

NSAID : Dari Analgetik-antiinflamasi ke Antineoplasi

Gunawan Wibisono

Bagian Ilmu Penyakit Gigi & Mulut Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

Gunawan Wibisono : NSAID : Dari Analgetik - Antiinflamasi Ke Antineoplasi. Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Indonesia 2002; 9(2) : 23 - 29

Abstract

Inflammatory mediators, such as prostaglandins and histamines can cause pain. Non steroid anti-inflammatory drugs (NSAIDs) have been indicated to reduce pain on inflammatory conditions. Pharmacologically, NSAIDs inhibit prostaglandins which are synthesized from arachidonic acid by blocking cyclooxygenase-1 and 2 enzymes. Prostaglandins are known to be overexpressed on inflammatory, premalignant and malignant conditions. The prostaglandins promote tumour development by enhancing tumour cells proliferation, tumour angiogenesis, and tumour cell metastatic opportunity, and by inducing antiapoptotic gene expression. Epidemiological and biomedically, there is significant evidence that NSAIDs could inhibit tumour development. NSAIDs inhibit expression transcription factors, angiogenic factors of tumour angiogenesis, tumour metastasis and depress expression of antiapoptotic genes. This evidence suggest that potentially NSAIDs could prevent tumour development, besides being analgesic-antiinflammatory drugs.

Pendahuluan

Keluhan rasa sakit dan nyeri sering ditimbulkan akibat kondisi patologis dari gigi dan jaringan lunak rongga mulut. Rasa nyeri juga dapat muncul akibat peradangan sebagai akibat tindakan intervensi di kedokteran gigi, mulai pencabutan ringan, tindakan bedah minor hingga bedah mulut mayor lainnya.

Peradangan merupakan mekanisme homeostasis bagi tubuh untuk memperbaiki diri (*self repair*) dari kerusakan yang disebabkan oleh jejas. Namun demikian, rasa nyeri, bengkak, panas dan fungsiolesa yang menyertai peradangan merupakan efek yang terasa tidak nyaman. Pada kondisi peradangan, dihasilkan mediator radang, seperti prostaglandin, bradikinin dan histamin yang menimbulkan rasa nyeri.¹

Pilihan paling umum untuk mengatasi hal tersebut adalah pemberian obat analgetik untuk meredakan rasa nyeri. Obat analgetik biasanya sekaligus berefek sebagai antipiretik dan antiinflamasi. Obat analgetik antiinflamasi secara umum dikelompokkan dalam golongan steroid dan non steroid. Penggunaan NSAID (Non Steroid anti-inflammatory drugs) dianggap lebih rasional karena memberi efek analgetik dan antiinflamasi sekaligus. Dalam praktek sehari-hari di bidang kedokteran gigi, NSAID diindikasikan untuk pengobatan pada pasca pencabutan dan tindakan bedah. Alasan penggunaan NSAID adalah karena memberi efek yang nyata untuk mengurangi rasa sakit dan peradangan, tidak menimbulkan efek samping yang besar dan terjangkau secara ekonomis.

Prostaglandin : *constitutive dan inducible*

Prostaglandin adalah eikosanoid turunan dari metabolisme asam arakidonat, yang berfungsi sebagai hormon "lokal" yang mempengaruhi sel yang menghasilkannya (efek autokrin) dan sel lain di sekitarnya (efek parakrin). Dikatakan lokal, karena hanya mempengaruhi sel di sekitarnya saja. Prostaglandin bersama, tromboksan dan leukotrien, merupakan salah satu pengatur fungsi sel yang paling kuat dan dihasilkan hampir setiap sel tubuh.²

Prostaglandin dihasilkan dari pemecahan asam arakidonat dengan enzim siklooksigenase. Ada 2 isoform enzim siklooksigenase, yaitu siklooksigenase-1 (cox-1) dan siklooksigenase-2 (cox-2). Enzim cox-1 disebut dengan

constitutive cyclooxygenase, sedangkan cox-2 disebut inducible cyclooxygenase. Disebut constitutive karena enzim cox-1 secara normal disintesis oleh jaringan sehat tubuh untuk berbagai keperluan fisiologis, seperti melindungi mukosa lambung, homeostasis sirkulasi darah di ginjal dan mengontrol fungsi agregasi platelet. Sedangkan ekspresi cox-2 diinduksi pada kondisi inflamasi, preneoplasia dan neoplasia, sehingga disebut sebagai inducible cyclooxygenase.^{3,4}

Prostaglandin dihasilkan dengan beberapa varian, tergantung dari sel atau jaringan yang mensintesis. Varian prostaglandin kadang mempunyai efek biologis yang berbeda, bahkan kadang berlawanan (antagonistik). Secara biokimiawi, prostaglandin varian PGE, PGD dan PGI bekerja dengan cara berikatan dengan reseptor spesifik membran sel, kemudian menginduksi aktivasi sistem adenilat siklase-cAMP dari protein kinase A. Sedangkan varian PGF, tromboksan dan leukotrien ber-efek meningkatkan kadar kalsium sitosolik sel efektor.²

