

Acetylsalicylová kyselina a její potenciál v chemoprevenci kolorektálního karcinomu

Acetylsalicylic Acid and its Potential for Chemoprevention of Colorectal Carcinoma

Podhorec J.^{1,2}, Hrstka R.¹, Bílek O.², Tuček Š.², Navrátil J.², Michalová E.¹, Vojtěšek B.¹

¹ Regionální centrum aplikované molekulární onkologie, Masarykův onkologický ústav, Brno

² Klinika komplexní onkologické péče, Masarykův onkologický ústav, Brno

Souhrn

Východiska: Nesteroidní protizánětlivé léky (non-steroidal anti-inflammatory drugs – NSAID) představují skupinu léků inhibujících enzym cyklooxygenázu (COX) a vykazujících účinek analgetický, anti-pyretický a antiinflamatorní. Díky své efektivitě, dobré toleranci a snadné dostupnosti patří k celosvětově nejvíce užívaným lékům. Již několik desítek let přibývají důkazy o jejich protinádorovém účinku, přičemž největší množství publikovaných prací se týká kolorektálního karcinomu (colorectal cancer – CRC). Na základě výsledků pokusů *in vitro* a *in vivo* a dat získaných z epidemiologických a klinických studií se v současné době diskutuje o možnosti nasazení NSAID zejména v rámci tzv. chemoprevence CRC, jejímž cílem je zabránit vzniku nebo rekurenci prekanceróz a nádorů. Nadějným lékem v této indikaci je acetylsalicylová kyselina (acetylsalicylic acid – ASA), která je nejstarším, více než 100 let používaným členem rodiny NSAID. Předpokládá se, že neselektivní ireverzibilní inhibice COX je důležitým, nikoli však jediným mechanismem jejího protinádorového účinku. Širšímu využití v chemoprevenci CRC brání nedostatečně definovaná cílová skupina pacientů a zejména pak obavy z gastrointestinální a renální toxicity vyvolané zvláště při jejím dlouhodobém užívání. **Cíl:** Předkládaná přehledová práce seznamuje s úlohou COX v nádorové biologii CRC a poukazuje na výsledky nejzajímavějších experimentů objasňujících protinádorový efekt ASA. V neposlední řadě rozebírá nejdůležitější publikované klinické analýzy chemopreventivního účinku ASA u CRC a hodnotí aktuální situaci.

Klíčová slova

antiflogistika nesteroidní – kyselina acetylsalicylová – kolorektální karcinom – cyklooxygenáza – chemoprevence

Summary

Background: Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAID) represent a group of medications inhibiting cyclooxygenase (COX) enzyme, and, in parallel, these drugs show also analgesic, anti-pyretic and anti-inflammatory effects. Due to their efficiency, good tolerance and easy availability, they belong to the world's most used drugs. For decades, evidence of their anti-tumor activity has been growing, with the largest amount of published work being related to colorectal cancer (CRC). Based on both *in vitro* and *in vivo* experiments and data obtained from epidemiological and clinical studies, potential application of NSAID as chemo-preventive treatment for CRC patients is recently discussed in order to prevent development or recurrence of precanceroses and tumors. Promising treatment for such indication would be acetylsalicylic acid (ASA), which is the oldest, more than 100 years used member of the NSAID family. Nonselective irreversible COX inhibition is an important but probably not solely mechanism of its anticancer activity. Notably, wider use of ASA in chemoprevention is also prevented due to particular concerns about gastrointestinal and renal toxicity caused especially by its long-term use. **Aims:** This review introduces the role of COX in tumor biology of CRC and highlights the results of the most interesting experiments illustrating the anti-tumor effect of ASA. Moreover, our work evaluates the most important published clinical analyzes of the ASA chemopreventive effect on CRC and discusses the current state.

Key words

non-steroidal anti-inflammatory agents – acetylsalicylic acid – colorectal carcinoma – cyclooxygenase – chemoprevention

Práce byla podpořena projektem MŠMT – NPU I – LO1413, MZ ČR – RVO (MOÚ, 00209805) a GAČR 16-14829S.

