



Facultat de Ciències **Universitat de les Illes Balears**

Memòria del Treball de Fi de Grau

Enfermedad Inflamatoria Intestinal y Cáncer Colorrectal

María Teresa Escudero Martínez

Grau de Bioquímica

Any acadèmic 2018-19

Treball tutelat per Dr. Daniel Gabriel Pons Miró
Departament de Biologia Fonamental i Ciències de la Salut

S'autoritza la Universitat a incloure aquest treball en el Repositori Institucional per a la seva consulta en accés obert i difusió en línia, amb finalitats exclusivament acadèmiques i d'investigació	Autor		Tutor	
	Sí	No	Sí	No
	X		X	

Paraules clau del treball:
Cáncer colorrectal, Inflamación, Colitis.

Contenido

Resumen	1
1. Introducción.....	1
2. Objetivo	4
3. Materiales y Métodos	4
4. Resultados y Discusión	6
4.1. Inflamación en el Cáncer Colorrectal.....	6
4.1.1. Fibroblastos Asociados al Cáncer y Células del Sistema Inmune.....	6
4.1.2. Microambiente Oxidativo e Inflamatorio	12
4.2. miRNAs en la Iniciación, Progresión y Metástasis del Cáncer Colorrectal	19
4.3. Tratamientos Quimiopreventivos Antiinflamatorios	22
4.3.1. Ácido 5-Aminosalicílico	22
4.3.2. Pentoxifilina	23
4.3.3. Polifenoles	23
5. Conclusiones	25
6. Bibliografía	26

Resumen

El cáncer colorrectal es uno de los cánceres más comunes a nivel mundial y en los últimos años se ha relacionado estrechamente con la inflamación del colon. Por esta razón, se ha establecido que las personas afectadas por enfermedades inflamatorias intestinales poseen un mayor riesgo de padecer posteriormente cáncer colorrectal. Los mecanismos moleculares por los que la inflamación promueve la tumorigénesis aún están siendo dilucidados, aunque sí que se ha visto que las células del sistema inmune están asociadas al desencadenamiento del proceso cancerígeno. Además, en este proceso también juega un papel clave el estrés oxidativo generado como consecuencia de la inflamación crónica del colon, que afecta tanto a las células del sistema inmune como a las células epiteliales de la mucosa del colon. En este trabajo se ha realizado una búsqueda bibliográfica con el objetivo de recoger y analizar los principales factores que relacionan la tumorigénesis del colon con el proceso inflamatorio de la colitis ulcerosa, y además se explicarán las terapias estudiadas más importantes que relacionan ambos procesos.

1. Introducción

La inflamación crónica de la mucosa intestinal es uno de los factores de riesgo que predisponen al desarrollo del cáncer colorrectal. Esta inflamación crónica puede tratarse de una complicación de las enfermedades inflamatorias intestinales, como lo son la colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn¹. Estas enfermedades inflamatorias llevan consigo una infiltración de células inflamatorias en el tejido intestinal, tales como neutrófilos, macrófagos y eosinófilos. Estos tipos celulares producen elevadas cantidades de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno cuando son estimuladas, las cuales promueven en gran medida la inflamación del tejido². Además, la producción de otros componentes proinflamatorios, como ciertas citoquinas y quimiocinas, no sólo son generados por las células del sistema inmune locales, sino que también son secretados por los propios enterocitos, de forma que se mantiene y se amplifica el proceso inflamatorio, causando así un daño extensivo en la mucosa³.

La colitis ulcerosa se define como un desorden inflamatorio crónico del tracto gastrointestinal, en el cual hay una inflamación de la mucosa y submucosa del colon⁴. En concreto, afecta a la región distal del colon y al recto, aunque a menudo se extiende a lo largo de todo el colon⁵. Se trata de una enfermedad inflamatoria que afecta a millones de personas en todo el mundo y, de hecho, su incidencia se ha incrementado rápidamente en las últimas dos décadas⁶. Entre los principales signos y síntomas de la colitis ulcerosa se encuentran la diarrea sanguinolenta, el dolor abdominal, el estreñimiento, la distensión abdominal, la pérdida de peso, la fatiga y los vómitos⁴. Clínicamente, los pacientes con colitis ulcerosa experimentan