Prostaglandin Pada Inflamasi

Peradangan merupakan mekanisme homeostatis bagi jaringan untuk mempertahankan kondisi normal. Berbagai mekanisme kimiawi yang rumit berlangsung di dalamnya. Proses radang memusnahkan dan membatasi penyebab jejas dan selanjutnya men- cetuskan jalan untuk pemulihan jaringan. Tujuan akhir dari peradangan adalah perbaikan jaringan setelah terjadi kerusakan akibat jejas.¹

Terdapat berbagai komponen yang berperan dalam peradangan, antara lain pembuluh darah, saraf, sel dari jaringan setempat dan mediator-mediator peradangan. Secara fisiologis prostaglandin berperan penting pada proses peradangan, terutama pada fenomena

perubahan vaskular. Prostaglandin E2 dan prostasiklin tidak langsung berpengaruh pada permeabilitas vaskular, namun memperkuat pembentukan edema dengan meningkatkan efek permeabilitas dari mediator radang lain seperti histamin. Peningkatan permeabilitas vaskular menyebabkan masuknya leukosit sebagai respon seluler ke daerah radang.^{1,2}

Prostaglandin Pada Neoplasia

a. Ekspresi PG pada neoplasia

Selain pada keadaan peradangan, enzim cox-2 ternyata juga overekspresi pada kondisi praneoplasia dan neoplasia.^{5,6,7} Sel tumor mengekspresikan cox-2 sebanding dengan derajat keganasannya. Sebanyak 50% hingga 90% kasus adenokarsinoma, terjadi peningkatan ekspresi cox-2. Peningkatan cox-2 diyakini berkorelasi kuat dengan peran prostaglandin pada pertumbuhan sel tumor itu sendiri.⁸

b. Peran prostaglandin pada neoplasia

Pada kondisi keganasan, tumor berkembang dengan cara replikasi. Pada tingkat subseluler, diperlukan faktor-faktor pertumbuhan untuk transkripsi dan replikasi, sedangkan pada tingkat jaringan diperlukan dukungan vaskularisasi baru untuk memenuhi suplai nutrisi.

Prostaglandin yang dihasilkan cox-2 memacu pertumbuhan sel tumor dengan berbagai cara yaitu: 1) memacu faktor transkripsi seperti fas, c-fos, jun, sehingga proliferasi meningkat,⁹ 2) memacu ekspresi bcl-2 sehingga menghambat antiapoptosis,¹⁰ 3) meningkatkan ekspresi VEGF, sehingga memacu angiogenesis,¹¹ 4) meningkatkan kemampuan invasi dan metastase sel tumor,¹⁰ 5) menekan ekspresi TGF- β , padahal TGF- β berfungsi sebagai transduktor penghambat per-

tumbuhan sel. Sehingga jika efek penghambatan pertumbuhan sel ditekan, maka sel akan terus tumbuh. Prostaglandin secara tidak langsung meningkatkan pertumbuhan sel.¹²

Percobaan pada sel PC-3, menunjukkan efek autokrinik prostaglandin-E2 yang disintesis sel tumor memacu jalur sinyal transduksi protein kinase A (PKA), kemudian menyebabkan overekspresi c-fos pada nukleus. Onkoprotein c-fos merupakan faktor transkripsi pada sintesis DNA.¹³

Percobaan pada tikus menunjukkan terdapat kaitan antara sintesis prostaglandin dengan kontrol pertumbuhan sel. Pada sel tikus Balb/c, prostaglandin bertindak bukan sebagai faktor mitogenik namun sebagai permissive factor yang meningkatkan afinitas titik tangkap (binding site) terhadap *Insulin-like Growth Factor (IGF)*. Percobaan pada kulit tikus menunjukkan, pemberian PGE1, PGE2 dan PGF2 secara topical menyebabkan peningkatan sintesis DNA.⁵¹

Percobaan pada sel tumor juga menunjukkan bahwa prostaglandin sangat berpengaruh pada proliferasi sel tumor. Pada tumor adenoma kolon HT-29 nampak bahwa PGE2 dan LTb4 meningkatkan proliferasi sel.⁵¹

Sel yang mengalami kerusakan akibat jejas akan masuk *fase arrest*, agar melakukan perbaikan diri (*self repair*) sehingga akan kembali normal. Jika proses perbaikan tidak berhasil, maka akan diarahkan untuk membunuh dirinya sendiri (apoptosis) dan dikeluarkan dari lingkungannya. Mekanisme apoptosis berlangsung sangat kompleks dan melibatkan banyak gen yang berperan sebagai pro apoptosis maupun anti apoptosis. Apoptosis dapat berlangsung dengan mediator prostaglandin (Cox-dependent) dan tanpa mediator prostaglandin (Cox-independent).¹⁴