This work was supported by the projects MEYS – NPS I – LO1413, MH CZ – DRO (MMCI, 00209805) and by Czech Science Foundation project no. 16-14829S.

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zaslané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



MUDr. Ján Podhorec

Regionální centrum aplikované molekulární onkologie
Klinika komplexní onkologické péče
Masarykův onkologický ústav
Žlutý kopec 7
656 53 Brno
e-mail: jan.podhorec@mou.cz

Přijato/Accepted: 10. 9. 2017

doi: 10.14735/amko20182577

Úvod

Kolorektální karcinom (colorectal cancer – CRC) patří celosvětově mezi nejčastější nádorová onemocnění, v roce 2012 s počtem 1,4 milionu nově diagnostikovaných případů obsadil třetí příčku. Incidence vykazuje narůstající trend a existují odhady, že do roku 2030 dosáhne hodnoty kolem 2,2 milionu [1]. Dle odhadů lze v roce 2018 předpokládat v Evropě kolem 500 000 případů CRC a přibližně 243 000 úmrtí [2]. Vznik CRC je dlouhodobý proces zahrnující progresi prvotních lézí do stadia adenomu a následně CRC [3]. Jedná se o složitý mnohastupňový proces, ve kterém hraje klíčovou roli více environmentálních a genetických faktorů, např. mutace v klíčových genech *APC* a *TP53*. Ukazuje se, že existuje propojení mezi kancerogenezi CRC a střevním zánětem, obzvláště chronickým [4]. Jedním ze společných jmenovatelů těchto procesů je enzym cyklooxygenáza (COX), která se účastní metabolismu kyseliny arachidonové, jehož výslednými produkty jsou prostaglandiny (PG), zejména pak PGE2, a tromboxan A2. V posledních třech desetiletích se postupně rozvíjí snaha o ovlivnění s nádorem asociovaného zánětu prostřednictvím léků ze skupiny nesteroidních antiflogistik (non-steroidal anti-inflammatory drugs – NSAID) v rámci koncepce tzv. chemoprevence. Byly publikovány výsledky mnoha epidemiologických a experimentálních studií, které potvrzují efekt NSAID v prevenci vzniku adenomů i CRC. Z několika zvažovaných léků se jeví jako nejvíce perspektivní použití acetylsalicylové kyseliny (acetylsalicylic acid – ASA, v anglosaské literatuře uváděna častěji jako aspirin). Jedná se o nejstaršího zástupce NSAID, který neselektivně inhibuje COX, což je pravděpodobně základní, i když ne jediný mechanismus jeho protinádorového účinku.

Cyklooxygenáza a prostaglandiny v kancerogenezi CRC

V literatuře se obvykle diskutují dvě izoformy COX odlišující se kromě jiného stupněm exprese v různých tkáních. Zatímco COX-1 je konstitutivně exprimována jako tzv. housekeeping enzym v naprosté většině tkání, indukibilní izo-

