ha mencionado anteriormente, las células

neoplásicas pueden liberar COX-2 y esto podría contribuir a que los CAF desarrollen un fenotipo senescente que se ha asociado a la motilidad de estas células, contribuyendo por lo tanto a la progresión tumoral (Kabir et al., 2016).

Los macrófagos asociados a tumores (TAM) son un componente del microambiente tumoral muy relevante en la inmunosupresión, pueden clasificarse según su subtipo como M1 o M2 en función de las señales que los activan y las diferentes funciones que ejercen. En general, los TAM se han vinculado a diferentes etapas de la carcinogénesis, desde la iniciación hasta la migración y metástasis (Qian y Pollard, 2010). Los M2 se asocian a acciones protumorales como la promoción de la angiogénesis y la supresión de la inmunidad adaptativa (Sica et al., 2006). Estos macrófagos ejercen una acción citotóxica y supresora sobre los linfocitos T como consecuencia de un aumento de PGE₂, óxido nítrico, H₂O₂, especies reactivas de oxígeno y TNF- α (Raposo et al., 2015). Los TAM expresan COX-2 y esto justifica que se haya observado en algunos estudios que el uso de AINEs supone la pérdida de las características de progresión e invasión tumoral propia de los M2 (Nakanishi et al., 2011). Por otra parte pueden promover la progresión del tumor produciendo citoquinas inmunosupresoras como la IL-10 y prostanoïdes como la PGE₂, que suprimen las células inmunes. La PGE₂ generada por el sistema fagocítico mononuclear está implicada en la retroalimentación negativa de la producción de linfocinas, de células T y la citotoxicidad mediada por macrófagos y células NK. Por lo tanto, los AINEs al reducir los niveles de PGE₂ mejoran la respuesta inmune frente a las neoplasias.

El fenotipo de M2 también parece promover la angiogénesis mediante la producción de factores como la IL-8 o el VEGF, entre otros. En este caso los AINEs pueden inhibir la liberación de dichos factores (Hussain et al., 2012).

4.2.4. Inmunovigilancia

Se ha vinculado la supresión de la inmunidad al crecimiento de distintos tumores, generalmente debido a cambios en las citoquinas. En modelos experimentales se ha observado un aumento de la IL-10 y disminución del TNF, la IL-12 y la IL-1, variaciones que se han asociado a un incremento de la actividad COX-2/PGE₂ (Ghosh et al., 2010). Las prostaglandinas E parecen mediar la inmunosupresión por distintas vías que facilitan que el tumor pase desapercibido ante el sistema inmune, entre otras disminuyendo la migración de monocitos (Flory y LeBlanc, 2005). Los macrófagos activados producen PGE₂ que inhibe la proliferación de linfocitos T y B, linfocinas, y la actividad citotóxica de linfocitos y células NK. La PGE₂ ha demostrado disminuir la capacidad citotóxica de las células NK, la liberación de IFN- γ y la migración celular además de inhibir sus receptores más relevantes (Martinet et al., 2010). Se ha demostrado que la liberación

de COX-2/PGE2 de las células neoplásicas permite evadir la respuesta inmune del organismo a los antígenos tumorales mediante el bloqueo de los linfocitos T citotóxicos (Miao et al., 2017). La sobreexpresión de indolamina 2,3-dioxigenasa (IDO), una enzima inmunosupresora, en células cancerosas constituye otro mecanismo mediado por COX-2 para resistir la respuesta inmune evitando la infiltración de linfocitos T en el tumor (Hennequart et al., 2017).

Las células mieloides supresoras (MDSC) son una población heterogénea de células inmaduras que en muchas neoplasias bloquean la inmunidad adaptativa, inhibiendo la activación de linfocitos T y la inmunidad innata, inhibiendo las NK. En las neoplasias, la producción de COX-2 mantiene niveles elevados de dichas células, lo que favorece la evasión de la inmunidad tumoral (Liu et al., 2015). Los resultados de Obermajer et al., (2011) evidenciaron una retroalimentación positiva de COX-2 y PGE2 durante la diferenciación de los monocitos que constituye un factor necesario y suficiente para redirigir la diferenciación de células dendríticas a MDSC, un mecanismo del microambiente tumoral que contribuye a la disfunción inmune. Diferentes factores implicados en la inducción de MDSC, incluyendo la PGE2, pueden inducir a COX-2 y así desencadenar la producción de PGE2 en los precursores de MDSC, un ciclo de realimentación que induce las MDSC y mantiene su funcionalidad.

COX-2/PGE2 pueden actuar como inmunomoduladores de las células dendríticas inhibiendo su maduración, la expresión de las moléculas CHM tipo II, la activación de linfocitos T y la presentación de antígenos. Por otra parte, la PGE2 favorece la producción de IL-10, lo que altera las funciones de las células dendríticas. Este efecto se produce mediante la interacción de la PGE2 con los receptores EP2 y EP4 (Harizi, Grosset y Gualde, 2003).

La expresión de COX-2 también ha demostrado disminuir la sensibilidad de las células tumorales a los efectos citotóxicos de los linfocitos T activados por antígenos, induciendo la expresión de IL-4, IDO y regulando la liberación de interferón gamma (Göbel et al., 2014).

La COX-2/PGE2 inhiben las funciones de CD4+ y CD8+ y promueve su diferenciación en células T reguladoras, una subpoblación de linfocitos que ha demostrado contribuir a la inmunosupresión en las neoplasias (Mougiakakos et al., 2010).

4.2.5. Metástasis

La metástasis es un proceso complejo que supone la migración de células neoplásicas y la colonización de lugares distintos al lugar primario dando lugar a la formación de tumores secundarios. Para que se produzca es necesaria la degradación de la matriz extracelular y la

motilidad celular (Ghosh et al., 2010). Los TAM y los mediadores que estos generan parecen estar implicados durante el proceso de invasión y metástasis (Szweda et al., 2019).

El inicio de la metástasis requiere la adhesión a la matriz extracelular, una etapa que en diversos tumores está determinada por la presencia del antígeno CD44. Se trata de una glucoproteína que actúa como receptor del ácido hialurónico, el principal componente de la matriz que participa en la adhesión y migración celular (Wideli y Wideli, 2006; Szweda et al., 2019). Se ha observado en estudios de cáncer colorrectal y de pulmón que la expresión del CD44 aumenta cuando se sobreexpresa COX-2 (Dohadwala et al., 2001; Misra et al., 2008).

La migración de las células tumorales requiere que se degrade la matriz extracelular, lo que sucede por la acción de una familia de enzimas, las metaloproteinasas, que degradan las proteínas de la matriz permitiendo la invasión de las neoplasias. También en este caso, algunos estudios las han asociado a niveles elevados de COX-2 (Szweda et al., 2019).

La transición epitelial-mesenquimal (EMT) da lugar a un fenotipo invasivo que favorece la capacidad de migración de las células. En algunos estudios se ha asociado la sobreexpresión de COX-2 con la inducción de la EMT (Hugo et al., 2015). La COX-2 es capaz de aumentar la actividad del microRNA miR526b, cuya expresión está relacionada con la metástasis (Majumder et al., 2018), y de algunos factores como el STAT3 (Tong et al., 2017).

Otras acciones que pueden contribuir a la metástasis son la inducción por parte de la COX-2 de proteasas de membrana (Ko et al., 2017) relacionadas con la invasión neoplásica así como la inducción de la B1-integrina; un receptor celular implicado en la metástasis de distintas neoplasias, (Pan et al., 2016) y la IL-11 (Singh et al., 2006), una citoquina que ha demostrado estar implicada en la metástasis ósea del cáncer de mama.

4.2.6. El papel de la COX-1

La COX-1 es una enzima cuya expresión se considera como constitutiva en numerosos tejidos y por este motivo se creía que no estaba implicada en la carcinogénesis y se ha estudiado en menor medida que la COX-2 (Pannunzio y Coluccia, 2018). Se han observado niveles elevados de COX-1 en algunas neoplasias humanas como el cáncer de mama (Haakensen et al., 2011), colorrectal (Church et al., 2004) y renal (Okamoto, Hara, y Hino, 2003). En el cáncer epitelial ovárico se identificó hace años la COX-1 como marcador para la monitorización y el diagnóstico (Lee y Ng, 1995) y desde entonces su sobreexpresión se ha observado en diferentes modelos animales (Pannunzio y Coluccia, 2018) y al parecer es la principal enzima reguladora de la producción de PGE2 en las células neoplásicas del ovario (Kino et al., 2005).

Por otra parte, se cree que en la mayoría de situaciones se da la acción coordinada de COX-1 y COX-2 en la carcinogénesis, y en algunos casos el papel de COX-1 es más importante (Pannunzio y Coluccia, 2018).

4.3. Expresión de ciclooxigenasas en neoplasias de pequeños animales

4.3.1. Neoplasias mamarias felinas

En la especie felina se han realizado desde el año 2000 varios estudios en carcinomas con porcentajes de positividad para COX-2 altos; Millanta et al., (2006) obtuvieron un 95,8%, Sayasith et al., (2009) un 87% y Millanta et al., (2016) un 96%. Dos de los estudios mencionados emplearon el mismo sistema de puntuación para cuantificar la inmunorreactividad de COX-2 evaluando el porcentaje de células marcadas y la intensidad, considerando que una puntuación de +2 o +3 como sobreexpresión. Con este sistema Millanta et al., (2006) y Millanta et al., (2016) determinaron respectivamente que un 80,9% y un 82% de los carcinomas sobreexpresaban COX-2 y esto se asoció a un pronóstico desfavorable. Sayasith et al., (2009) por otra parte emplearon un sistema de puntuación distinto y observaron que un 37% de las muestras mostraban una expresión de intermedia a alta.

Solo un estudio analizó la relación entre la expresión de COX-2 y la supervivencia general, se observó una relación positiva significativa (Millanta et al., 2006).

Millanta et al., (2006) y Millanta et al., (2016) analizaron la expresión de COX-2 en tejido mamario normal, sin detectar inmunorreactividad.

4.3.2. Neoplasias mamarias caninas

Sobre la expresión de COX-2 en las neoplasias caninas de la glándula mamaria hay considerablemente más estudios que del resto de neoplasias de pequeños animales. La técnica empleada con más frecuencia para detectar la expresión de COX-2 es la inmunohistoquímica y el porcentaje de positividad oscila desde aproximadamente un 50-60% hasta un 100%, dependiendo del estudio. Los resultados son variables, por ello se presenta una tabla recogiendo la mayoría de las publicaciones disponibles y a continuación se describen algunos de los resultados y conclusiones obtenidos por los autores.