Salah satu gen yang berperan sebagai faktor anti apoptosis adalah gen Bcl-2. Peningkatan Cox-2 di ke-

tahai menyebabkan peningkatan ekspresi gen Bcl-2. Peningkatan Bcl-2 menyebabkan sel yang mestinya mengalami kematian terprogram (apoptosis) justru tetap hidup, lepas dari kontrol regulasi normal. Padahal sel ini mengandung gen-gen rusak akibat jejas atau mutasi, sehingga sel hasil replikasi berikutnya dapat bertransformasi neoplastik.¹⁵

rigenesis.¹⁶

Jika tumor mulai berkembang, maka mutlak diperlukan kapiler darah baru untuk menjamin suplai nutrisi bagi kepentingan proliferasi sel tumor. Vaskularisasi juga meningkatkan oportunitas sel tumor untuk migrasi ke sirkulasi darah dan memungkinkan untuk metastasis.¹⁷

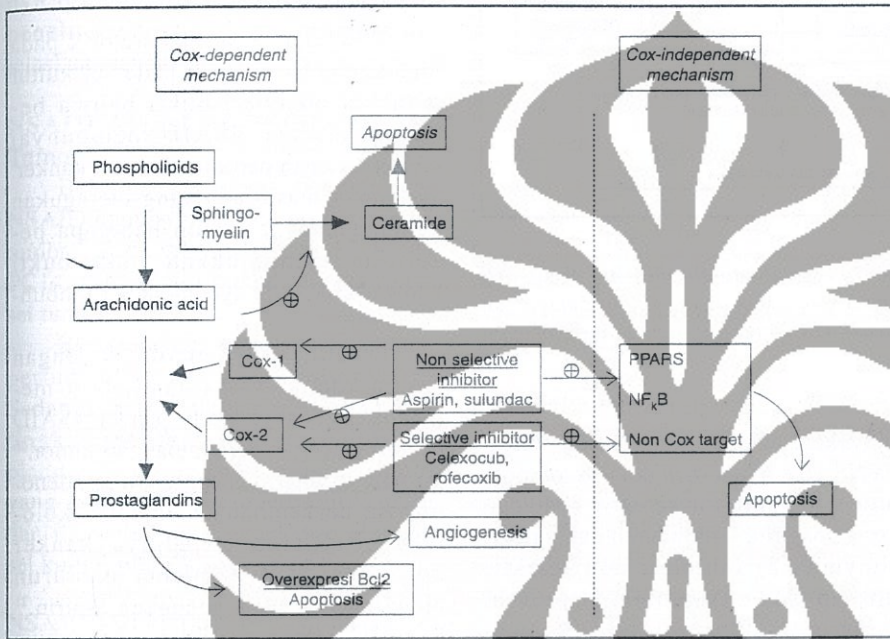
suatu faktor pertumbuhan (*growth factor*) dengan beberapa varian, yang diperlukan dalam pengendalian proliferasi sel. Dalam mekanisme signal transduksi, TGF- β bertindak sebagai signal receiver, reseptor membran plasma ataupun sebagai faktor transkripsi dari gen target, tergantung variannya. TGF- β mempunyai efek regulator negatif bagi pertumbuhan berbagai jenis sel, seperti sel epitel, endotel, sel saraf dan sel-sel sistem imun. Diduga resistensi terhadap efek TGF- β , merupakan faktor yang penting dalam progresifitas tumor.⁵⁶

Cox-2 menyebabkan perubahan aksi TGF- β dari anti proliferasi menjadi pro proliferasi sel. Overekspresi Cox-2 juga menyebabkan penurunan ekspresi TGF- β . Fungsi TGF- β adalah sebagai transduktor sinyal pada mekanisme penghentian pertumbuhan sel (cell growth inhibitors). Sel yang mestinya dihambat pertumbuhannya akan makin progresif.²¹

Prostaglandin meningkatkan kemampuan invasi dan potensi metastasis.

Pada keganasan juga ditandai dengan perilaku metastatik. Mekanisme metastasis dimulai dari longgarnya ikatan adesi antar sel. Ikatan adesi antar sel antara lain diperankan oleh molekul protein E-cadherin. Cox-2 meningkatkan ekspresi protein metalloproteinase yang dapat menyebabkan kerusakan matrik interseleuler. Kerusakan matrik menyebabkan ikatan antar sel menjadi longgar, sehingga memungkinkan sel tumor mudah merobos untuk berpindah dan berkembang di tempat lain.^{10,22}

Pada neoplasia, molekul adesi interseleuler seperti cadherin dan integrin mengalami downregulation. Degradasi matrik interseleuler di satu sisi menyebabkan sel tumor menjadi soliter dan lepas kendali terhadap sinyal transduksi faktor-faktor regulasi, dan di sisi lain longgarnya ruang interseleuler memudahkan proses angiogenesis.^{23,24}



Gambar 1 : Mekanisme apoptosis Cox-dependent dan Cox-independent (Modifikasi dari Pasi et al.)¹⁵

Mekanisme lain yang berperan dalam apoptosis adalah cascade ceramide. Asam arakidonat merangsang konversi spingomyelin menjadi ceramide yang berperan sebagai salah satu mediator apoptosis.⁹