forma COX-2 se nachází v tkáních postižených zánětem, v prekancerózních lézích [5] a v tkáních maligních [6]. Někdy se jako další izoforma uvádí také COX-3, která je variantou genetického sestřihu COX-1. Funkcí COX je katalyzovat konverzi arachidonové kyseliny na tromboxan A2 a prostaglandin H2 (PGH2), který je prekurzorem pro syntézu dalších prostanoidů. Je doloženo, že COX-2 preferenčně syntetizuje prostacyklin a prostaglandin E2 (PGE2) [7]. Z hlediska zánětu a kancerogeneze je ze všech prostaglandinů pravděpodobně nejdůležitějším právě PGE2, jehož zvýšená hladina je detekovatelná u zvířecích modelů CRC a v klinických vzorcích získaných z adenomatózních polypů a nádorů [8]. Navázáním PGE2 na povrchový buněčný receptor EP1-EP4 dojde zejména ke spuštění signalizace cestou G-proteinu, přičemž diverzita exprese jednotlivých receptorů je jedním z důvodů rozmanitosti biologických účinků PGE2, a to nejenom v kancerogenezi [9]. Signální cesta COX-2/PGE2 se u CRC podílí především na indukci antiapoptotického proteinu Bcl-2 (B-cell leukemia/lymphoma-2) [10]. Jejím působením dále dochází k transaktivaci receptoru epidermálního růstového faktoru (epidermal growth factor receptor – EGFR) a spuštění mitogenního signálu cestou ERK2 (mitogen-activated protein kinase 1 – MAPK1) [11]. Aktivací dráhy PI3K-PKB (phosphoinositide-3-kinase/protein kinase B) dochází k rozpojení komplexu axin-GSK3-beta (glycogen synthase kinase 3- beta) a aktivací beta-kateninu, což vede ke stimulaci růstu nádorových buněk [12]. COX-2/PGE2 dále aktivuje dráhu PI3K/PKB, čímž zvyšuje invazivní potenciál buněk CRC [13]. Svou roli hraje i v oblasti nádorové angiogeneze, neboť prostřednictvím transkripčního faktoru indukovaného hypoxií (hypoxia-inducible factor 1 – HIF-1) indukuje expresi vaskulárního endoteliálního růstového faktoru (vascular endothelial growth factor – VEGF) [14]. V neposlední řadě se COX podílí i na úniku nádorových buněk před imunitním dohledem – popsaná je suprese dendritických buněk, NK (natural killer) buněk nebo T lymfocytů [15]. Z klinicko-patologického hlediska je zajímavá souvislost zvýšené exprese COX-2 s parametry, jako je velikost

tumoru, nízká a střední diferenciace nádorových buněk, dále souvislost s vyšším počtem uzlinových metastáz, neovaskularizací tumoru, ale také s horším přežíváním [16]. Zvýšená exprese COX-2 byla asociována se zvýšenou pravděpodobností rekurence tumoru a obzvláště se vznikem hematogenně se šířících metastáz [17].

Nesteroidní antiflogistika (NSAID)

NSAID jsou skupinou léků, resp. látek, které našly široké využití zejména pro svůj analgetický, antipyretický a antiflogistický efekt. Základním mechanismem jejich účinku je inhibice COX, která vede ke snížení produkce prostaglandinů [18]. Jednotliví zástupci skupiny NSAID se liší svojí selektivitou ke COX-1, resp. COX-2. Např. acetylsalicylová kyselina (acetylsalicylic acid – ASA) v nižších koncentracích inhibuje selektivně COX-1, ve vyšších pak také COX-2. K neselektivním inhibitorům COX se řadí např. ketoprofen, diklofenak, indometacin a ibuprofen. Existují také tzv. COX-2 preferenční NSAID (nimesulid, meloxicam) a dále pak COX-2 selektivní NSAID (celecoxib, rofekoxib). Inhibice COX je rovněž důvodem jejich renální a gastrointestinální toxicity způsobené dlouhodobým podáváním těchto látek. Ta klesá se zvyšující se mírou selektivity ke COX-2, zároveň se ale při dlouhodobém podávání selektivních inhibitorů COX-2 objevuje toxicita kardiovaskulární [19]. Nežádoucí účinky jsou pro dlouhodobé použití nebo vyšší dávkování limitující a mohou být nezřídka i fatální. Výsledky laboratorních experimentů spolu s epidemiologickými a klinickými studiemi přinášejí poměrně jednoznačné důkazy o antineoplastickém efektu NSAID, který je nejvýraznější a také nejlépe prozkoumaný u CRC. Jedním z prvních klinických průkazů možného efektu NSAID u kolorektálních prekanceróz bylo použití sulindaku u pacientů s Gardnerovým syndromem, které vedlo k radikálnímu snížení počtu polypů [20]. I když je inhibice COX podstatou většiny farmakologických efektů NSAID, již poměrně dlouho je známo, že existují i jiné, na inhibici COX a syntéze prostaglandinů nezávislé mechanismy působení. Například podání celeko-

xibu jako vysoce selektivního inhibitoru COX-2 v závislosti na dávce indukovalo zástavu buněčného cyklu v G0/G1 fázi v buněčných liniích odvozených od CRC, a to dokonce i v případě, že buňky neexprimovaly COX-2 [21]. Celecoxib se navíc ukázal být nejen selektivním inhibitor COX-2, ale navíc i poměrně silným inhibitor PDK1 (pyruvate dehydrogenase kinase 1), která je klíčovou kinázou u mnoha proonkogenních signálních drah [22].