Estudio	Especie	n	Neoplasias	Parámetros medidos	E COX-2 en tejido normal	Técnica y score	E COX-2	S COX-2
(Doré et al., 2003)	Canina	147	Adenomas, adenocarcinomas	COX-2	No	IHC 0-12	A: 24% AC: 56%	-
(Queiroga et al., 2005)	Canina	129	Tumores benignos, carcinomas, carcinosarcomas, carcinomas inflamatorios	COX-2	Sí	Ensayo inmunoenzimático (EIA)	100%	-
(Heller et al., 2005)	Canina	50	Carcinomas	COX-2	-	IHC 0-12	56%	-
(Millanta et al., 2006)	Canina Felina	28 47	Carcinomas	COX-2, VEGF, HER-2, ER, MVD, PR	No	IHC % cº e intensidad: 0, +1, +2, +3 (+2, +3 alta)	100%	78,6 %
(Queiroga et al., 2007)	Canina	60	Tumores benignos, carcinomas, carcinosarcomas	COX-2 COX-1	Sí	IHC 0-12 (0-6 baja, 7-12 alta)	100%	B: 11,1% C: 69,2%
(Lavelle et al., 2009)	Canina	46	Carcinomas	COX-2 CD31 MVD	No	IHC 0-12 (0-5 baja, 6-12 alta)	100%	34,8%
(Dias Pereira et al., 2009)	Canina	81	Tumores benignos, carcinomas, carcinosarcomas	COX-2	Sí	IHC % cº (1, 2, 3, 4) Intensidad (0, ±, +, ++)	100%	B: 8,3% C: 42,2%
(Sayasith et al., 2009)	Felina	40	Carcinomas	COX-2	-	IHC 0-12 (1-4 baja, 5-7 intermedia, ≥8 alta) Inmunoblot	87%	37,5%
(Queiroga et al., 2010)	Canina	27	Carcinomas, carcinosarcomas	COX-2 COX-1	No	IHC 0-12 (0-6 baja, 7-12 alta)	100%	66,6%
(Queiroga et al., 2011)	Canina	70	Tumores benignos, carcinomas, carcinosarcomas	COX-2, VEGF, MVD	-	IHC 0-12 (0-6 baja, 7-12 alta)	B: 7,1% C: 76,2%	-
(Lavelle et al., 2012)	Canina	29	Carcinomas	IHC	-	IHC 0-12 (0-5 baja, 6-12 alta)	96,5%	58,6%
(Clemente et al., 2013)	Canina	41	Carcinomas inflamatorios, carcinomas/sarcomas	VEGF, COX-2, MVD, CD31, LPI	No	IHC % cº e intensidad: 0, 1, 2, 3 qPCR	C: 75% CI: 90,5%	C: 5% CI: 42,9%
(Guimarães et al., 2014)	Canina	43	Carcinomas, carcinosarcomas	COX-2, EGFR	-	IHC 0-12 (≤5 baja, 6-7 alta)	100%	77,4%
(Millanta et al., 2016)	Canina Felina	46 50	Adenomas, carcinomas	COX-2, mPGES-1, EP2	Sí (p) No (g)	IHC % cº e intensidad: 0, +1, +2, +3 (+2, +3 alta)	B: 20% C: 100%	B: 20% C: 83,3%
(Carvalho et al., 2015)	Canina	63	Carcinomas, carcinosarcomas	COX-2, EGFR, CD3+	-	IHC % cº e intensidad: 0, +1, +2, +3 (+2, +3 alta)	100%	49,2%

(Huang et al., 2015)	Canina	79	Carcinomas, carcinosarcomas	COX-2, CD44, CD24, Oct-3/4	No	IHC 0-12; 0-6 baja, 7-12 alta	77,2%	45,6%
(Araújo et al., 2016)	Canina	83	Carcinomas, carcinosarcomas	COX-2, EGFR, Ki67, HER-2	-	IHC 0-12 (0-5 baja, 6-12 alta)	100%	88,6%
(Carvalho et al., 2016)	Canina	109	Carcinomas, carcinosarcomas	COX-2, VEGF, Ki67, CD3, MAC387, CD31, MVD	-	IHC 0-12 (0-6 baja, 7-12 alta)	100%	53,2%
(Anadol et al., 2017)	Canina	35	Tumores benignos, carcinomas, carcinosarcomas	COX-2, VEGF, iNOS	-	Q real time PCR	-	-
(Pastor et al., 2020)	Canina	77	Carcinomas, carcinosarcomas	COX-2, ER, PR, HER-2	-	IHC 0-12 (0-5 baja, 6-12 alta)	-	33,8%

Tabla 1. Estudios de neoplasias mamarias

-E COX-2: expresión de COX-2, S COX-2: sobreexpresión de COX-2

-A: adenoma, AC: adenocarcinoma, B: tumor benigno, C: carcinoma, CI: carcinoma inflamatorio

Uno de los primeros estudios realizado con un tamaño de muestra relevante (107 neoplasias mamarias) demostró la expresión de COX-2 en todas las displasias, tumores malignos y benignos analizados, resaltando que la concentración de la proteína medida por inmunoensayo enzimático era significativamente superior en los carcinomas. Asimismo, también se asoció de forma positiva la COX-2 con características de malignidad como el tamaño, la ulceración y adherencia a la piel, adherencia a tejidos subyacentes y a tipos histológicos más agresivos como el carcinosarcoma. Por otra parte, los valores superiores de COX-2 se asociaron también a la invasión de linfonodos, la metástasis distante y en los animales con carcinomas no inflamatorios se observó que la COX-2 estaba asociada a un tiempo de supervivencia libre de enfermedad y supervivencia general más corto (Queiroga et al., 2005). Contrastan los resultados obtenidos en ese mismo año por Heller et al., (2005), con un 56% (28/50) de carcinomas positivos a COX-2, indicando que la expresión de COX-2 era más intensa y frecuente en las neoplasias menos diferenciadas. Poco después Brunelle et al., (2006) estudiaron en líneas celulares de neoplasias y tejido normal mamario la expresión de COX-2 y la producción de PGE2. Se observó que solo una (CMT12) de las 5 líneas neoplásicas sobreexpresaba COX-2 y presentaba una producción significativamente mayor de PGE2, mientras que en el resto y en la línea procedente de tejido normal la señal de COX-2 era débil o indetectable. Adicionalmente, se valoró el efecto del inhibidor de COX-2 NS-398 sobre la línea CMT12, observando que ocasionó la inhibición de la síntesis de PGE2 incluso a la mínima dosis empleada, pero que para conseguir una disminución de la proliferación celular se requerían dosis sensiblemente mayores.

En otro estudio más reciente y también con un elevado número de muestras (109 tumores mamarios) se observó la expresión de la proteína en todas ellas y se determinó que en 58 había sobreexpresión. Hallaron una asociación significativa entre los tumores con una elevada expresión de COX-2 y la presencia de ulceración en la piel, mayor tamaño de la neoplasia, alto índice mitótico, tipo histológico, grado histológico de malignidad, metástasis en linfonodos, émbolos intravasculares neoplásicos, polimorfismo nuclear más marcado y menor formación tubular (Carvalho et al., 2016). De igual forma, otros estudios han establecido una asociación entre una elevada inmunorreactividad a COX-2 con otros parámetros indicadores de malignidad distintos a los ya mencionados tales como un menor grado de diferenciación de las neoplasias, crecimiento infiltrativo y menor supervivencia (Lavalle et al., 2009; Queiroga et al., 2010, 2011; Guimarães et al., 2014; Huang et al., 2015; Millanta et al., 2016; Carvalho et al., 2017; Pastor et al., 2020). Varios autores demuestran que al comparar la presencia de la proteína en tumores y lesiones no tumorales, la expresión de COX-2 es significativamente mayor en las neoplasias (Queiroga et al., 2007; Clemente et al., 2013; Millanta et al., 2016).

Diferentes estudios analizaron la presencia de COX-2 en tejido mamario normal y los resultados son contradictorios ya que algunos observaron que se expresaba (Queiroga et al., 2005, 2007; Dias Pereira et al., 2009) y otros no (Millanta et al., 2006; Lavalle et al., 2009; Clemente et al., 2013; Huang et al., 2015;; Millanta et al., 2016). También hay controversia a la hora de determinar si la proteína se podría considerar un factor pronóstico ya que varios estudios concluyen que sí debido a que se ha asociado a un tiempo más corto de supervivencia (Carvalho et al., 2016) y/o a características de malignidad (Queiroga et al., 2011) mientras que otros exponen que no han obtenido evidencia para afirmarlo (Araújo et al., 2016).

La angiogénesis es un proceso relevante en la carcinogénesis y la COX-2 parece estar involucrada (Williams et al., 1999) en la modulación de factores proangiogénicos, como el VEGF, por lo que distintas publicaciones también han valorado la expresión de dichos factores, su relación con la COX-2 y con la malignidad de las neoplasias. Queiroga et al., (2011) observaron inmunorreactividad para CD31 en 63/70 muestras y la densidad de microvasos fue notablemente superior en las neoplasias malignas. Asimismo, se valoró la expresión del VEGF que resultó ser mayor en los tumores malignos y se asoció a la COX-2 y a la densidad de microvasos, sugiriendo que hay una relación de estos factores con la angiogénesis tumoral. Sin embargo, ni Millanta et al., (2006) ni Lavalle et al., (2009) evidenciaron esta asociación. Clemente et al., (2013) observó que la densidad de microvasos y el índice de proliferación linfoangiogénica estaban relacionadas con la COX-2 pero no se estableció una correlación significativa. Por último, Carvalho et al., (2016) demostró que las neoplasias con elevada expresión de

COX-2/CD31 y COX-2/VEGF se asociaban significativamente a características de agresividad de los tumores y a un tiempo de supervivencia general inferior.

La presencia de la COX-1 se valoró en dos estudios. Queiroga et al., (2007) demostraron que la enzima se expresaba en el tejido normal, hiperplásico y neoplásico con puntuaciones más elevadas en este último, sin hallar diferencias significativas entre tumores benignos y malignos. Por otra parte, Queiroga et al., (2010) observaron la expresión de COX-1 en todas las muestras sin que hubiera relación con ninguno parámetros pronósticos evaluados, a diferencia de la COX-2 en este mismo estudio.

4.3.3. Carcinoma prostático canino

Dos estudios con un tamaño de muestra similar evaluaron la expresión de COX-2 en carcinomas prostáticos caninos, obteniendo un 88,2% (Sorenmo et al., 2004) y un 89,3% (L'Eplattenier et al., 2007) de positividad a COX-2 mediante inmunohistoquímica. En ambos casos la intensidad media del marcaje fue moderada y no se observó inmunorreactividad en el estroma. No se correlacionó la COX-2 con la supervivencia general (Sorenmo et al., 2004) ni con las características histológicas de las neoplasias (L'Eplattenier et al., 2007).

Sorenmo et al., (2004) también observaron la expresión de COX-1 en los tejidos no cancerosos y en un 94,1% de los carcinomas, sugiriendo que esta enzima se expresa de forma fisiológica en la próstata y su presencia se mantiene en las neoplasias.

4.3.4. Neoplasias de células transicionales caninos y felinos

Se ha caracterizado la expresión de COX-2 en carcinomas de células transicionales felinos en dos estudios. En ambos trabajos no se detectó la presencia en tejido normal pero si en 7 de las 19 muestras patológicas estudiadas en un caso (Beam et al., 2003) y en 5 de las 7 en otro (Bommer et al., 2012). La supervivencia general fue de 123 días en los animales con carcinomas positivos a COX-2 y 375 en los demás, aunque los autores reconocen que para confirmar este hallazgo debería realizarse un estudio con más animales (Bommer et al., 2012).

En la especie canina Knottenbelt et al., (2006) detectó la expresión de COX-1 y COX-2 en las 18 muestras analizadas. Si bien es cierto se detectaron pocas células teñidas y una intensidad de débil a moderada.