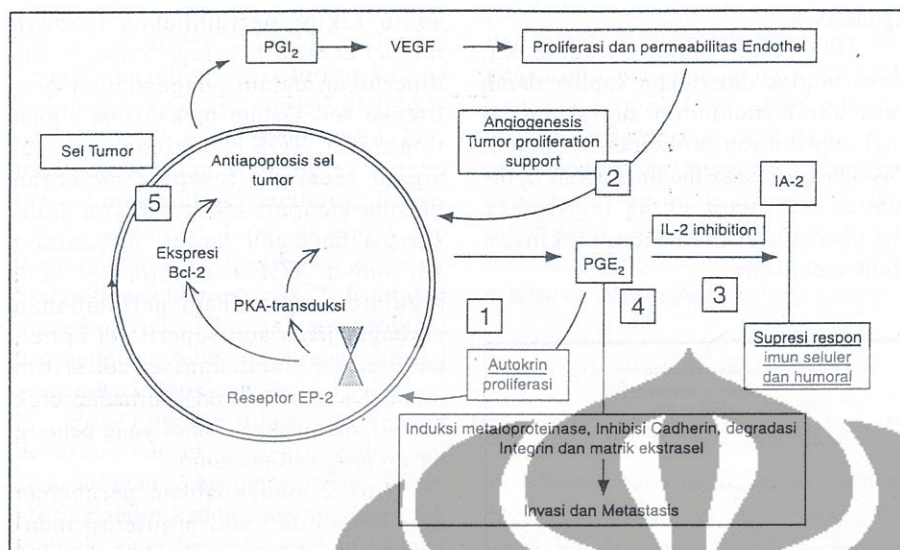
Prostaglandin memacu angiogenesis.

Angiogenesis adalah pembentukan pembuluh darah baru pada jaringan. Angiogenesis merupakan proses fisiologis yang sangat penting pada embriogenesis, penyembuhan luka dan estrus pada wanita. Pada kondisi patologis, angiogenesis terjadi pada keadaan inflamasi kronik, fibroproliferasi dan tumor.

Pada kondisi keganasan neovaskularisasi diawali dari angiogenesis. Terdapat beberapa faktor yang berperan sebagai regulator utama untuk angiogenesis. Prostaglandin terutama PGE2 sangat berperan pada proses angiogenesis. PG menginduksi regulator angiogenesis seperti VEGF, VPF, bFGF, TGF- β , PDGF dan endotelin. Regulator pertumbuhan ini selanjutnya menginisiasi transduksi untuk berproliferasi bagi sel endothel di sekitar jaringan tumor.^{18,19,20}

Prostaglandin menekan TGF- β

Transforming growth factor adalah



Gambar 2. Efek prostaglandin pada perkembangan sel tumor, 1) secara autokrin memacu proliferasi diri-sendiri, 2) memacu angiogenesis, 3) menghambat efek sistim imun, 4) menghancurkan matrik intersele sehingga meningkatkan potensi invasi dan metastase, dan 5) menghambat apoptosis sel tumor.

Kerusakan matrik inter seluler terjadi bersamaan dengan mekanisme angiogenesis. Longgarnya ikatan antar sel akibat kerusakan matrik interseluler dan terjadinya pembuluh darah baru, akan semakin meningkatkan potensi sel tumor bermetastasis secara perkontinuatum, limfogen dan hematogen, sehingga sel tumor dapat berkembang di tempat yang jauh dari asalnya.¹⁷

NSAID Sebagai Analgetik-antiinflamasi

NSAID lazim digunakan di bidang kedokteran dengan indikasi untuk mengurangi rasa sakit dan meringankan gejala peradangan. Di bidang kedokteran gigi NSAID biasanya diindikasikan untuk jangka pendek. Penggunaan jangka panjang hanya digunakan untuk kasus tertentu.

NSAID secara farmakologis menghambat kerja enzim cyclooxygenase sehingga tidak prostaglandin tidak

dihasilkan. Menurut selektivitas kerjanya NSAID dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu : 1) Inhibitor selektif terhadap Cox-1 : aspirin, s-indobufen dan valeryl salicylate. 2) Inhibitor non selektif terhadap Cox : Ibuprofen, Naproxen, Ketoprofen, Flurbiprofen, Sodium salisilat, nabumetone, indomethacin dan piroxicam. 3) Inhibitor selektif terhadap Cox-2 : Meloxicam, nimesulide dan diklo-fenak, prototipe celecoxib SC-58125, NS-398, L-745, L-337, dan Rofecoxib.²⁵

Pengolongan selektivitas NSAID terhadap Cox merupakan hasil banding kemampuan penghambatan Cox-1 dan Cox-2. Golongan selektif terhadap Cox-1 berarti kemampuan menghambat Cox-1 lebih besar daripada terhadap Cox-2. Golongan non selektif mempunyai kemampuan hambatan yang relatif sama besar baik terhadap Cox-1 maupun Cox-2. Sedangkan selektif terhadap Cox-2, mempunyai kemampuan lebih besar dalam menghambat Cox-2.²⁵ Namun demikian dalam praktek kedokteran sebagai

analgetik antiinflamasi sudah lazim digunakan dengan memperhatikan indikasi dan kontraindikasinya. NSAID biasanya diberikan pada pasca tindakan bedah, kasus-kasus peradangan dan sebagai paliatif pada kasus neoplasia.³⁷