Acetylsalicylová kyselina, molekulární mechanismy jejího protinádorového účinku, klinický význam

ASA se řadí k nescifickým inhibitorům COX, přičemž inhibice je dosažena reverzibilní acylací klíčových serinových zbytků na molekule COX. Konkrétní antineoplastické mechanismy ASA jsou různorodé a nadále zůstávají předmětem intenzivního výzkumu. Lze odůvodněně předpokládat, že minimálně zčásti jsou tyto mechanismy podmíněny snížením koncentrace PGE₂, což úzce souvisí se všemi výše uvedenými důsledky. V buněčných liniích odvozených od CRC způsobuje ASA zejména u buněk s mutací v *PIK3CA* zástavu buněčného cyklu a indukci apoptózy [23]. Dále je popsáno zvýšení hladiny „mismatch repair“ proteinů [24]. Dochází k uvolnění cytochromu c a k aktivaci kaspáz 9, 3 a 8, snižuje se hladina cytoplasmatického IκBα, čímž dochází k indukci signalizace cestou NFκB, což je nejspíše nejdůležitější způsob, kterým ASA způsobuje apoptózu [25]. ASA dále oslabuje aktivitu T buněčného faktoru (T-cell factor – TCF), aniž by narušila komplex beta-katenin/TCF, což vede ke snížení transkripce cílových genů signalizační dráhy, která hraje klíčovou roli v regulaci buněčné proliferace během embryonálního vývoje [26]. ASA je jako nejstarší člen rodiny NSAID v klinické praxi využívaná již více než 100 let, díky čemuž je profil její toxicity i při dlouhodobém užívání dobře znám. Zhruba od 80. let minulého století se uvažuje o jejím využití v rámci chemoprevence nádorových onemocnění. Je slibným kandidátem při prevenci kolorektálních adenomů i adenokarcinomů, a to jak sporadických, tak

i hereditárně podmíněných. Randomizovaná, dvojitě zaslepená studie publikovaná v roce 2003 zkoumající efekt ASA na tvorbu polypů srovnávající placebo vzhledem k ASA v dávkách 81 mg/den a 325 mg/den prokázala mírné snížení rizika ve skupině pacientů užívajících 81 mg ASA denně (RR 0,81; 95% CI 0,69–0,96) [27]. Užívání ASA (v dávce 160/300 mg/den) vedlo ke snížení počtu polypů pouze po roce od zahájení studie (RR 0,73; 95% CI 0,52–1,04), ne však po 4 letech užívání [28]. Metaanalýza čtyř randomizovaných studií (Thrombosis Prevention Trial; British Doctors Aspirin Trial; Swedish Aspirin Low Dose Trial; UK-TIA Aspirin Trial) a studie Dutch TIA Aspirin Trial, publikovaná v roce 2010 a hodnotící efekt ASA na incidenci CRC a úmrtí v jeho důsledku ve vztahu k délce podávání, dávce a umístění tumoru ukázala, že z celkového počtu 14 033 sledovaných pacientů mělo 2,8 % (391) pacientů diagnostikovaný CRC (medián follow-up 18,3 roku). Užívání ASA snížilo 20leté riziko vzniku CRC (HR 0,76; 0,60–0,96, p = 0,02), vč. mortality (HR 0,65; 0,48–0,88, p = 0,005), zlepšení parametrů však nebylo zjištěno u karcinomů rekta. Taktéž nebyl prokázán vyšší benefit v případě podávaných dávek ASA vyšších než 75 mg/den [29]. Nicméně v současnosti existuje doporučení americké organizace U. S. Preventive Services Task Force (USPSTF) (se stupněm „B“) k užívání nízké dávky (tj. < 100 mg denně) ASA jako primární prevence kardiovaskulárních nemocí a CRC u pacientů ve věkovém rozmezí 50–59 let s min. 10% 10letým kardiovaskulárním rizikem spolu s min. očekávanou délkou života 10 let, kteří nejsou rizikovou stranou krvácení. U pacientů ve věku 60–69 let je zdůrazněna nutnost individuálního rozhodování [30]. Mezinárodní multicentrická, randomizovaná a placebem kontrolovaná klinická studie zkoumala účinek ASA (600 mg/den) a/nebo tzv. rezistentního škrobu u mladých pacientů s familiární adenomatózní polypózou [31]. Primárním sledovaným cílem bylo množství polypů v rektu a v kolon sigmoideum. Výsledek této studie nesplnil očekávání, neboť v žádném ze zkoumaných ramen nebylo snížení počtu polypů pozorováno.