brotos intermitentes durante toda su vida, y la colectomía (extirpación del colon) es la única terapia definitiva⁵. Aunque su etiología sigue teniendo muchas incógnitas, recientemente se han encontrado ciertas evidencias que contribuyen al entendimiento de la patogénesis de esta enfermedad, como la participación en ésta de una combinación de factores ambientales, factores genéticos, modificaciones de la microbiota intestinal y respuestas inmunes^{6,7}. Como se ha visto que la producción excesiva de mediadores inflamatorios como las especies reactivas de oxígeno (ROS, *reactive oxygen species*), la deficiencia enzimática de antioxidantes, la infiltración de células del sistema inmune y las citoquinas contribuyen a la cascada inflamatoria que se produce durante el proceso patológico de la colitis, actualmente se estudian numerosos tratamientos antiinflamatorios⁷. Entre las terapias más actuales para esta enfermedad se incluyen los aminosalicilatos (como la sulfasalazina y la mesalamina), los glucocorticosteroides (como la prednisona y la budesonida), los inmunosupresores (como la azatioprina, la 6-mercaptopurina y el metatrexato) y los agentes biológicos (como el infliximab y el adalimumab). No obstante, estos fármacos pueden provocar unos efectos secundarios graves, como el dolor abdominal acompañado por fiebre y un incremento de la presión arterial cuando se administran de forma continua. Por esa razón, es necesario encontrar terapias alternativas con menores efectos secundarios, para así poder prevenir y tratar la colitis ulcerosa⁶.

En los últimos años se ha establecido una relación causal entre la inflamación crónica y la carcinogénesis del tracto gastrointestinal y, de hecho, en recientes estudios se ha visto cómo el grado de inflamación y la duración del brote de la enfermedad incrementaban de forma directa el riesgo de los pacientes de colitis ulcerosa de sufrir una displasia del tejido epitelial intestinal y una carcinogénesis posterior. La inflamación crónica expone a los pacientes con colitis ulcerosa a toda una serie de señales con potenciales efectos tumorigénicos como la activación desregulada del factor nuclear kappa-B (NF-κB) y de la ciclooxigenasa-2 (COX2), que provocan la liberación de mediadores inflamatorios⁸.

El cáncer colorrectal es el tercer cáncer más frecuente a nivel mundial y, de hecho, cada año se detectan un millón de casos nuevos. En las últimas décadas ha presentado una elevada mortalidad, con más de 500.000 muertes anuales⁹. Dependiendo de la etiología del cáncer colorrectal, se puede clasificar en esporádico, familiar o hereditario. Sólo el 20% de los cánceres colorrectales son de origen familiar, los cuales pueden desarrollarse a partir de síndromes como el de la poliposis adenomatosa familiar¹⁰. Entre el 70 y el 75% de los casos de cáncer colorrectal son esporádicos y están relacionados con factores de riesgo ambientales como la dieta, la obesidad, el tabaco y el consumo de alcohol, así como la inflamación intestinal crónica¹¹.

El cáncer asociado a colitis (*colitis-associated cancer*, CAC) es el subtipo de cáncer colorrectal que está asociado a las enfermedades inflamatorias intestinales y se trata de un cáncer difícil de tratar, con una alta mortalidad y que es responsable del 1% de todos los cánceres colorrectales¹². Más de un 20% de los afectados por enfermedad inflamatoria intestinal acaban desarrollando cáncer colorrectal durante los 30 años siguientes al diagnóstico de la enfermedad y más del 50% de éstos morirán a causa de esta patología⁵. De hecho, se ha demostrado que los pacientes de cáncer colorrectal asociado a colitis tienen una peor prognosis que aquellos que no han padecido enfermedades inflamatorias intestinales. Además, el cáncer colorrectal asociado a colitis se suele detectar en etapas más avanzadas que el esporádico, por lo que en los últimos años se ha incrementado la observación y el seguimiento de los pacientes con colitis ulcerosa¹².