NSAID Sebagai Antineoplasia

Penelitian secara laboratorik pada binatang coba maupun pada sel kultur manusia memberi bukti bahwa beberapa macam NSAID mempunyai efek mencegah pertumbuhan sel kanker. Walaupun masih ada yang meragukan kemaknaannya, namun beberapa penelitian menunjukkan bukti-bukti bahwa NSAID menghambat pertumbuhan tumor.

Penelitian epidemiologis dengan desain kontrol kasus dan kohort menunjukkan adanya bukti bahwa NSAID dapat mencegah perkembangan tumor.²⁶ NSAID terlihat mencegah polip adenomatosa berkembang menjadi cakolorektal.²⁷ Risiko terjadinya kanker kolorektal dan adenoma menurun hingga 50 %, pada pengguna aspirin.²¹ Penelitian lain menunjukkan bahwa NSAID dapat mencegah perkembangan tumor prostat.²⁸

Studi eksperimenl biomedik juga menunjukkan bukti-bukti bahwa NSAID dapat berperan menghambat pertumbuhan tumor. Walaupun mekanisme spesifik belum diketahui secara jelas namun beberapa jalur penghambatan mulai diyakini. Studi eksperimen pada binatang menunjukkan beberapa jenis NSAID menunjukkan kemampuan penghambatan perkembangan tumor. Aspirin menghambat perkembangan lesi preneoplasia pada kolon tikus.²⁹ Aspirin juga terlihat menghambat perkembangan tumor pada hepar tikus,³⁰ Sulindac, piroxicam dan indomethacin juga telah digunakan dalam penelitian untuk dilihat kemampuannya dalam menghambat per-

kembangan tumor pada tikus. Hasil penelitian menunjukkan, NSAID terlihat mempunyai kemampuan menghambat perkembangan tumor.^{31,32,33,54}

Percobaan pada manusia juga menunjukkan hasil yang signifikan. Sulindac dan Indomethacin digunakan supositoria menyebabkan reduksi poliposis adenomatosa.³⁴ Walaupun penghambatan secara detail belum sepenuhnya diketahui, namun dari berbagai penelitian biomedik mulai dapat dijelaskan mekanismenya.

NSAID Menekan Proliferasi Sel Tumor

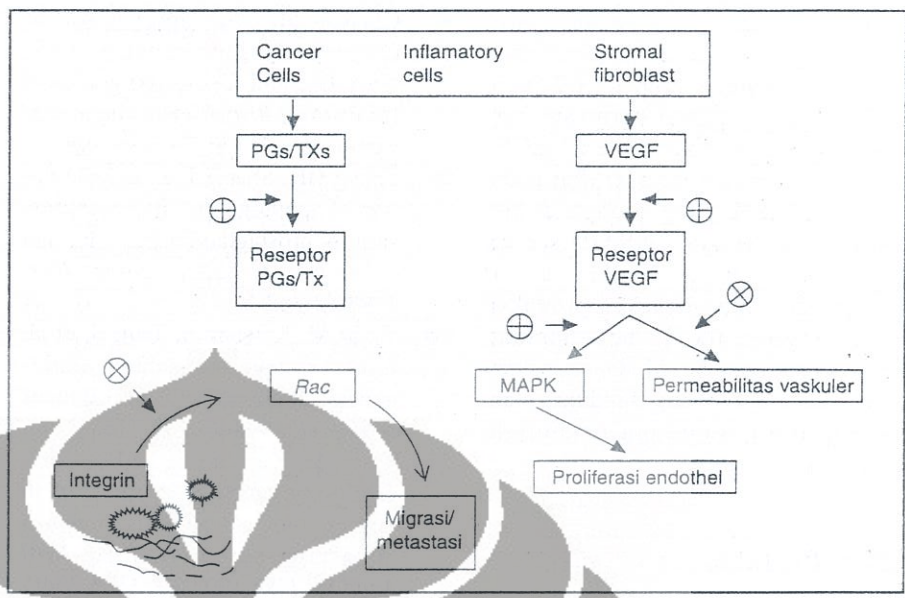
Beberapa percobaan menunjukkan NSAID mampu menekan proliferasi sel tumor.⁵⁵ Pada sel tumor paru A549 dan PC14, meloxicam mereduksi viabilitas sel tumor.³⁵

Eloxicam juga terlihat menghambat pertumbuhan sel tumor kolorektal.³⁶ Sedangkan indomethacin menurunkan tingkat proliferasi sel kultur tumor bladder.³⁷ Cyclooxygenase inhibitor yang lain seperti indomethacin, aspirin dan ibuprofen juga menekan proliferasi sel kultur tumor kepala-leher.³⁸