Byl pozorován pouze trend ve snížení tzv. polypové nálože, a to ve skupině pacientů užívajících ASA. Povzbudivých výsledků však bylo dosaženo ve studii CAPP2 zkoumající efekt ASA u pacientů s Lynchovým syndromem (hereditární nepolypózní CRC (hereditary nonpolyposis colorectal cancer – HNPCC)) [32]. Z 861 pacientů bylo do skupiny užívajících ASA zařazeno 427, do skupiny užívajících placebo pak 434. Průměrná doba užívání ASA činila 25 měsíců, průměrný follow-up byl 55,7 měsíce a za tuto dobu vzniklo u 48 pacientů 53 primárních nádorů kolorekta – 18 ve skupině s ASA, 30 ve skupině s placebem. Analýza času do vzniku prvního nádoru prokázala HR 0,63 (95% CI 0,35–1,13). Pacienti, kteří dokončili 2 roky intervence, vykazovali HR 0,41 (0,19–0,86, p = 0,02). Během intervence byly nežádoucí účinky ASA srovnatelné s placebem. Význam užívání ASA v nízkých dávkách zpochybnila nedávno publikovaná analýza kohorty 8 391 pacientů s CRC stadia Dukes A–C (data získaná ze Scottish Cancer Registry) [33]. Podávání ASA v nízkých dávkách nebylo asociováno se snížením úmrtnosti z důvodu CRC (adjustované HR 1,17; 95% CI 1,00–1,36), podobně bez efektu bylo i užívání před diagnózou (adjustované HR 0,86; 95% CI 0,88–1,05). V současné době probíhá několik randomizovaných studií, většinou fáze III, jejichž výsledky lze očekávat v nejbližších letech a které by mohly zodpovědět alespoň některé otázky týkající se užití ASA v prevenci a terapii kolorektálních adenomů a CRC (tab. 1) [34].

Závěr

Lze konstatovat, že úloha COX-2 a PGE₂ v kancerogenezi CRC je nezpochybnitelná. Avšak navzdory počátečním tendencím nelze jednoznačně připisovat protinádorový účinek NSAID a konkrétně ASA inhibicí COX a následnému snížení hladiny PGE₂. Mechanismus působení je nejspíše komplexní a přestože přibývá důkazů o protinádorové aktivitě těchto léků nezávislé na COX, nadále zůstává mnoho otázek nezodpovězeno. Lepší pochopení těchto mechanismů by tak mohlo vést i ke stanovení prediktivních faktorů nasazení

Tab. 1. Vybrané klinické studie zkoumající ASA u kolorektálního karcinomu, dostupné z clinicaltrials.gov ke dni 7. 9. 2018 [34].