El tratamiento primario para aquellos pacientes de cáncer colorrectal que no presentan metástasis es la cirugía, aunque alrededor del 25% de los pacientes que son diagnosticados con cáncer colorrectal ya presentan invasión cancerígena en localizaciones secundarias. En cuanto a los pacientes que son diagnosticados con cáncer colorrectal en etapas tempranas, entre el 30 y el 50% acaban sufriendo el proceso metastásico durante el seguimiento clínico¹³. Como la cirugía no está disponible en los pacientes en etapas más avanzadas, el método terapéutico más importante es la quimioterapia. No obstante, hay cuatro complicaciones importantes en la aplicación de la quimioterapia: la falta de sensibilidad por las células tumorales, la concentración de fármaco insuficiente en los tejidos tumorales, la resistencia al fármaco de las células tumorales y la toxicidad sistémica. En la última década, el mayor avance en el manejo clínico del cáncer colorrectal es el inicio del uso de agentes biológicos, que también reciben el nombre de fármacos dirigidos. Estos agentes biológicos tienen como diana cascadas de señalización involucradas en la regulación del crecimiento tumoral, la resistencia a los fármacos, la metástasis, la angiogénesis y la apoptosis. Además, la eficiencia de estas terapias depende de la administración dirigida del tratamiento al tejido tumoral, minimizando así los posibles efectos secundarios. De hecho, con la aplicación de estos tratamientos, la supervivencia media se ha incrementado más de 30 meses¹⁴. Asimismo, en los últimos años también se han investigado los agentes quimiopreventivos dado que son una estrategia prometedora, especialmente los dirigidos a reducir la inflamación crónica y el estrés oxidativo en los pacientes que tienen inflamación del colon y, por lo tanto, presentan un mayor riesgo de desarrollar cáncer colorrectal. Entre los principales compuestos estudiados se encuentran los inhibidores de COX-2, el ácido 5-aminosalicílico (5-ASA), la pentoxifilina y ciertos fitoquímicos, los cuales presentan propiedades antiinflamatorias y de los que se han obtenido resultados prometedores¹.

2. Objetivo

El principal objetivo de este trabajo es realizar una búsqueda bibliográfica mediante el uso de bases de datos científicas y fiables, para así poder analizar los roles que juegan las enfermedades inflamatorias intestinales en el desarrollo del cáncer colorrectal y estudiar el papel del proceso inflamatorio que tiene lugar durante todas las etapas del cáncer.

3. Materiales y Métodos

La búsqueda bibliográfica de este trabajo se ha basado en la base de datos del NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) PubMed, para lo que se emplearon diferentes combinaciones de palabras y de filtros según el tema de interés, indicados en la **Tabla 1**.

Tabla 1: Términos de búsqueda y filtros empleados en PubMed y número de resultados.

	Búsqueda	Filtros	Resultados
1.	<i>Colon cancer inflammatory bowel disease oxidative stress</i>	<i>Journal Article, Free Full Text, Last 5 Years</i>	41
2.	<i>Colorectal cancer 5-ASA</i>	-	109
3.	<i>Adenoma-carcinoma sequence</i>	<i>Review, Free Full Text, Last 5 Years</i>	18
4.	<i>DNA damage colorectal cancer inflammation</i>	<i>Journal Article, Free Full Text, Last 5 Years, Humans</i>	29
5.	<i>DNA damage colorectal cancer</i>	<i>Review, Free Full Text, Last 5 Years</i>	41
6.	<i>Colorectal cancer exosome metastasis</i>	<i>Review, Free Full Text</i>	9
7.	<i>HIF-1 colorectal cancer inflammation</i>	<i>Journal Article, Free Full Text, Last 5 Years, Humans</i>	9
8.	<i>miRNA colorectal cancer exosome inflammatory</i>	-	2
9.	<i>Nrf2 colorectal cancer inflammation</i>	<i>Journal Article, Free Full Text, Last 5 Years, Humans</i>	5
10.	<i>Polyphenols colorectal cancer inflammation</i>	-	55
11.	<i>Resveratrol colorectal cancer</i>	<i>Free Full Text, Last 5 Years</i>	44
12.	<i>Immune system colorectal cancer</i>	<i>Free Full Text, Last 5 Years</i>	1313
13.	<i>COX Wnt colorectal cancer</i>	<i>Free Full Text</i>	64
14.	<i>NF-kB colorectal cancer inflammation</i>	-	20
15.	<i>Pentoxifylline colorectal cancer</i>	-	16
16.	<i>miRNA colorectal cancer inflammation oxidative stress</i>	-	3
17.	<i>5-ASA colorectal cancer ROS</i>	-	1
18.	<i>Resveratrol colorectal cancer oxidative stress ROS</i>	-	2
Resultados Totales			1781