NSAID Meningkatkan Apoptosis

Overekspresi enzim Cox-2 menyebabkan produksi prostaglandin meningkat. Dilaporkan bahwa peningkatan prostaglandin akan meningkatkan ekspresi bcl-2 pada sel tumor sehingga menjadi resisten dari mekanisme apoptosis.^{9,39,43} Salah satu faktor pengatur mekanisme apoptosis sel pada fase G0 adalah protein p20. Protein ini berfungsi sebagai faktor anti apoptosis sel. Pada kondisi neoplasia terjadi peningkatan ekspresi p20, sehingga sel tumor tidak mengalami apoptosis. NSAID dilaporkan mampu menekan protein p20, sehingga meningkatkan apoptosis dari sel tumor.²²

Banyak peneliti melaporkan mengenai kemampuan NSAID menginduksi apoptosis baik pada sel normal maupun sel tumor.⁴⁰ Aspirin terbukti



Gambar 3 : Mekanisme penghambatan NSAID terhadap angiogenesis, proliferasi endothel dan metastasis sel tumor.⁴⁸

meningkatkan apoptosis sel tumor dengan cara menekan ekspresi Bcl-2.^{41,52} Sulindac menekan ekspresi Bcl-2 pada sel tumor intestinal. Sulindac bersifat inhibitor selektif terhadap COX-2 diketahui menekan prostaglandin dan mempertahankan mekanisme apoptosis pada tingkat yang normal.⁴² Nimesulide dilaporkan menginduksi peningkatan apoptosis pada sel tumor HeLa.⁴⁴

Peningkatan apoptosis oleh NSAID juga dapat berlangsung melalui mekanisme Cox-independent. Sulindac menekan pertumbuhan sel kultur tumor kolorektal dengan meningkatkan apoptosis sel tumornya.⁴⁵ Apoptosis berlangsung melalui mekanisme penghambatan aktivitas dari NF-kB.⁴⁶ atau menghambat reseptor PPARd nukleus sel. Aspirin dan Sulindac diketahui mempunyai efek kerja kedua mediator ini, sehingga meningkatkan apoptosis.⁴⁷

NSAID Menekan Angiogenesis Dan Metastasis

Pada beberapa penelitian, dilapor-

kan bahwa penghambatan NSAID terjadi melalui mekanisme penghambatan jalur angiogenesis dan metastasis. Untuk dapat berkembang tumor memerlukan nutrisi sehingga diperlukan peningkatan pembuluh darah. NSAID menghambat mekanisme pembentukan pembuluh darah baru dengan menekan ekspresi VEGF dari fibroblas jaringan stromal sekitar tumor. VEGF diperlukan dalam proses angiogenesis.⁴⁸

Indomethacin dilaporkan menekan integrin $\alpha V\beta 3$ yang berperan sebagai mediator untuk migrasi dan penyebaran sel endotel dalam proses angiogenesis.⁴⁹

Penggunaan diclofenac secara topikal pada tikus menekan pertumbuhan tumor kolon dengan cara menekan angiogenesis pada jaringan tumor, sehingga meningkatkan apoptosis dan nekrosis sel tumor.^{50,51} Indomethacin dilaporkan mampu menghambat angiogenesis. Celecoxib juga terlihat menekan pembentukan jaringan pembuluh darah pada sel SC-560.⁵² Ketoprofen, indomethacin, ibuprofen dan sulindac, mampu menghambat angiogenesis masing-masing hingga 30, 54, 6 dan 50 %.⁵⁰

Overekspresi Cox-2 pada tumor kolon menginduksi ekspresi VEGF dan faktor angiogenesis lain. Cox-2 juga terlibat dalam regulasi permeabilitas vaskuler yang diinduksi oleh VEGF. Faktor ini ternyata juga terlibat pada aktivasi MAPK yang menginduksi proliferasi sel endotel. NSAID secara umum menghambat cascade faktor angiogenesis yaitu menekan produksi faktor angiogenik,⁵³ menghambat respon sel terhadap VEGF dan menekan migrasi sel endotel yang diinduksi oleh integrin α v β 3, sehingga pembuluh darah tidak terbentuk.⁴⁸