Oficiální název studie, (clinicaltrials.gov identifikátor)	Fáze, nábor, zkoušená medikace, předpokládané ukončení
A Phase III Double-blind Placebo-controlled Randomised Trial of Aspirin on Recurrence and Survival in Colon Cancer Patients (NCT03464305)	fáze III, nábor probíhá, ASA vs. placebo, 12/2026
Adjuvant Aspirin Treatment in PIK3CA Mutated Colon Cancer Patients. A Randomized, Double-blinded, Placebo-controlled, Phase III Trial (NCT02467582)	fáze III, nábor probíhá, ASA vs. placebo, 6/2029
Assessment of the Effect of a Daily Chemoprevention by Low-dose Aspirin of New or Recurrent Colorectal Adenomas in Patients With Lynch Syndrome (NCT02813824)	fáze III, nábor probíhá, ASA vs. placebo, 12/2025
Enteric-coated Aspirin for Prevention of Postsurgical Recurrence and Metastasis in Asian Colorectal Cancer Patients (the APREMEC Trial): a Large-scale Multicenter Randomized Double-blind Placebo-controlled Trial (NCT02607072)	fáze III, nábor probíhá, ASA vs. placebo, 10/2022
A Randomized Double-blind Placebo-controlled Study With ASA Treatment in Colorectal Cancer Patients With Mutations in the PI3K Signaling Pathway (NCT02647099)	fáze III, nábor probíhá, ASA vs. placebo, 3/2022
Aspirin for Dukes C and High Risk Dukes B Colorectal Cancers – An International, Multi-Center, Double Blind, Randomized Placebo Controlled Phase III Trial (NCT00565708)	fáze III, nábor probíhá, ASA vs. placebo, 6/2026
A Randomized, Phase II, Double-blind, Placebo-controlled, Multicenter, 2 x 2 Factorial Design Biomarker Tertiary Prevention Trial of Low-dose Aspirin and Metformin in Stage I–III Colorectal Cancer Patients. The ASAMET Trial (NCT03047837)	fáze II, nábor probíhá, ASA a/nebo metformin, 3/2020
PD-1 Antibody Combined With COX Inhibitor in MSI-H/dMMR or High TMB Colorectal Cancer: a Single Arm Phase II Study (NCT03638297)	fáze II, nábor probíhá, PD-1 protilátka a ASA/celecoxib, 12/2019
A Randomised Double Blind Dose Non-inferiority Trial of a Daily Dose of 600 mg Versus 300 mg Versus 100 mg of Enteric Coated Aspirin as a Cancer Preventive in Carriers of a Germline Pathological Mismatch Repair Gene Defect, Lynch Syndrome (NCT02497820)	fáze III, nábor zatím neprobíhá, ASA, různé dávkování, 9/2027
French Prospective Randomised Double Blind Study, on Aspirin Versus Placebo in Resected Colon Cancer With PI3K Mutation (NCT02945033)	fáze III, nábor zatím neprobíhá, ASA vs. placebo, 7/2024

ASA – acetylsalicylová kyselina

ASA v chemoprevenci. Především pak riziko gastrointestinální a renální toxicity, zvláště pak při dlouhodobém užívání, které je pro chemoprevenci nezbytné, je jedním z hlavních důvodů, které zatím brání plošnému zavedení ASA v této indikaci. Bude nejspíše nutná selekce vhodných skupin pacientů, u kterých bude benefit převažovat nad rizikem. Ukazuje se např., že chemoprevence ASA má své odůvodnění u pacientů, jejichž nádory vykazují nadměrnou expresi COX-2 [35]. Jedním z prediktorů léčebné odpovědi může být např. mutační stav *PIK3CA*, jak prokázala molekulárně-patologická epidemiologická studie publikovaná v roce 2012, která poukázala na výrazně nižší riziko smrti z důvodu CRC v případě mutovaného *PIK3CA* (HR 0,18; 95% CI 0,06–0,61) [36]. Nezodpovězenou rovněž zůstává otázka opti-

mální dávky, délky užívání a také vhodné doby zahájení chemoprevence.