Posteriormente Yoshitake et al., (2017), Hurst et al., (2019) y Packeiser et al., (2020) detectaron niveles elevados de COX-2 y PGE2 en líneas celulares de carcinomas de células transicionales

caninos. Los autores coinciden en que la expresión de PGE2 era superior a la del resto de líneas analizadas en esos estudios, en todos los casos se midió la concentración de esta prostaglandina mediante ELISA. Yoshitake et al., (2017) y Hurst et al., (2019) establecieron una relación positiva entre la COX-2 y la PGE2, que resultó ser estadísticamente significativa. Las técnicas empleadas para evidenciar la presencia de COX-2 fueron PCR en tiempo real, Western Blot e inmunohistoquímica respectivamente.

4.3.5. Mastocitoma canino

Prada et al., (2012), Vascellari et al., (2013) y Gregório et al., (2017) estudiaron un tamaño muestral semejante de mastocitomas caninos, detectando la expresión de COX-2 con una intensidad variable en un 86%, 78% y 92% de las muestras, respectivamente. Prada et al., (2012) y Gregório et al., (2017) hallaron una asociación estadísticamente significativa entre una expresión intensa de COX-2 y los mastocitomas de mayor grado histológico, mientras que en el estudio de Vascellari et al., (2013) no se pudo evidenciar dicha relación.

En dos de estos estudios se observó inmunomarcaje de COX-2 en los granulocitos y macrófagos del estroma, un hallazgo que apunta a la existencia de una relación entre la expresión de la proteína y la interacción del estroma con el tumor (Prada et al., 2012; Gregório et al., 2017). Por otra parte, solo Prada et al., (2012) incluyó tejido cutáneo normal y este resultó no expresar la COX-2.

Gregório et al., (2017) establecieron que una elevada intensidad de la tinción de COX-2 se podía asociar de forma significativa con un patrón infiltrativo, índice mitótico y grado histológico alto, ulceración de la piel, índice de proliferación Ki-67 elevado, presencia de células aberrantes y una mayor densidad de microvasos. Los autores concluyen sobre estos resultados que la COX-2 posiblemente esté implicada en la angiogénesis y la proliferación tumoral, favoreciendo la carcinogénesis.

4.3.6. Carcinoma de células escamosas canino y felino

Se ha observado en diferentes estudios la expresión de las COX-2 en carcinomas de células escamosas orales en la especie felina, si bien indicando que la mayoría de neoplasias analizadas mostraban un bajo porcentaje de células teñidas y de intensidad débil (Hayes et al., 2006; DiBernardi et al., 2007; Sparger et al., 2018). La positividad a COX-2 se determinó en 28 de 34 muestras, 37 de 55 y 9 de 12, respectivamente. Solo en un estudio se observó inmunorreactividad a COX-2 en el estroma tumoral y las muestras que únicamente presentaban

el estroma teñido no se consideraron positivas a COX-2 (Sparger et al., 2018). DiBernardi et al., (2007) hallaron expresión de la enzima con intensidad débil en el tejido normal mientras que el resto de los autores no lo hicieron.

Hayes et al., (2006) también demostró la expresión de COX-1 en todas las neoplasias estudiadas. La distribución e intensidad de la tinción fue superior en los tumores que en el tejido adyacente normal, sugiriendo una posible relación de la COX-1 con la patogénesis de estos carcinomas.

Un estudio comparó la expresión de COX-2 en carcinomas de células escamosas cutáneos y orales tanto en perros como en gatos y se observó que la sobreexpresión era significativamente mayor en los cutáneos de ambas especies. Un 53% de todos los carcinomas caninos y un 61% de los felinos fueron positivos a COX-2 mientras que en las muestras de tejido sano no se detectó. También se analizó la expresión de un factor proangiogénico, el VEGF, y se estableció una relación positiva significativa entre este, COX-2 y la progresión de la enfermedad (Millanta et al., 2016).

Bargadí et al., (2012) observaron que todas las muestras de carcinomas cutáneos de perros y gatos eran positivas a COX-2, las áreas marcadas estaban generalmente asociadas a inflamación granulocítica. Los autores consideran que esto podría deberse a que la expresión de COX-2 por parte del tumor facilite la infiltración inflamatoria o bien que la ulceración propia de estas neoplasias estimule la expresión de la ciclooxigenasa por los queratinocitos.

Otro estudio también obtuvo positividad a COX-2 en todas las muestras, en este caso de carcinomas de células escamosas cutáneos de perros. La puntuación media de la expresión de la proteína fue elevada y los queratinocitos estaban intensamente teñidos mientras que no se detectó COX-2 en el tejido normal (Poggiani et al., 2012).

4.3.7. Carcinoma nasal canino

Diferentes estudios han evaluado la expresión de COX-2 en estas neoplasias con porcentajes de positividad similares aunque empleando diferentes métodos de puntuación de la inmunorreactividad y no determinan las muestras en las que hay sobreexpresión. Solo en un caso se valoró la intensidad de la señal (Borzacchiello et al., 2004). Se observó que un 87%, 71%, 81% y 90% de carcinomas expresaban COX-2, respectivamente (Borzacchiello et al., 2004; Kleiter et al., 2004; Impellizeri y Esplin, 2008; Belshaw et al., 2011). Borzacchiello et al., (2004) también valoraron la expresión de COX-1 que se mostraba con una intensidad notable en el epitelio nasal normal y en un 40% de los carcinomas.

4.3.8. Melanoma canino

El primer estudio sobre estas neoplasias mostró que 9/15 de los melanomas orales analizados mostraban una intensidad de inmunorreactividad de moderada a alta (Mohammed et al., 2004). Unos años más tarde Pires et al., (2010) detectaron la expresión de COX-2 en 21/29 muestras de melanomas malignos, un 30% se consideraron de expresión moderada o elevada. Todos los melanomas orales fueron positivos a COX-2 y se observó una mayor puntuación de inmunorreactividad en las neoplasias orales que en las cutáneas, un hallazgo que podría asociarse a las características de malignidad y mal pronóstico de los melanomas orales. Por otra parte, no se halló en este caso la expresión de la proteína en la piel normal, en la mucosa oral ni en los melanocitomas cutáneos. La inmunorreactividad a COX-1 se observó en los tejidos normales y en la mayoría de los tumores, sin diferencias significativas.

Gregório et al., (2016) y Martínez et al., (2011) también observaron diferencias significativas en la expresión de COX-2, siendo más elevada en los melanomas malignos. La intensidad de la señal de COX-2 fue menor que la de los estudios mencionados anteriormente aunque se determinó una asociación entre una COX-2 más alta y la presencia de ulceración, necrosis, inflamación, índice mitótico elevado, menor intensidad de pigmentación y pleomorfismo nuclear.

En uno de los estudios se realizaron análisis estadísticos tanto univariantes como multivariantes y se determinó que la expresión COX-2 constituía un factor predictivo independiente de la supervivencia, la recurrencia y la metástasis. Asimismo, en el análisis univariante se observó que la sobreexpresión de COX-2 era más común en los tumores orales que en los cutáneos. Por todo ello los autores concluyen que el pronóstico asociado a los melanomas orales podría estar relacionado con la expresión de COX-2 y la medida de esta proteína se podría emplear como un biomarcador pronóstico de los tumores melanocíticos (Martínez et al., 2011).

4.3.9. Carcinoma renal canino

De 30 muestras de carcinoma renal canino se detectó positividad a COX-2 en un 76% y, de acuerdo con el sistema de puntuación empleado, se consideró que la mitad de las muestras positivas presentaban sobreexpresión. Por otra parte, se encontró una asociación entre la puntuación inmunohistoquímica y la mediana del tiempo de supervivencia. Así, los perros con un valor igual o menor a 3 vivieron significativamente más tiempo que aquellos cuyo valor era superior a 3. Los resultados del análisis multivariante determinaron que la expresión de la

proteína se podía considerar un factor pronóstico y posiblemente se podría usar para valorar el pronóstico individual del paciente (Carvalho et al., 2017).

4.3.10. Carcinoma tiroideo canino

Campos et al., (2014) y Soares et al., (2020) analizaron la expresión de COX-2 en el carcinoma de tiroides en el perro. No se detectó COX-2 en el tejido normal mientras que sí se halló en ambos casos en un 50% de los carcinomas medulares y en un 13% y 65% de los carcinomas foliculares, con una intensidad de débil a moderada. Campos et al., (2014) demostraron una asociación significativa entre los carcinomas medulares y una puntuación más elevada de COX-2 mientras que Soares et al., (2020) indicaron que posiblemente no llegaron a evidenciar esto debido al bajo número de muestras que emplearon de este tipo de tumor.

4.3.11. Osteosarcoma apendicular canino

Dos estudios han comprobado la presencia de COX-2 en los osteosarcomas apendiculares caninos obteniendo un 92,6% y un 77,3% de muestras positivas, respectivamente (Mullins et al., 2004; Millanta et al., 2012). En el primer trabajo se consideró que 19/27 neoplasias mostraban sobreexpresión mientras que en el segundo solo 4/44, empleando diferentes sistemas de puntuación en cuanto a la interpretación de los resultados de la inmunohistoquímica. Ninguno de los autores detectó inmunorreactividad a COX-2 en el hueso normal.

4.3.12. Otras neoplasias

Un estudio con 60 muestras de hemangiosarcoma cutáneo canino detectó expresión de COX-2 con intensidad de leve a moderada en un 80% de las neoplasias. No se halló relación con la supervivencia general (Nóbrega et al., 2019).

Magi et al., (2010) y Carneiro et al., (2019) observaron un 97% y un 61,9% de muestras de sarcoma asociado al punto de inyección en gatos positivas a COX-2. La puntuación asignada fue de intermedia a alta en un 60% de los casos y no se asoció al grado histológico (Magi et al., 2010).

4.4. AINEs y COXIBs: terapia anticáncer en perros y gatos

4.4.1. Neoplasias mamarias caninas y felinas

Las neoplasias mamarias en la especie felina son una de las más comunes, se caracterizan por ser malignas en su gran mayoría y tienden a ser altamente metastáticas. Si bien se han probado diferentes protocolos quimioterápicos, la cirugía sigue siendo el tratamiento estándar, teniendo en cuenta que no es infrecuente la eutanasia de los animales en el momento del diagnóstico debido al mal pronóstico.

Un estudio investigó la eficacia y seguridad de un protocolo compuesto por cirugía, doxorubicina y meloxicam en 23 gatas diagnosticadas mediante histopatología con adenocarcinomas mamarios. Se concluyó que el empleo del meloxicam no tuvo efecto sobre el tiempo de supervivencia ni el intervalo libre de enfermedad, al comparar los resultados con los de estudios que no emplearon inhibidores de COX-2. Por otra parte, los autores indican que al incluir diversos agentes en el tratamiento y no contar con diferentes grupos para contrastar las diferencias en la respuesta, es difícil valorar el papel del meloxicam en este caso (Borrego et al., 2009).