Daftar Pustaka

1. Robbins SL, Kumar V. Buku ajar : *Patologi I*. 1995. EGC. Jakarta.
2. Marks DB, Marks AD, Smith CM. *Biokimia Kedokteran Dasar : Sebuah pendekatan klinis*. 2000. EGC, Jakarta.
3. Vane JR. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nat New Biol*. 1971;231:232-235.
4. Portanova JP, Zhang Y, Anderson GD, et al. Selective neutralization of prostaglandin E2 blocks inflammation, hyperalgesia and interleukin 6 production in vivo. *J Exp Med*. 1996;184:883-891.
5. Bigler J, Whitton J, et al. Advances in brief CYP2c9 and UGT1A6 genotype modulates the protective effect of aspirin on colon adenoma risk. *Cancer Res*, 2001, 61:3566-69
6. Kargman SL., O niell GP., et al. Expression of PG G/H synthase 1 and 2 protein in human colon cancer. *Cancer Res*, 1995, 55:2556-59.
7. Eberhart CE, Coffey RJ, et al. Up-regulation of cyclooxygenase-2 gene expression in human colorectal adenomas and adenocarcinomas. *Gastroenterology*, 1994, 107:1183-1188.
8. Classen M, Chemoprevention of Colorectal Cancer with ASS, NSAIDs, and Cyclo oxygenase-2 Inhibitors, http://www.omge.org/wgn/archive/2000_2/chemo.htm
9. Sheng HH, Shao J J, et al. Modulation of apoptosis and BCL-s expression by prostaglandin E2 in human colon cancer cells, *Cancer Res*. 1998;58:362-6.
10. Tsujii M, Kawano S, Tsuji S, et al. Cyclooxygenase regulates angiogenesis induced by colon cancer cells. *Cell* 1998;93:705-716.
11. Tsujii M, Kawano S, DuBois RN. Cyclooxygenase-2 expression in human colon cancer cells increases metastatic potential. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94:3336-3340.
12. Markenson, J. Clinical Implications of Cyclooxygenase Enzymes : COX-1/COX-2 Role of the New NSAIDs, <http://www.moffitt.usf.edu/pubs/ccj/v6ns/article5.htm>
13. Chen Y and Hughes-Fulford M, Prostaglandin E2 and Protein Kinase A, mediate arachidonat acid induction of c-fos prostate cancer cells. *Brit J Canc*, 2000 (12), 2000-2006.
14. Pasi A J nne, Robert J Mayer . Chemoprevention of Colorectal Cancer. *New Engl J Med*, 2000; 342: 1960-8
15. Fosslien E. Molecular pathology of cyclooxygenase-2 in neoplasia. *Ann Clin Lab Sci*, 2000; 30: 3-21.
16. Giavazzi R, Giulia T. Angiogenesis and angiogenesis inhibitors in cancer. *Forum (Genova)*, 1999; 9: 261-272.
17. Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman. Tumor angiogenesis and metastasis-correlation in invasive breast carcinoma. *N Engl J Med*, 1991; 324: 1-8.
18. Ben-Av P, Crofford LJ, Wilder RL, Hla T. Induction of vascular endothelial growth factor expression in synovial fibroblasts by prostaglandin E and interleukin-1: a potential mechanism for inflammatory angiogenesis. *FEBS Lett*, 1995; 372: 83-7.
19. Brown LF, Detmar M, Claffey K, Nagy JA, Feng D, Dvorak AM, Dvorak HF. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor : a multifunctional angiogenic cytokine. *EXS*, 1997; 79: 233-69.
20. Chiarugi V, Magnelli L, Gallo O. Cox-2, iNOS and p53 as play-makers of tumor angiogenesis (review). *Int J Mol Med*, 1998; 2: 715-9.
21. Giovannucci E. The prevention of colorectal cancer by aspirin use. : *Biomed Pharm* 1999; 53(7):303-8
22. Liu XH, Yao S, Kirschenbaum A, et al. NS398, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, induces apoptosis and down-regulates bcl-2 expression in LNCaP cells. *Canc Res* 1998;58:4245-4249.
23. Vermeulen SJ, Bruynell J., et al. Cell-cell interactions., *Canc Res*, 1995, 55:4722-28
24. Guilford P. E-Cadherin germline mutations in familial gastric cancer. *Nature*, 1999, 5:172-7.
25. Patrignani P. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs, Cox-2 and colorectal cancer. *Toxicol Let*. 2000, 112-113:1-6
26. Madaan S, Lalani E, Abel PD, Cyclooxygenase-2 in Prostate Cancer <http://www.ctclconsult.com/Cancer%20Research%20Alert/112000/cra11012000a.htm>
27. Langman M, Boyle P. Chemoprevention of colorectal cancer. *Gut* 1998; 43: 578-85.
28. Norrish AE, Jackson RT, McRae CU. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and prostate cancer progression. *Int J Cancer* 1998; 77:511-515.
29. Reddy BS, Rao CV, et al. Inhibitory effect of aspirin on azoxymethane-induced colon carcinogene-