Literatura

- Arnold M, Sierra MS, Laversanne M et al. Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality. *Gut* 2017; 66(4): 683–691. doi: 10.1136/gutjnl-2015-310912.
- Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J et al. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *Eur J Cancer* 2013; 49(6): 1374–1403. doi: 10.1016/j.ejca.2012.12.027.
- Sancho E, Batlle E, Clevers H. Signaling pathways in intestinal development and cancer. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2004; 20: 695–723. doi: 10.1146/annurev.cellbio.20.010403.092805.
- Long AG, Lundsmith ET, Hamilton KE. Inflammation and colorectal cancer. *Curr Colorectal Cancer Rep* 2017; 13(4): 341–351. doi: 10.1007/s11888-017-0373-6.
- Eberhart CE, Coffey RJ, Radhika A et al. Up-regulation of cyclooxygenase 2 gene expression in human colorectal adenomas and adenocarcinomas. *Gastroenterology* 1994; 107(4): 1183–1188.
- Soslow RA, Dannenberg AJ, Rush D et al. COX-2 is expressed in human pulmonary, colonic, and mammary tumors. *Cancer* 2000; 89(12): 2637–2645.

- Brock TG, McNish RW, Peters-Golden M. Arachidonic acid is preferentially metabolized by cyclooxygenase-2 to prostacyclin and prostaglandin E2. *J Biol Chem* 1999; 274(17): 11660–11666.
- Pugh S, Thomas GA. Patients with adenomatous polyps and carcinomas have increased colonic mucosal prostaglandin E2. *Gut* 1994; 35(5): 675–678.
- Sugimoto Y, Narumiya S. Prostaglandin E receptors. *J Biol Chem* 2007; 282(16): 11613–11617. doi: 10.1074/jbc.R600038200.
- Sheng HM, Shao JY, Morrow JD et al. Modulation of apoptosis and Bcl-2 expression by prostaglandin E-2 in human colon cancer cells. *Cancer Res* 1998; 58(2): 362–366.
- Pai R, Soreghan B, Szabo IL et al. Prostaglandin E-2 transactivates EGF receptor: a novel mechanism for promoting colon cancer growth and gastrointestinal hypertrophy. *Nat Med* 2002; 8(3): 289–293. doi: 10.1038/nm0302-289.
- Castellone MD, Teramoto H, Williams BO et al. Prostaglandin E-2 promotes colon cancer cell growth through a G(s)-axin-beta-catenin signaling axis. *Science* 2005; 310(5753): 1504–1510. doi: 10.1126/science.1116221.
- Sheng H, Shao J, Washington MK et al. Prostaglandin E2 increases growth and motility of colorectal carcinoma cells. *J Biol Chem* 2001; 276(21): 18075–18081. doi: 10.1074/jbc.M009689200.