El carcinoma inflamatorio canino es una neoplasia agresiva con un tiempo de supervivencia corto (2-3 meses aproximadamente). Los signos clínicos incluyen edema generalizado, eritema y dolor en las glándulas afectadas. Es frecuente que los animales afectados se eutanasién en el momento del diagnóstico o poco después o bien se emplean tratamientos paliativos con corticoides, AINEs, antibióticos y/o terapia metronómica con quimioterápicos (de M Souza et al., 2009; Rossi et al., 2018).

Sobre este tipo de neoplasia, un estudio observó la respuesta a un AINE y a protocolos quimioterápicos en 12 perras enteras, 4 con carcinomas inflamatorios primarios y 8 con IMC secundarios. El estudio describe que, dos de los animales diagnosticados se eutanasiaron inicialmente, así como otros tres que iniciaron quimioterapia, ya que no hubo respuesta. En los 7 animales que recibieron piroxicam se observó una respuesta clínica positiva, disminuyendo los signos clínicos y mejorando indicadores de bienestar como el nivel de actividad y el apetito. El tiempo de supervivencia libre de progresión osciló entre 120 y 210 días y el tiempo de supervivencia medio fue significativamente superior en los animales tratados con piroxicam. Cuando los signos clínicos volvieron a aparecer, la rápida progresión de la enfermedad obligó a eutanasiarlos en un corto periodo de tiempo (de M Souza et al., 2009).

Lavalle et al., (2012) estudiaron las variaciones en la supervivencia general de 29 perras que presentaban tumores malignos mamarios en estadio avanzado y fueron sujetas a cirugía o cirugía más carboplatino, con o sin AINEs. Se emplearon piroxicam en 5 animales y firocoxib en

9 animales, una vez finalizados los ciclos de quimioterapia. El uso de tratamientos adyuvantes resultó en una supervivencia significativamente superior al grupo en el que únicamente se realizó la cirugía pero no se hallaron diferencias significativas en la supervivencia al comparar los diferentes tratamientos adyuvantes, aunque el tiempo de supervivencia medio fue superior en el grupo al que se administró firocoxib.

4.4.2. Neoplasias prostáticas caninas

Esta neoplasia es poco frecuente en perros, de supervivencia corta (aproximadamente 2 meses) y es habitual detectar metástasis en el momento del diagnóstico. Los tratamientos posibles son la cirugía, radioterapia y quimioterapia pero la evidencia disponible es escasa. Los signos clínicos incluyen estranguria, poliaquiuria y hematuria, afección secundaria de la vejiga y la uretra además de prostatitis (Ravicini et al., 2018).

En un estudio se administró prionicam o carprofeno a 16 perros con carcinomas prostáticos mientras que 15 animales no fueron tratados específicamente. El tiempo de supervivencia fue significativamente superior (6,9 meses) en los perros tratados con AINEs, en comparación con el grupo que no recibió AINEs (0,7 meses). Asimismo, más de la mitad de los animales a los que se les administraron AINEs y no desarrollaron metástasis sobrevivieron un año o más, lo que sugiere que su efecto no es únicamente paliativo sino también antitumoral (Sorenmo et al., 2004).

En un estudio más reciente y con mayor tamaño de muestra se dividieron a 67 perros en tres grupos en función de los tratamientos aplicados: a 4 animales se les administró quimioterapia, 31 fueron tratados solo con AINEs y 32 con una combinación de ambos. Los antiinflamatorios empleados fueron principalmente meloxicam aunque también se incluyeron piroxicam, carprofeno y firocoxib. La mediana del tiempo de supervivencia y el tiempo hasta la progresión fueron significativamente superiores en aquellos perros que recibieron quimioterapia y AINEs en comparación con el grupo de los AINEs. Por otra parte, la combinación de fármacos antiinflamatorios y quimioterapia metronómica o toceranib fosfato no obtuvo resultados mejores que la monoterapia con AINEs ni hubo diferencias significativas en la mediana del tiempo de supervivencia ni en el tiempo hasta la progresión al comparar el uso del firocoxib con el meloxicam. En este estudio la decisión de qué tratamiento aplicar se basó en la opinión del clínico y de los propietarios del animal por lo que los autores indican que es posible que los animales que recibieron solo AINEs o quimioterapia a dosis bajas presentaran un estadio más avanzado de la enfermedad (Ravicini et al., 2018).

4.4.3. Carcinoma de células transicionales felino

La incidencia de esta neoplasia, la más frecuente que afecta a la vejiga, es baja en gatos y hay pocos estudios sobre su tratamiento. Las opciones que se han investigado incluyen la administración de AINEs, la quimioterapia y la cirugía.

Bommer et al., (2012) trataron con meloxicam por vía oral a 11 gatos que presentaban carcinoma de células transicionales diagnosticados por histología o citología. Cinco animales también se sometieron a una cistectomía parcial. En todos los gatos se observó mejoría clínica y el tiempo de supervivencia no fue significativamente diferente entre los animales tratados solo con meloxicam en comparación con los que además del AINE se realizó la cirugía. En general, la mediana del tiempo de supervivencia fue de 311 días. La elección de meloxicam se basa en su consideración como un tratamiento relativamente seguro en gatos incluso a largo plazo y en animales con enfermedades concurrentes. En cuanto a los efectos secundarios, se observaron en cuatro animales y excepto un caso de fallo renal después de 6 meses de tratamiento, el resto se resolvió rápidamente o se asoció a otra causa. Además, no se produjo empeoramiento de la enfermedad renal previamente diagnosticada en dos de los gatos del estudio.

Griffin et al., (2020) diseñaron un estudio que incluyó 118 gatos con confirmación histológica o citológica de un carcinoma en la vejiga o uretra. A 15 gatos se les administró solo AINEs y en 34 animales se combinaron estos con otros tratamientos (quimioterapia, radioterapia, cistectomía). Los antiinflamatorios empleados con más frecuencia fueron el piroxicam y meloxicam aunque en algún caso se administró una combinación de ambos o robenacoxib. Se detectaron efectos adversos en un 26,5% de los animales tratados con estos fármacos pero no se pudo asociar directamente en al menos la mitad debido a que estaban recibiendo otros tratamientos o los signos podían ser consecuencia de la progresión de la enfermedad.

La asociación del tratamiento con AINEs a una mayor supervivencia junto al bajo riesgo de complicaciones derivadas de estos posiblemente indica que incluirlos en la terapia del carcinoma de células transicionales podría constituir una buena estrategia. No obstante, la mejor opción según los resultados del estudio es la combinación de la cistectomía parcial y los AINEs.

4.4.4. Carcinoma de células transicionales canino

Los tumores de células transicionales son la presentación más frecuente de neoplasia canina localizada en la vejiga, generalmente de alto grado e infiltrativos. Los signos clínicos característicos son la poliaquiuria, hematuria y estranguria. Habitualmente se localiza en el trigono vesical por lo que se prefiere la quimioterapia, inhibidores de la ciclooxigenasa o combinaciones de estos en lugar de cirugía (Fulkerson y Knapp, 2015).

El estudio realizado por Mcmillan et al., (2011) administrando deracoxib obtuvo un 17% (4/24) de remisiones parciales, en el 71% (17/24) de los perros la enfermedad se mantuvo estable y en un 13% (3/24) la enfermedad progresó. A diferencia del estudio de Knapp et al., (1994), los autores no observaron ningún caso de remisión completa; lo que podría deberse al bajo tamaño de muestra o bien que la actividad frente al cáncer del deracoxib sea inferior que la del el piroxicam, el fármaco empleado en el estudio. Cinco perros sufrieron efectos gastrointestinales leves que no exigieron cesar el tratamiento. La mediana del tiempo de supervivencia fue de 323 días y se observó que en los animales que se administró quimioterapia, por fallo del tratamiento con deracoxib, la supervivencia fue ligeramente superior.

Knapp et al., (2013) confirmaron que la actividad del cisplatino frente al carcinoma de células transicionales en perros puede favorecerse usando un inhibidor de COX-2. En este estudio 15 animales fueron tratados solo con cisplatino, 15 solo con firocoxib (en 5 perros el tratamiento no funcionó y se administró cisplatino) y en 14 animales una combinación de ambos. En el grupo de cisplatino/firocoxib se observaron un 57% de remisiones parciales y en un 20% de animales la enfermedad se mantuvo estable, la mediana de la supervivencia fue de 186 días mientras que en el grupo tratado solo con cisplatino fue de 87 días. Los resultados también demuestran la acción antitumoral del firocoxib ya que estabilizó la enfermedad en un 33% de los perros y en un 20% de los casos hubo remisiones parciales. A pesar de no advertir diferencias significativas en la supervivencia entre los diferentes grupos, el tiempo de supervivencia fue superior en los animales que recibieron primero cisplatino y después firocoxib. Los autores indican que esto podría deberse a que la administración por separado de los fármacos disminuyera el riesgo de resistencias y se evitara la superposición de las toxicosis derivadas de cada uno. La calidad de vida aumentó en un 67% y 91% respectivamente en los animales que recibieron únicamente firocoxib y a los que se administró los dos fármacos pero las diferencias no fueron significativas.

Los efectos secundarios se dieron con una frecuencia similar en el grupo tratado solo con cisplatino y en el de la terapia combinada mientras que el número de perros afectados por

toxicosis que fueron tratados solo con firocoxib fue inferior. De cualquier manera, las variaciones no resultaron significativas.

4.5. Sesgos y limitaciones de los estudios

Un estudio reciente revisó múltiples publicaciones sobre el papel de COX-2 como indicador pronóstico en las neoplasias caninas y felinas, analizando y determinando los sesgos de cada uno. En general muchos de los estudios que valoran la expresión de COX-2 o bien los de tipo clínico tienden a disponer de pocos animales, ser retrospectivos y solo realizar análisis univariante, limitando el valor de los resultados obtenidos. Aquellos que evalúan la presencia de COX-2 no emplean un método estandarizado por lo que el sistema de puntuación varía y es complicado comparar los resultados. En los estudios clínicos es habitual que se incluyan tumores muy diferentes histológicamente entre sí y el estadio de los animales sea variable (Gregório et al., 2021).

5. Conclusiones/Conclusions

Los mecanismos que intervienen en la relación entre la COX-2 y la carcinogénesis todavía no se conocen en su totalidad pero las hipótesis más apoyadas indican que parece estar involucrada en la angiogénesis, apoptosis, metástasis y evasión inmune.

Parece haber suficiente evidencia para afirmar que la COX-2 se expresa en al menos una amplia variedad de neoplasias que afectan a perros y gatos, entre ellas las neoplasias mamarias y los carcinomas de células transicionales.

La evidencia refleja que los AINEs pueden ser útiles como tratamiento paliativo e incluso producir remisiones parciales así como mejorar la calidad de vida, algo muy importante en medicina veterinaria. No obstante, la evidencia está limitada a estudios con pocos animales y solo en algunos tipos de neoplasias.

En general, el diseño heterogéneo de los estudios dificulta obtener una conclusión clara de los resultados por lo que sería conveniente que se estandarizara como mínimo la metodología y siempre que sea posible dividir los pacientes en grupos teniendo en cuenta su tipo histológico de tumor y estadio.

The mechanisms involved in the relationship between COX-2 and carcinogenesis are not yet fully understood but the most supported hypotheses indicate that the protein appears to be linked to angiogenesis, apoptosis, metastasis and immune evasion.