- sis in F344 rats., *Carcinogen*, 1993, 14:1493-7
30. Denda A, Tang Q, et al. Prevention by acetylsalicylic acid of liver cirrhosis and carcinogenesis as well as generation of 8-hydroxydeoxyguanosine and thiobarbituric amino acid-defined diet in rats. *Carcinogen*, 1994, 15: 12379-83
 31. Alberts DS, Hixson L, et al. Do NSAID exert their colon cancer chemoprevention activities through the inhibition of mucosal prostaglandin synthetase. *J Cell Biochem*. 1995, 22:18-23.
 32. Rao CV, Tokumo K, et al. Chemoprevention of colon carcinogenesis by dietary administration of piroxicam ? difluoromethylornithine, 16- α -fluoro-5- androsten-17-one and ellagic acid individually and in combination. *Canc Res*. 1991, 51: 4528-34
 33. Caingard A, Martin M, et al. Effect of cimetidine and indomethacin on growth of dimethylhydrazine-induced or transplanted intestinal cancers in the rat. *Br. J. Canc*. 1984,50: 661-5.
 34. Giardiello FM, Spannhake EW, et al. Prostaglandin levels in human colorectal mucosa : effect of sulindac in patients with familial adenomatous polyposis. *Dig Dis Sci*, 1998, 43 : 311-6
 35. Tsubouchi Y, Mukai S, et al., Meloxicam inhibits the growth of non-small cell lung cancer. *Anti-cancer Research*, 2000, 20:2867-72
 36. Blandizzi C, Lazzeri G, et al., Meloxicam inhibits proliferations and induces apoptosis in human colon cancer cells, *Pharma Res.*, 1999,39:1- 8
 37. Shimamura T, Takahashi S. Reduced proliferation of cultured Bladder cancer cells by indomethacin. *New Jersey Med*. 1994, 91: 532-4
 38. Benefield J, Petruzzelli GJ, Fowler S, Taitz A, Kalkanis J, Young MR. Regulation of the steps of angiogenesis by human head and neck squamous cell carcinomas. *Invas Metas*, 1996; 16: 291-301.
 39. Hsueh CT., Chiu CF, et al. Selective inhibition of cyclooxygenase-2 enhances mitomycin-C-induced apoptosis. *Canc Chem, Pharmacol*. 2000, 45:389-396
 40. Kusahara H, Matsuyuki H, et al. Induction of apoptotic DNA fragmentation by NSAID in cultured rat gastric mucosal cells. *Eur J. Pharmacol*. 1998, 101:635-9.
 41. Giovannucci E, Egan KM, Hunter DJ. Aspirin and the risk of colorectal cancer in women. *New Engl J Med* 1995; 333: 609-14
 42. Dubois RN, Shao J, et al. GI delay in cells overexpressing prostaglandin endoperoxidase synthase-2. *Canc Res*. 1996; 56:722-37
 43. Tsujii M, DuBois RN. Alterations in cellular adhesion and apoptosis in epithelial cells overexpressing prostaglandin endoperoxide synthase 2. *Cell* 1995; 83:493-501
 44. Boolbol SK, Dannerberg AJ, et al. Cyclooxygenase overexpression and tumour formation are blocked by sulindac in a murine model of familial adenomatous polyposis. *Canc Res*, 1996;56: 2556-60
 45. Piazza GA, Alberts DS, Hixson LJ, et al. Sulindac sulfone inhibits azoxymethane-induced colon carcinogenesis in rats without reducing prostaglandin levels. *Canc Res* 1997; 57: 2909-15.
 46. Yamamoto Y, Yin MJ, Lin KM, Gaynor RB. Sulindac inhibits activation of the NF-kappa-B pathway. *J Biol Chem* 1999; 274: 27307-14.
 47. He TC, Chan TA, Vogelstein B, Kinzler KW. PPARdelta is an APC-regulated target of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Cell* 1999; 99: 335-45.
 48. Ruegg C, Dormond O. Suppression of tumor angiogenesis by non-steroidal anti-inflammatory drugs : a new function of old drugs. *The Scien Worlds*. 2001, 1:808-11
 49. Brooks PC, Clark RA, Cheresch Da. Requirement of vascular integrin alpha v beta 3 for angiogenesis. *Science*, 1994, 264:569-71.
 50. Leahy KM, Koki AT, Mosferrer JL, Role Cyclooxygenase in angiogenesis, <http://www.bentham.org/cmc-sample/masferrer/masferrer.htm>
 51. Seed MP, Brown JR, et al. The inhibition of colon-26 adenocarcinoma development and angiogenesis by topical diclofenac in 2.5% hyaluron. *Canc Res*. 1997, 57 : 1625-1629.
 52. Watson AJ. Chemopreventive effects of NSAIDs against colorectal cancer: regulation of apoptosis and mitosis by COX-1 and COX-2. *Histol Histopathol* 1998 ;13(2):591-8
 53. Masferrer JL, Leahy KM, et al. Antiangiogenic and antitumour activities of cyclooxygenase inhibitors. *Canc Res*, 2000, 60: 1306-1311.
 54. Gann PH, Manson JE, Glynn RJ, et al. Low-dose aspirin and incidence of colorectal tumors in a randomized trial. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 1220-4.
 55. Castano E, Bartrons R, and GIL J, Inhibition of Cyclooxygenase-2 Decreases DNA Synthesis Induced by Platelet-Derived Growth Factor in Swiss 3T3 Fibroblasts 1, *The J. Pharmacol & Exp. Ther.*, 2000, 293(2): 509-513
 56. Whitman M. Smads and early developmental signaling by the TGF-b superfamily. *Genes Dev*. 1998, 12:2445-62
 57. Bennet A, Berti F, Ferreira SH. Nimesulide : a multifactorial therapeutic approach to the inflammatory process. *Drugs*. 1993 : 46 (suppl 1).