14. Fukuda R, Kelly B, Semenza GL. Vascular endothelial growth factor gene expression in colon cancer cells exposed to prostaglandin E-2 is mediated by hypoxia-inducible factor 1. *Cancer Res* 2003; 63(9): 2330–2334.
15. Liu B, Qu L, Yan S. Cyclooxygenase-2 promotes tumor growth and suppresses tumor immunity. *Cancer Cell Int* 2015; 15: 106. doi: 10.1186/s12935-015-0260-7.
16. Masunaga R, Kohno H, Dhar DK et al. Cyclooxygenase-2 expression correlates with tumor neovascularization and prognosis in human colorectal carcinoma patients. *Clin Cancer Res* 2000; 6(10): 4064–4068.
17. Tomozawa S, Tsuno NH, Sunami E et al. Cyclooxygenase-2 overexpression correlates with tumour recurrence, especially haematogenous metastasis, of colorectal cancer. *Br J Cancer* 2000; 83(3): 324–328. doi: 10.1054/bjoc.2000.1270.
18. Dubois RN, Abramson SB, Crofford L et al. Cyclooxygenase in biology and disease. *FASEB J* 1998; 12(12): 1063–1073.
19. Antman EM. Evaluating the cardiovascular safety of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Circulation* 2017; 135(21): 2062–2072. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.117.027288.
20. Waddell WR, Loughry RW. Sulindac for polyposis of the colon. *J Surg Oncol* 1983; 24(1): 83–87.
21. Maier TJ, Schilling K, Schmidt R et al. Cyclooxygenase-2 (COX-2)-dependent and -independent anticarcinogenic effects of celecoxib in human colon carcinoma cells. *Biochem Pharmacol* 2004; 67(8): 1469–1478. doi: 10.1016/j.bcp.2003.12.014.
22. Arico S, Pattingre S, Bauvy C et al. xxib induces apoptosis by inhibiting 3-phosphoinositide-dependent protein kinase-1 activity in the human colon cancer HT-29 cell line. *J Biol Chem* 2002; 277(31): 27613–27621. doi: 10.1074/jbc.M201119200.
23. Gu M, Nishihara R, Chen Y et al. Aspirin exerts high anti-cancer activity in PIK3CA-mutant colon cancer cells. *Oncotarget* 2017; 8(50): 87379–87389. doi: 10.18632/oncotarget.20972.
24. Goel A, Chang DK, Ricciardiello L et al. A novel mechanism for aspirin-mediated growth inhibition of human colon cancer cells. *Clin Cancer Res* 2003; 9(1): 383–390.
25. Piqué M, Barragán M, Dalmau M et al. Aspirin induces apoptosis through mitochondrial cytochrome c release. *FEBS Lett* 2000; 480(2–3): 193–196.
26. Dihlmann S, Siermann A, von Knebel Doeberitz M. The nonsteroidal anti-inflammatory drugs aspirin and indomethacin attenuate β -catenin/TCF-4 signaling. *Oncogene* 2001; 20(5): 645–653. doi: 10.1038/sj.onc.1204123.
27. Baron JA, Cole BF, Sandler RS et al. A randomized trial of aspirin to prevent colorectal adenomas. *N Engl J Med* 2003; 348(10): 891–899. doi: 10.1056/NEJMoa021735.
28. Benamouzig R, Uzzan B, Deyra J et al. Prevention by daily soluble aspirin of colorectal adenoma recurrence: 4-year results of the APACC randomised trial. *Gut* 2012; 61(2): 255–261. doi: 10.1136/gutjnl-2011-300113.
29. Rothwell PM, Wilson M, Elwin C-E et al. Long-term effect of aspirin on colorectal cancer incidence and mortality: 20-year follow-up of five randomised trials. *Lancet* 2010; 376(9754): 1741–1750. doi: 10.1016/S0140-6736(10)61543-7.
30. Bibbins-Domingo K. Aspirin use for the primary prevention of cardiovascular disease and colorectal cancer: U.S. preventive services task force recommendation statement. *Ann Intern Med* 2016; 164(12): 836–845. doi: 10.7326/M16-0577.
31. Burn J, Bishop DT, Chapman PD et al. A randomized placebo-controlled prevention trial of aspirin and/or resistant starch in young people with familial adenomatous polyposis. *Cancer Prev Res (Phila)* 2011; 4(5): 655–665. doi: 10.1158/1940-6207.CAPR-11-0106.
32. Burn J, Gerdes A-M, Macrae F et al. Long-term effect of aspirin on cancer risk in carriers of hereditary colorectal cancer: an analysis from the CAPP2 randomised controlled trial. *Lancet* 2011; 378(9809): 2081–2087. doi: 10.1016/S0140-6736(11)61049-0.
33. Gray RT, Coleman HG, Hughes C et al. Low-dose aspirin use and survival in colorectal cancer: results from a population-based cohort study. *BMC Cancer* 2018; 18(1): 228. doi: 10.1186/s12885-018-4142-y.
34. clinicaltrials.gov. [online]. Available from: <https://clinicaltrials.gov/>
35. Chan AT, Ogino S, Fuchs CS. Aspirin and the risk of colorectal cancer in relation to the expression of COX-2. *N Engl J Med* 2007; 356(21): 2131–2142. doi: 10.1056/NEJMoa067208.
36. Liao X, Lochhead P, Nishihara R et al. Aspirin use, tumor PIK3CA mutation, and colorectal-cancer survival. *N Engl J Med* 2012; 367(17): 1596–1606. doi: 10.1056/NEJMoa1207756.