There seems to be sufficient evidence to state that COX-2 is expressed in at least a wide variety of neoplasms affecting dogs and cats, including mammary neoplasms and transitional cell carcinomas.

The evidence reflects that NSAIDs can be useful as palliative treatment and even produce partial remissions as well as improved quality of life, which is very important in veterinary medicine. However, the evidence is limited to studies with few animals and only in some neoplasms.

In general, the heterogeneous design of the studies makes it difficult to establish a clear conclusion of the results, so it would be convenient to standardize at least the methodology and whenever possible to divide the patients into groups taking into account their stage and histological classification of the tumour.

6. Valoración personal

Mi interés por la oncología veterinaria unido a las prácticas curriculares que realicé el verano pasado me animaron a indagar en la evidencia sobre la administración de AINEs en pacientes con cáncer por lo que quise hacer el trabajo tratando este tema.

Sin duda he estudiado la bibliografía disponible extensamente y he obtenido las respuestas a mis preguntas. Asimismo, he asimilado la investigación que justifica el tratamiento con estos fármacos y aprendido sobre los mecanismos implicados así como la diferente expresión de la COX-2 en neoplasias de pequeños animales. Me parece importante contar con estudios clínicos que demuestren que aquello observado *in vitro* o sobre lo que se establece una hipótesis tiene una aplicación en la práctica clínica. Sí que me hubiera gustado tener a mi disposición más estudios clínicos ya que la evidencia podría ser de mayor valor, pero espero que aumenten en los próximos años y pueda consultarlos para apreciar si hay cambios.

7. Bibliografía

- Anadol, E., Yar Saglam, A. S., Gultiken, N., Karakas, K., Alcigir, E., Alkan, H., y Kanca, H. (2017). Expression of iNOS, COX-2 and VEGF in canine mammary tumours and non-neoplastic mammary glands: Association with clinicopathological features and tumour grade. *Acta Veterinaria Hungarica*, 65(3), 382–393. DOI: 10.1556/004.2017.036

- Araújo, M. R., Campos, L. C., Damasceno, K. A., Gamba, C. O., Ferreira, E., y Cassali, G. D. (2016). Research in Veterinary Science HER-2 , EGFR , Cox-2 and Ki67 expression in lymph node metastasis of canine mammary carcinomas : Association with clinical-pathological parameters and overall survival. *Research in Veterinary Science*, 106, 121–130. DOI: 10.1016/j.rvsc.2016.03.020
- Bacchi, S., Palumbo, P., Sponta, A., y Coppolino, M. F. (2012). Clinical Pharmacology of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs : A Review. *Anti-Inflammatory y Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry*, 11, 52–64. DOI: 10.2174/187152312803476255
- Bargadí, M., Fondevila, D., y Ferrer, L. (2012). Immunohistochemical Detection of COX-2 in Feline and Canine Actinic Keratoses and Cutaneous Squamous Cell Carcinoma. *Journal of Comparative Pathology*, 146(1), 11–17. DOI: 10.1016/j.jcpa.2011.03.012
- Beam, S. L., Rassnick, K. M., Moore, A. S., y McDonough, S. P. (2003). An immunohistochemical study of cyclooxygenase-2 expression in various feline neoplasms. *Veterinary Pathology*, 40(5), 496–500. DOI: 10.1354/vp.40-5-496
- Bergh, M. S., y Budsberg, S. C. (2005). The coxib NSAIDs: Potential clinical and pharmacologic importance in veterinary medicine. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 19(5), 633–643. DOI: 10.1892/0891-6640(2005)19[633:TCNPCA]2.0.CO;2
- Bommer, N. X., Hayes, A. M., Scase, T. J., y Gunn-Moore, D. A. (2012). Clinical features, survival times and COX-1 and COX-2 expression in cats with transitional cell carcinoma of the urinary bladder treated with meloxicam. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 14(8), 527–533. DOI: 10.1177/1098612X12442041
- Borrego, J. F., Cartagena, J. C., y Engel, J. (2009). Treatment of feline mammary tumours using chemotherapy , surgery and a COX-2 inhibitor drug (meloxicam): a retrospective study of 23 cases (2002 – 2007)*. *Veterinary and Comparative Oncology*, 7(4), 213–221. DOI: 10.1111/j.1476-5829.2009.00194.x
- Breyer, R. M., Bagdassarian, C. K., Myers, S. A., y Breyer, M. D. (2001). Prostanoid Receptors: Subtypes and Signaling. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 41(1), 661–690. DOI: 10.1146/annurev.pharmtox.41.1.661
- Bronson, R. T. (1982). Variation in age at death of dogs of different sexes and breeds. *American Journal of Veterinary Research*, 43(11), 2057–2059.
- Brunelle, M., Sartin, E. A., Wolfe, L. G., Sirois, J., y Doré, M. (2006). Cyclooxygenase-2 Expression in Normal and Neoplastic Canine Mammary Cell Lines. *Veterinary Pathology*, 43(5), 656–

666. DOI: 10.1354/vp.43-5-656

- Campos, M., Kool, M. M. J., Daminet, S., Ducatelle, R., Rutteman, G., Kooistra, H. S., Galac, S., y Mol, J. A. (2014). Upregulation of the PI3K/Akt Pathway in the Tumorigenesis of Canine Thyroid Carcinoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 28(6), 1814–1823. DOI: 10.1111/jvim.12435
- Carneiro, C. S., de Queiroz, G. F., Pinto, A. C. B. C. F., Dagli, M. L. Z., y Matera, J. M. (2019). Feline injection site sarcoma: immunohistochemical characteristics. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 21(4), 314–321. DOI: 10.1177/1098612X18774709
- Carvalho, M. I., Pires, I., Prada, J., Ferreira, A. F., y Queiroga, F. L. (2015). Positive Interplay Between CD3 + T-lymphocytes and Concurrent COX-2 / EGFR Expression in Canine Malignant Mammary Tumors. *Anticancer Research*, 35(5), 2915–2920.
- Carvalho, M. I., Pires, I., Prada, J., Raposo, T. P., Gregório, H., Lobo, L., y Queiroga, F. L. (2016). High COX-2 expression is associated with increased angiogenesis, proliferation and tumoural inflammatory infiltrate in canine malignant mammary tumours: a multivariate survival study. *Veterinary and Comparative Oncology*, 15(2), 619–631. DOI: 10.1111/vco.12206
- Carvalho, Maria Isabel, Silva-carvalho, R., Pires, I., Prada, J., Bianchini, R., Jensen-jarolim, E., y Queiroga, F. L. (2016). A Comparative Approach of Tumor-Associated Inflammation in Mammary Cancer between Humans and Dogs. *BioMed Research International*. DOI: 10.1155/2016/4917387
- Carvalho, S., Stoll, A. L., Priestnall, S. L., Suarez-Bonnet, A., Rassnick, K., Lynch, S., Schoepper, I., Romanelli, G., Buracco, P., Atherton, M., de Merlo, E. M., y Lara-Garcia, A. (2017). Retrospective evaluation of COX-2 expression, histological and clinical factors as prognostic indicators in dogs with renal cell carcinomas undergoing nephrectomy. *Veterinary and Comparative Oncology*, 15(4), 1280–1294. DOI: 10.1111/vco.12264
- Cathcart, M. C., Lysaght, J., y Pidgeon, G. P. (2011). Eicosanoid signalling pathways in the development and progression of colorectal cancer: Novel approaches for prevention/intervention. *Cancer and Metastasis Reviews*, 30(3–4), 363–385. DOI: 10.1007/s10555-011-9324-x
- Ching, M. M., Reader, J., y Fulton, A. M. (2020). Eicosanoids in Cancer: Prostaglandin E2 Receptor 4 in Cancer Therapeutics and Immunotherapy. *Frontiers in Pharmacology*, 11(May), 1–6. DOI: 10.3389/fphar.2020.00819

- Church, R. D., Yu, J., Fleshman, J. W., Shannon, W. D., Govindan, R., y McLeod, H. L. (2004). RNA profiling of cyclooxygenases 1 and 2 in colorectal cancer. *British Journal of Cancer*, *91*(6), 1015–1018. DOI: 10.1038/sj.bjc.6602119
- Clemente, M., Sánchez-Archidona, A. R., Sardón, D., Díez, L., Martín-ruiz, A., Caceres, S., Sassi, F., Pérez-alenza, M. D., Illera, J. C., Dunner, S., y Peña, L. (2013). Different role of COX-2 and angiogenesis in canine inflammatory and non-inflammatory mammary cancer. *The Veterinary Journal*, *197*(2), 427–432. DOI: 10.1016/j.tvjl.2013.02.009
- Danial, N. N., y Korsmeyer, S. J. (2004). Cell Death : Critical Control Points Review. *Cell Press*, *116*, 205–219. DOI: 10.1016/S0092-8674(04)00046-7
- de M Souza, C. H., Toledo-Piza, E., Amorin, R., Barboza, A., y Tobias, K. M. (2009). Inflammatory mammary carcinoma in 12 dogs: Clinical features, cyclooxygenase-2 expression, and response to piroxicam treatment. *The Canadian Veterinary Journal = La Revue Veterinaire Canadienne*, *50*(5), 506–510.
- Dias Pereira, P., Lopes, C. C., Matos, A. J. F., Santos, M., Gärtner, F., Medeiros, R., y Lopes, C. (2009). COX-2 Expression in Canine Normal and Neoplastic Mammary Gland. *Journal of Comparative Pathology*, *140*(4), 247–253. DOI: 10.1016/j.jcpa.2008.12.005
- DiBernardi, L., Doré, M., Davis, J. A., Owens, J. G., Mohammed, S. I., Guptill, C. F., y Knapp, D. W. (2007). Study of feline oral squamous cell carcinoma: Potential target for cyclooxygenase inhibitor treatment. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, *76*(4), 245–250. DOI: 10.1016/j.plefa.2007.01.006
- Dohadwala, M., Luo, J., Zhu, L., Lin, Y., Dougherty, G. J., Sharma, S., Huang, M., Pold, M., Batra, R. K., y Dubinett, S. M. (2001). Non-small cell lung cancer cyclooxygenase-2-dependent invasion is mediated by CD44. *The Journal of Biological Chemistry*, *276*(24), 20809–20812. DOI: 10.1074/jbc.C100140200
- Doré, M., Lanthier, I., y Sirois, J. (2003). Cyclooxygenase-2 expression in canine mammary tumors. *Veterinary Pathology*, *40*(2), 207–212. DOI: 10.1354/vp.40-2-207
- Dubois, R. N., Abramson, S. B., Crofford, L., Gupta, R. A., Simon, L. S., Van De Putte, L. B., y Lipsky, P. E. (1998). Cyclooxygenase in biology and disease. *Cyclooxygenase in Biology and Disease. FASEB Journal : Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, *12*(12), 1063–1073. DOI: 10.1096/fasebj.12.12.1063
- Evans, J. F., y Kargman, S. L. (2004). Cancer and Cyclooxygenase-2 (COX-2) Inhibition. *Current pharmaceutical design*, *10*(6), 627–634. DOI: 10.2174/1381612043453126

- Finetti, F., Solito, R., Morbidelli, L., Giachetti, A., Ziche, M., y Donnini, S. (2008). Prostaglandin E2 regulates angiogenesis via activation of fibroblast growth factor receptor-1. *The Journal of Biological Chemistry*, 283(4), 2139–2146. DOI: 10.1074/jbc.M703090200
- Flory, A. B., y LeBlanc, A. K. (2005). The role of cyclooxygenase in carcinogenesis and anticancer therapy. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, 27(8), 616–627.
- Fosslien, E. (2000). Molecular pathology of cyclooxygenase-2 in neoplasia. *Annals of Clinical and Laboratory Science*, 30(1), 3–21.
- Fosslien, E. (2001). Review: Molecular Pathology of Cyclooxygenase-2 in Cancer-induced Angiogenesis. *Annals of Clinical y Laboratory Science*, 31(4), 325–348.
- Ghosh, N., Chaki, R., Mandal, V., y Mandal, S. C. (2010). Cox-2 as a target for cancer chemotherapy. *Pharmacological Reports*, 62(2), 233–244. DOI: 10.1016/S1734-1140(10)70262-0
- Göbel, C., Breitenbuecher, F., Kalkavan, H., Hähnel, P. S., Kasper, S., Hoffarth, S., Merches, K., Schild, H., Lang, K. S., y Schuler, M. (2014). Functional expression cloning identifies COX-2 as a suppressor of antigen-specific cancer immunity. *Cell Death and Disease*, 5, e1568. DOI: 10.1038/cddis.2014.531
- Goradel, N. H., Najafi, M., Salehi, E., Farhood, B., y Mortezaee, K. (2019). Cyclooxygenase-2 in cancer: A review. *Journal of Cellular Physiology*, 234(5), 5683–5699. DOI: 10.1002/jcp.27411
- Green, D. R., y Evan, G. I. (2002). A matter of life and death. *Cancer Cell*, 1(1), 19–30. DOI: 10.1016/s1535-6108(02)00024-7
- Greenhough, A., Smartt, H. J. M., Moore, A. E., Roberts, H. R., Williams, A. C., Paraskeva, C., y Kaidi, A. (2009). The COX-2/PGE2 pathway: Key roles in the hallmarks of cancer and adaptation to the tumour microenvironment. *Carcinogenesis*, 30(3), 377–386. DOI: 10.1093/carcin/bgp014
- Gregório, .H, Raposo, T. P., Queiroga, F. L., Prada, J., y Pires, I. (2016). Investigating associations of cyclooxygenase-2 expression with angiogenesis, proliferation, macrophage and T-lymphocyte infiltration in canine melanocytic tumours. *Melanoma Research*, 26(4), 338–347. DOI: 10.1097/CMR.0000000000000262
- Gregório, H., Magalhães, T. R., Pires, I., Prada, J., Carvalho, M. I., y Queiroga, F. L. (2021). The role of COX expression in the prognostication of overall survival of canine and feline cancer:

A systematic review. *Veterinary Medicine and Science*. DOI: 10.1002/vms3.460

- Gregório, H., Raposo, T., Queiroga, F. L., Pires, I., Pena, L., y Prada, J. (2017). High COX-2 expression in canine mast cell tumours is associated with proliferation, angiogenesis and decreased overall survival. *Veterinary and Comparative Oncology*, 15(4), 1382–1392. DOI: 10.1111/vco.12280
- Griffin, M. A., Culp, W., Giuffrida, M. A., Ellis, P., Tuohy, J., Perry, J. A., Gedney, A., Lux, C. N., Milovancev, M., Wallace, M. L., Hash, J., Mathews, K., Liptak, J. M., Semic, L. E., Singh, A., Palm, C. A., Balsa, I. M., Mayhew, P. D., Steffey, M. A., ... Kent, M. S. (2020). Lower urinary tract transitional cell carcinoma in cats: Clinical findings, treatments, and outcomes in 118 cases. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 34(1), 274–282. DOI: 10.1111/jvim.15656
- Guimarães, M. J., Carvalho, M. I., Pires, I., Prada, J., Gil, A. G., Lopes, C., y Queiroga, F. L. (2014). Concurrent expression of cyclo-oxygenase-2 and epidermal growth factor receptor in canine malignant mammary tumours. *Journal of Comparative Pathology*, 150(1), 27–34. DOI: 10.1016/j.jcpa.2013.07.005
- Haakensen, V. D., Bjørro, T., Lüders, T., Riis, M., Bukholm, I. K., Kristensen, V. N., Troester, M. A., Homen, M. M., Ursin, G., Børresen-Dale, A.-L., y Helland, Å. (2011). Serum estradiol levels associated with specific gene expression patterns in normal breast tissue and in breast carcinomas. *BMC Cancer*, 11, 332. DOI: 10.1186/1471-2407-11-332
- Harizi, H., Grosset, C., y Gualde, N. (2003). Prostaglandin E2 modulates dendritic cell function via EP2 and EP4 receptor subtypes. *Journal of Leukocyte Biology*, 73(6), 756–763. DOI: 10.1189/jlb.1002483
- Hashemi Goradel, N., Najafi, M., Salehi, E., Farhood, B., y Mortezaee, K. (2019). Cyclooxygenase-2 in cancer: A review. *Journal of Cellular Physiology*, 234(5), 5683–5699. DOI: 10.1002/jcp.27411
- Hayes, A., Scase, T., Miller, J., Murphy, S., Sparkes, A., y Adams, V. (2006). COX-1 and COX-2 Expression in Feline Oral Squamous Cell Carcinoma. *Journal of Comparative Pathology*, 135(2–3), 93–99. DOI: 10.1016/j.jcpa.2006.06.001
- Hayes, Alison. (2007). Cancer, cyclo-oxygenase and nonsteroidal anti-inflammatory drugs - Can we combine all three? *Veterinary and Comparative Oncology*, 5(1), 1–13. DOI: 10.1111/j.1476-5829.2006.00111.x
- Heller, D. A., Clifford, C. A., Goldschmidt, M. H., Holt, D. E., Shofer, F. S., Smith, A., y Sorenmo, K. U. (2005). Cyclooxygenase-2 expression is associated with histologic tumor type in canine

- mammary carcinoma. *Veterinary Pathology*, 42(6), 776–780. DOI: 10.1354/vp.42-6-776
- Hennequart, M., Pilotte, L., Cane, S., Hoffmann, D., Stroobant, V., y Plaen, E. De. (2017). Constitutive IDO1 Expression in Human Tumors Is Driven by Cyclooxygenase-2 and Mediates Intrinsic Immune Resistance. *Cancer immunology research*, 5(8), 695–710. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-16-0400
- Huang, J., Zhang, D., Xie, F., y Lin, D. (2015). The potential role of COX-2 in cancer stem cell-mediated canine mammary tumor initiation: An immunohistochemical study. *Journal of Veterinary Science*, 16(2), 225–231. DOI: 10.4142/jvs.2015.16.2.225
- Hugo, H. J., Saunders, C., Ramsay, R. G., y Thompson, E. W. (2015). New Insights on COX-2 in Chronic Inflammation Driving Breast Cancer Growth and Metastasis. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 20(3), 109–119. DOI: 10.1007/s10911-015-9333-4
- Hull, M. A., Cuthbert, R. J., Ko, C. W. S., Scott, D. J., Cartwright, J., Hawcroft, G., Perry, S. L., Ingram, N., Carr, I. M., Alexander, F., Bonifer, C., y Coletta, P. L. (2017). Paracrine cyclooxygenase-2 activity by macrophages drives colorectal adenoma progression in the Apc Min / + mouse model of intestinal tumorigenesis. *Scientific Reports*, 7(1), 6074. DOI: 10.1038/s41598-017-06253-5
- Hurst, E. A., Pang, L. Y., y Argyle, D. J. (2019). The selective cyclooxygenase-2 inhibitor mavacoxil (Trocoxil) exerts anti-tumour effects in vitro independent of cyclooxygenase-2 expression levels. *Veterinary and Comparative Oncology*, 17(2), 194–207. DOI: 10.1111/vco.12470
- Hussain, M., Javeed, A., Ashraf, M., Al-Zubai, N., Stewart, A., y Mukhtar, M. M. (2012). Non-steroidal anti-inflammatory drugs, tumour immunity and immunotherapy. *Pharmacological Research*, 66(1), 7–18. DOI: 10.1016/j.phrs.2012.02.003
- Jones, C. J., y Budsberg, S. C. (2000). Physiologic characteristics and clinical importance of the cyclooxygenase isoforms in dogs and cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 217(5), 721–729. DOI: 10.2460/javma.2000.217.721
- Kabir, D., Leigh, R. J., Tasena, H., Mellone, M., Coletta, R. D., Parkinson, E. K., Prime, S. S., Thomas, G. J., Paterson, I. C., Zhou, D., Speight, P. M., y Lambert, D. W. (2016). A miR - 335 / COX - 2 / PTEN axis regulates the secretory phenotype of senescent cancer - associated fibroblasts. *Aging*, 8(8), 1608–1624. DOI: 10.18632/aging.100987
- Kino, Y., Kojima, F., Kiguchi, K., Igarashi, R., Ishizuka, B., y Kawai, S. (2005). Prostaglandin E2 production in ovarian cancer cell lines is regulated by cyclooxygenase-1, not cyclooxygenase-2. *Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids*, 73(2), 103–111.

DOI: 10.1016/j.plefa.2005.04.014

- Knapp, D. W., Richardson, R. C., Chan, T. C. K., Bottoms, G. D., Widmer, W. R., DeNicola, D. B., Teclaw, R., Bonney, P. L., y Kuczek, T. (1994). Piroxicam Therapy in 34 Dogs With Transitional Cell Carcinoma of the Urinary Bladder. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 8(4), 273–278. DOI: 10.1111/j.1939-1676.1994.tb03232.x
- Knottenbelt, C., Mellor, D., Nixon, C., Thompson, H., y Argyle, D. J. (2006). Cohort study of COX-1 and COX-2 expression in canine rectal and bladder tumours. *The Journal of Small Animal Practice*, 47(4), 196–200. DOI: 10.1111/j.1748-5827.2006.00094.x
- Ko, C. J., Lan, S. W., Lu, Y. C., Cheng, T. S., Lai, P. F., Tsai, C. H., Hsu, T. W., Lin, H. Y., Shyu, H., Wu, S. R., Lin, H. H., Hsiao, P. W., Chen, C. H., Huang, H. P., y Lee, M. S. (2017). Inhibition of cyclooxygenase-2-mediated matriptase activation contributes to the suppression of prostate cancer cell motility and metastasis. *Oncogene*, 36(32), 4597–4609. DOI: 10.1038/onc.2017.82
- Krishnamachary, B., Stasinopoulos, I., Kakkad, S., Solaiyappan, M., y Bhujwalla, Z. M. (2017). Breast cancer cell cyclooxygenase-2 expression alters extracellular matrix structure and function and numbers of cancer associated fibroblasts. *Oncotarget*, 8(11), 17981–17994. DOI: 10.18632/oncotarget.14912
- L'Eplattenier, H. F., Lai, C. L., van den Ham, R., Mol, J., van Sluijs, F., y Teske, E. (2007). Regulation of COX-2 Expression in Canine Prostate Carcinoma: Increased COX-2 Expression is Not Related to Inflammation. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 21(4), 776–782. DOI: 10.1892/0891-6640(2007)21[776:roceic]2.0.co;2
- Lavalle, G. E., Bertagnolli, A. C., Tavares, W. L. F., y Cassali, G. D. (2009). Cox-2 expression in canine mammary carcinomas: Correlation with angiogenesis and overall survival. *Veterinary Pathology*, 46(6), 1275–1280. DOI: 10.1354/vp.08-VP-0226-C-FL
- Lavalle, G. E., De Campos, C. B., Bertagnolli, A. C., y Cassali, G. D. (2012). Canine malignant mammary gland neoplasms with advanced clinical staging treated with carboplatin and cyclooxygenase inhibitors. *In Vivo (Athens, Greece)*, 26(3), 375–379.
- Lee, G., y Ng, H.-T. (1995). Clinical evaluations of a new ovarian cancer marker, COX-1. *International Journal of Gynecology y Obstetrics*, 49 Suppl, S27–S32. DOI: 10.1016/0020-7292(95)02406-3
- Li, H., Fan, X., y Houghton, J. (2007). Tumor microenvironment: The role of the tumor stroma in cancer. *Journal of Cellular Biochemistry*, 101(4), 805–815. DOI: 10.1002/jcb.21159

- Liu, B., Qu, L., y Yan, S. (2015). Cyclooxygenase-2 promotes tumor growth and suppresses tumor immunity. *Cancer Cell International*, 15(106). DOI: 10.1186/s12935-015-0260-7
- Magi, G. E., Mari, S., Renzoni, G., y Rossi, G. (2010). Immunohistochemical expression of COX-2 in feline injection site sarcoma. *Journal of Comparative Pathology*, 143(4), 340. DOI: 10.1016/j.jcpa.2010.09.110
- Majumder, M., Dunn, L., Liu, L., Hasan, A., Vincent, K., Brackstone, M., Hess, D., y Lala, P. K. (2018). COX-2 induces oncogenic micro RNA miR655 in human breast cancer. *Scientific Reports*, 8(1), 327. DOI: 10.1038/s41598-017-18612-3
- Martinet, L., Jean, C., Dietrich, G., Fournié, J.-J., y Poupot, R. (2010). PGE2 inhibits natural killer and gamma delta T cell cytotoxicity triggered by NKR and TCR through a cAMP-mediated PKA type I-dependent signaling. *Biochemical Pharmacology*, 80(6), 838–845. DOI: 10.1016/j.bcp.2010.05.002
- Martínez, C. M., Peñafiel-Verdú, C., Vilafranca, M., Ramírez, G., Méndez-Gallego, M., Buendía, A. J., y Sánchez, J. (2011). Cyclooxygenase-2 Expression Is Related With Localization , Proliferation , and Overall Survival in Canine Melanocytic Neoplasms. *Veterinary Pathology*, 48(6), 1204–1211. DOI: 10.1177/0300985810396517
- Mazhar, D., Gillmore, R., y Waxman, J. (2005). COX and cancer. *QJM - Monthly Journal of the Association of Physicians*, 98(10), 711–718. DOI: 10.1093/qjmed/hci119
- Mcmillan, S. K., Boria, P., Moore, G. E., Widmer, W. R., Bonney, P. L., y Knapp, D. W. (2011). Antitumor effects of deracoxib treatment in 26 dogs with transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 239(8), 1084–1089. DOI: 10.2460/javma.239.8.1084
- Miao, J., Lu, X., Hu, Y., Piao, C., Wu, X., Liu, X., Huang, C., Wang, Y., Li, D., y Liu, J. (2017). Prostaglandin E(2) and PD-1 mediated inhibition of antitumor CTL responses in the human tumor microenvironment. *Oncotarget*, 8(52), 89802–89810. DOI: 10.18632/oncotarget.21155
- Millanta, F., Andreani, G., Rocchigiani, G., Lorenzi, D., y Poli, A. (2016). Correlation Between Cyclo-oxygenase-2 and Vascular Endothelial Growth Factor Expression in Canine and Feline Squamous Cell Carcinomas. *Journal of Comparative Pathology*, 154(4), 297–303. DOI: 10.1016/j.jcpa.2016.02.005
- Millanta, F., Asproni, P., Canale, A., Citi, S., y Poli, A. (2016). COX-2, mPGES-1 and EP2 receptor immunohistochemical expression in canine and feline malignant mammary tumours.

Veterinary and Comparative Oncology, 14(3), 270–280. DOI: 10.1111/vco.12096

- Millanta, F., Asproni, P., Cancedda, S., Vignoli, M., Bacci, B., y Poli, A. (2012). Immunohistochemical Expression of COX-2, mPGES and EP2 Receptor in Normal and Reactive Canine Bone and in Canine Osteosarcoma. *Journal of Comparative Pathology*, 147(2–3), 153–160. DOI: 10.1016/j.jcpa.2012.02.003
- Millanta, F., Citi, S., Della Santa, D., Porciani, M., y Poli, A. (2006). COX-2 expression in canine and feline invasive mammary carcinomas: Correlation with clinicopathological features and prognostic molecular markers. *Breast Cancer Research and Treatment*, 98(1), 115–120. DOI: 10.1007/s10549-005-9138-z
- Misra, S., Obeid, L. M., Hannun, Y. A., Minamisawa, S., Berger, F. G., Markwald, R. R., Toole, B. P., y Ghatak, S. (2008). Hyaluronan constitutively regulates activation of COX-2-mediated cell survival activity in intestinal epithelial and colon carcinoma cells. *The Journal of Biological Chemistry*, 283(21), 14335–14344. DOI: 10.1074/jbc.m703811200
- Mougiakakos, D., Johansson, C. C., Trocme, E., All-Ericsson, C., Economou, M. A., Larsson, O., Seregard, S., y Kiessling, R. (2010). Intratumoral forkhead box P3-positive regulatory T cells predict poor survival in cyclooxygenase-2-positive uveal melanoma. *Cancer*, 116(9), 2224–2233. DOI: 10.1002/cncr.24999
- Mullins, M. N., Lana, S. E., Dernell, W. S., Ogilvie, G. K., Withrow, S. J., y Ehrhart, E. J. (2004). Cyclooxygenase-2 Expression in Canine Appendicular Osteosarcomas. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 18(6), 859–865. DOI: 10.1892/0891-6640(2004)18<859:ceicao>2.0.co;2
- Nakanishi, Y., Nakatsuji, M., Seno, H., Ishizu, S., Akitake-Kawano, R., Kanda, K., Ueo, T., Komekado, H., Kawada, M., Minami, M., y Chiba, T. (2011). COX-2 inhibition alters the phenotype of tumor-associated macrophages from M2 to M1 in ApcMin/+ mouse polyps. *Carcinogenesis*, 32(9), 1333–1339. DOI: 10.1093/carcin/bgr128
- Nardi, A., Raposo, T., Huppes, R., Daleck, C., y Amorim, R. (2011). COX-2 Inhibitors for Cancer Treatment in Dogs. *Pakistan Veterinary Journal*, 31(4), 275–279.
- Niuro, H., Otsuka, T., Ogami, E., Yamaoka, K., Nagano, S., Akahoshi, M., Nakashima, H., Arinobu, Y., Izuhara, K., y Niho, Y. (1998). *MAP Kinase Pathways as a Route for Regulatory Mechanisms of IL-10 and IL-4 Which Inhibit COX-2 Expression in Human Monocytes 1*. 205, 200–205. DOI: 10.1006/bbrc.1998.9287
- Nóbrega, D. F., Sehaber, V. F., Madureira, R., y Bracarense, A. P. F. R. L. (2019). Canine Cutaneous Haemangiosarcoma: Biomarkers and Survival. *Journal of Comparative Pathology*, 166, 87–

96. DOI: 10.1016/j.jcpa.2018.10.181

- Obermajer, N., Muthuswamy, R., Lesnock, J., Edwards, R. P., y Kalinski, P. (2011). Positive feedback between PGE2 and COX2 redirects the differentiation of human dendritic cells toward stable myeloid-derived suppressor cells. *Blood*, *118*(20), 5498–5505. DOI: 10.1182/blood-2011-07-365825
- Okamoto, T., Hara, A., y Hino, O. (2003). Down-regulation of cyclooxygenase-2 expression but up-regulation of cyclooxygenase-1 in renal carcinomas of the Eker (TSC2 gene mutant) rat model. *Cancer Science*, *94*(1), 22–25. DOI: 10.1111/j.1349-7006.2003.tb01346.x
- Oshima, M., Dinchuk, J. E., Kargman, S. L., Oshima, H., Hancock, B., Kwong, E., Trzaskos, J. M., Evans, J. F., y Taketo, M. M. (1996). Suppression of Intestinal Polyposis in Apc \ominus 716 Knockout Mice by Inhibition of Cyclooxygenase 2 (COX-2). *Cell*, *87*, 803–809. DOI: 10.1016/s0092-8674(00)81988-1
- Packeiser, E. M., Hewicker-Trautwein, M., Thiemeyer, H., Mohr, A., Junginger, J., Schille, J. T., Murua Escobar, H., y Nolte, I. (2020). Characterization of six canine prostate adenocarcinoma and three transitional cell carcinoma cell lines derived from primary tumor tissues as well as metastasis. *PLoS ONE*, *15*(3), 1–25. DOI: 10.1371/journal.pone.0230272
- Pan, J., Yang, Q., Shao, J., Zhang, L., Ma, J., Wang, Y., Jiang, B.-H., Leng, J., y Bai, X. (2016). Cyclooxygenase-2 induced β 1-integrin expression in NSCLC and promoted cell invasion via the EP1/MAPK/E2F-1/FoxC2 signal pathway. *Scientific Reports*, *6*(1), 33823. DOI: 10.1038/srep33823
- Pannunzio, A., y Coluccia, M. (2018). Cyclooxygenase-1 (COX-1) and COX-1 inhibitors in cancer: A review of oncology and medicinal chemistry literature. *Pharmaceuticals*, *11*(4), 1–20. DOI: 10.3390/ph11040101
- Pastor, N., Ezquerra, L. J., Santella, M., Caballé, N. C., Tarazona, R., y Durán, M. E. (2020). Prognostic significance of immunohistochemical markers and histological classification in malignant canine mammary tumours. *Veterinary and Comparative Oncology*, *18*(4), 753–762. DOI: 10.1111/vco.12603
- Patrignani, P., Tacconelli, S., Sciulli, M. G., y Capone, M. L. (2005). New insights into COX-2 biology and inhibition. *Brain Research Reviews*, *48*(2), 352–359. DOI: 10.1016/j.brainresrev.2004.12.024

- Pires, I., Garcia, A., Prada, J., y Queiroga, F. L. (2010). COX-1 and COX-2 Expression in Canine Cutaneous , Oral and Ocular Melanocytic Tumours. *Journal of Comparative Pathology*, 143(2–3), 142–149. DOI: 10.1016/j.jcpa.2010.01.016
- Poggiani, S. D. S. C., Hatayde, M. R., Laufer-Amorim, R., y Werner, J. (2012). Expression of Cyclooxygenase-2 and Ki-67 in Actinic Keratosis and Cutaneous Squamous Cell Carcinoma in Dogs. *Open Journal of Veterinary Medicine*, 2(2), 41–47. DOI: 10.4236/ojvm.2012.22007
- Prada, J., Queiroga, F. L., Gregório, H., y Pires, I. (2012). Evaluation of Cyclooxygenase-2 Expression in Canine Mast Cell Tumours. *Journal of Comparative Pathology*, 147(1), 31–36. DOI: 10.1016/j.jcpa.2011.09.007
- Prescott, S. M., y Fitzpatrick, F. A. (2000). Cyclooxygenase-2 and carcinogenesis. *Biochimica et Biophysica Acta - Reviews on Cancer*, 1470(2). DOI: 10.1016/S0304-419X(00)00006-8
- Qian, B., y Pollard, J. W. (2010). Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis. *Cell*, 141(1), 39–51. DOI: 10.1016/j.cell.2010.03.014.Macrophage
- Queiroga, F. L., Alves, A., Pires, I., y Lopes, C. (2007). Expression of Cox-1 and Cox-2 in Canine Mammary Tumours. *Journal of Comparative Pathology*, 136(2–3), 177–185. DOI: 10.1016/j.jcpa.2007.01.010
- Queiroga, F. L., Perez-Alenza, M. D., Silvan, G., Peña, L., Lopes, C., y Illera, J. C. (2005). Cox-2 levels in canine mammary tumors, including inflammatory mammary carcinoma: clinicopathological features and prognostic significance. *Anticancer Research*, 25(6B), 4269–4275.
- Queiroga, F. L., Pires, I., Lobo, L., y Lopes, C. S. (2010). The role of Cox-2 expression in the prognosis of dogs with malignant mammary tumours. *Research in Veterinary Science*, 88(3), 441–445. DOI: 10.1016/j.rvsc.2009.10.009
- Queiroga, F. L., Pires, I., Parente, M., Gregório, H., y Lopes, C. S. (2011). COX-2 over-expression correlates with VEGF and tumour angiogenesis in canine mammary cancer. *Veterinary Journal*, 189(1), 77–82. DOI: 10.1016/j.tvjl.2010.06.022
- Raposo, T. P., Beirão, B. C. B., Pang, L. Y., Queiroga, F. L., y Argyle, D. J. (2015). Inflammation and cancer: Till death tears them apart. *Veterinary Journal*, 205(2), 161–174. DOI: 10.1016/j.tvjl.2015.04.015
- Ravicini, S., Baines, S. J., Taylor, A., Amores-Fuster, I., Mason, S. L., y Treggiari, E. (2018). Outcome and prognostic factors in medically treated canine prostatic carcinomas: A multi-institutional study. *Veterinary and Comparative Oncology*, 16(4), 450–458. DOI:

10.1111/vco.12400

Rizzo, M. T. (2011). Cyclooxygenase-2 in oncogenesis. *Clinica Chimica Acta*, 412(9–10), 671–687.

DOI: 10.1016/j.cca.2010.12.026

Rossi, F., Sabattini, S., Vascellari, M., y Marconato, L. (2018). The impact of toceranib, piroxicam and thalidomide with or without hypofractionated radiation therapy on clinical outcome in dogs with inflammatory mammary carcinoma. *Veterinary and Comparative Oncology*, 16(4), 497–504. DOI: 10.1111/vco.12407

Sayasith, K., Sirois, J., y Doré, M. (2009). Molecular characterization of feline COX-2 and expression in feline mammary carcinomas. *Veterinary Pathology*, 46(3), 423–429. DOI: 10.1354/vp.08-VP-0161-D-FL

Schneider, C., y Pozzi, A. (2011). Cyclooxygenases and lipoxygenases in cancer. *Cancer Metastasis Reviews*, 30(0), 277–294. DOI: 10.1007/s10555-011-9310-3.Cyclooxygenases

Shiga, K., Hara, M., Nagasaki, T., Sato, T., y Takahashi, H. (2015). Cancer-Associated Fibroblasts : Their Characteristics and Their Roles in Tumor Growth. *Cancers*, 7(4), 2443–2458. DOI: 10.3390/cancers7040902

Sica, A., Schioppa, T., Mantovani, A., y Allavena, P. (2006). Tumour-associated macrophages are a distinct M2 polarised population promoting tumour progression: Potential targets of anti-cancer therapy. *European Journal of Cancer*, 42(6), 717–727. DOI: 10.1016/j.ejca.2006.01.003

Singh, B., Berry, J. A., Shoher, A., y Lucci, A. (2006). COX-2 Induces IL-11 Production in Human Breast Cancer Cells. *Journal of Surgical Research*, 131(2), 267–275. DOI: 10.1016/j.jss.2005.11.582

Soares, L. M. C., Pereira, A. H. B., de Campos, C. G., Rocha, L. S., dos Santos, T., Souza, M. A., Jark, P. C., y Pescador, C. A. (2020). Histopathological and Immunohistochemical Characteristics of Thyroid Carcinoma in the Dog. *Journal of Comparative Pathology*, 177, 34–41. DOI: 10.1016/j.jcpa.2020.04.002

Sobczyńska-Rak, A., Silmanowicz, P., y Polkowska, I. (2016). Tumor Angiogenesis – factors influencing the development of a tumor vascular network and assessment of neoangiogenesis in histopathological samples. *Medycyna Weterynaryjna*, 72, 542–548. DOI: 10.21521/mw.5563

Sorenmo, K. U., Goldschmidt, M. H., Shofer, F. S., Goldkamp, C., y Ferracone, J. (2004). Evaluation of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 expression and the effect of cyclooxygenase

- inhibitors in canine prostatic carcinoma. *Veterinary and Comparative Oncology*, 2(1), 13–23. DOI: 10.1111/j.1476-5810.2004.00035.x
- Sparger, E. E., Murphy, B. G., Kamal, F. M., Arzi, B., Naydan, D., Skouritakis, C. T., Cox, D. P., y Skorupski, K. (2018). Investigation of Immune Cell Markers in Feline Oral Squamous Cell Carcinoma. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 202, 52–62. DOI: 10.1016/j.vetimm.2018.06.011.Investigation
- Szweda, M., Rychlik, A., Babińska, I., y Pomianowski, A. (2019). Significance of cyclooxygenase-2 in oncogenesis. *Journal of Veterinary Research (Poland)*, 63(2), 215–224. DOI: 10.2478/jvetres-2019-0030
- Szweda, M., Rychlik, A., Babińska, I., y Pomianowski, A. (2020). Cyclooxygenase-2 as a biomarker with diagnostic, therapeutic, prognostic, and predictive relevance in small animal oncology. *Journal of Veterinary Research (Poland)*, 64(1), 151–160. DOI: 10.2478/jvetres-2020-0018
- Tessner, T. G., Muhale, F., Riehl, T. E., Anant, S., y Stenson, W. F. (2004). Prostaglandin E 2 reduces radiation-induced epithelial apoptosis through a mechanism involving AKT activation and bax translocation. *The Journal of Clinical Investigation*, 114(11), 1676–1685. DOI: 10.1172/JCI22218
- Thun, M. J., Namboodiri, M. M., y Heath, C. W. (1991). Aspirin use and reduced risk of fatal colon cancer. *The New England Journal of Medicine*, 325(23), 1593–1596. DOI: 10.1056/NEJM199112053252301
- Tong, D., Liu, Q., Liu, G., Xu, J., Lan, W., Jiang, Y., Xiao, H., Zhang, D., y Jiang, J. (2017). Metformin inhibits castration-induced EMT in prostate cancer by repressing COX2/PGE2/STAT3 axis. *Cancer Letters*, 389, 23–32. DOI: 10.1016/j.canlet.2016.12.031
- Uefuji, K., Ichikura, T., y Mochizuki, H. (2000). Cyclooxygenase-2 Expression Is Related to Prostaglandin Biosynthesis and Angiogenesis in Human Gastric Cancer. *Clinical Cancer Research*, 6(1), 135–138.
- Vascellari, M., Giantin, M., Capello, K., Carminato, A., Morello, E. M., Vercelli, A., Granato, A., Buracco, P., Dacasto, M., y Mutinelli, F. (2013). Expression of Ki67, BCL-2, and COX-2 in Canine Cutaneous Mast Cell Tumors: Association With Grading and Prognosis. *Veterinary Pathology*, 50(1), 110–121. DOI: 10.1177/0300985812447829
- Waddell, W. R., y Loughry, R. W. (1983). Sulindac for polyposis of the colon. *Journal of Surgical Oncology*, 24(1), 83–87. DOI: 10.1002/jso.2930240119

- Wang, D., Buchanan, F. G., Wang, H., Dey, S. K., y DuBois, R. N. (2005). Prostaglandin E 2 enhances intestinal adenoma growth via activation of the ras-mitogen-activated protein kinase cascade. *Cancer Research*, 65(5), 1822–1829. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-3671
- Wang, D., Wang, H., Shi, Q., Katkuri, S., Walhi, W., Desvergne, B., Das, S. K., Dey, S. K., y Dubois, R. N. (2004). Prostaglandin E 2 promotes colorectal adenoma growth via transactivation of the nuclear peroxisome proliferator-activated receptor. *Cancer cell*, 6(3), 285–295. DOI: 10.1016/j.ccr.2004.08.011285–295.
- Wideli, M. S., y Wideli, M. (2006). Mechanisms of metastasis and molecular markers of malignant tumor progression. I. Colorectal cancer. *Postepy higieny i medycyny doswiadczalnej (Online)*, 60, 453–470.
- Williams, C. S., Mann, M., y DuBois, R. N. (1999). The role of cyclooxygenases in inflammation, cancer, and development. *Oncogene*, 18(55), 7908–7916. DOI: 10.1038/sj.onc.1203286
- Yoshitake, R., Saeki, K., Watanabe, M., Nakaoka, N., Ong, S. M., Hanafusa, M., Choisunirachon, N., Fujita, N., Nishimura, R., y Nakagawa, T. (2017). Molecular investigation of the direct anti-tumour effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in a panel of canine cancer cell lines. *The Veterinary Journal*, 221, 38–47. DOI: 10.1016/j.tvjl.2017.02.001
- Zha, S., Yegnasubramanian, V., Nelson, W. G., Isaacs, W. B., y De Marzo, A. M. (2004). Cyclooxygenases in cancer: Progress and perspective. *Cancer Letters*, 215(1), 1–20. DOI: 10.1016/j.canlet.2004.06.014
- Zhu, M., Zhu, Y., y Lance, P. (2013). TNF α -activated stromal COX-2 signalling promotes proliferative and invasive potential of colon cancer epithelial cells. *Cell Proliferation*, 46, 374–381. DOI: 10.1111/cpr.12047
- Zhu, Y., Hua, P., y Lance, P. (2003). Cyclooxygenase-2 Expression and Prostanoid Biogenesis Reflect Clinical Phenotype in Human Colorectal Fibroblast Strains. *Cancer Research*, 63(2), 522–526.
- Zhu, Y., Zhu, M., y Lance, P. (2012). IL1 β -mediated Stromal COX-2 signaling mediates proliferation and invasiveness of colonic epithelial cancer cells. *Experimental Cell Research*, 318(19), 2520–2530. DOI: 10.1016/j.yexcr.2012.07.021