La primera búsqueda se realizó con el objetivo de conocer el estado del arte del tema del estudio en los últimos 5 años, de manera que permitió determinar y concretar la estructura que tendría el trabajo. Además, también se hizo la búsqueda "*colon cancer AND inflammatory bowel disease AND oxidative stress*" para saber cómo había sido el estudio de este tema a lo largo de los años, para lo que se eliminó el filtro "*last 5 years*" y se creó la **Figura 1**, en la que vemos cómo el estudio del cáncer colorrectal, la inflamación y el estrés oxidativo ha ido ganando importancia desde 1997.

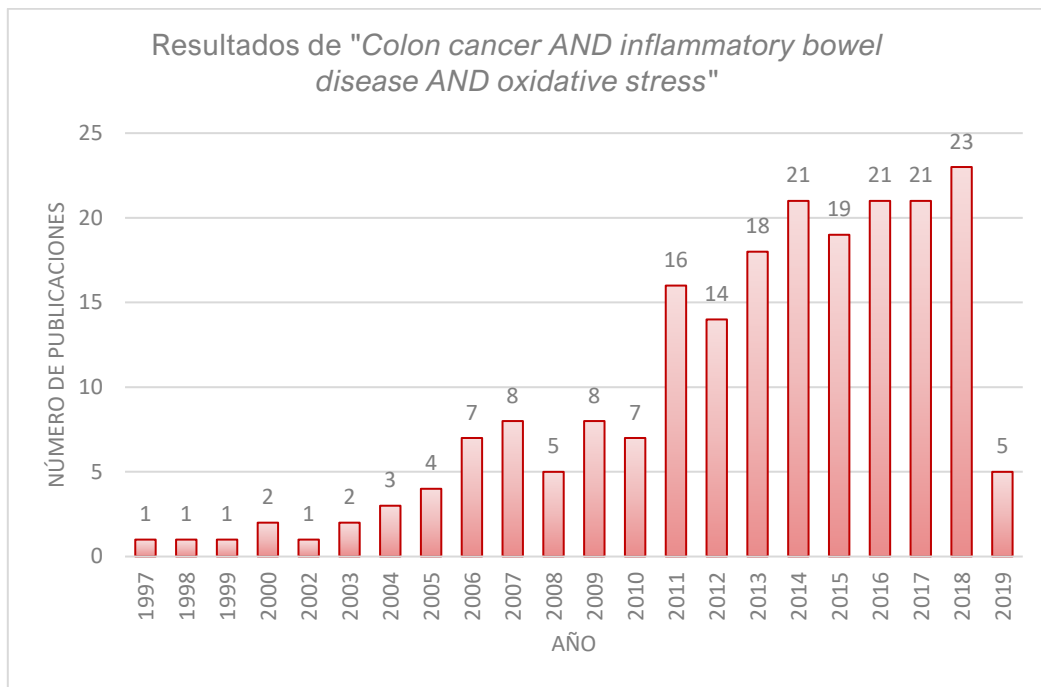


Figura 1: Representación del número de publicaciones de "*colon cancer AND inflammatory bowel disease AND oxidative stress*" por año.

De esta manera, se obtuvieron 1781 resultados, muchos de los cuales no se tuvieron en consideración puesto que, según su título, se centraban en otros tipos de cáncer. Además, tras la lectura de los *abstracts* de los artículos restantes también se excluyeron múltiples publicaciones puesto que tampoco estaban relacionados directamente con el tema del estudio. Así, se excluyeron un total de 1216 resultados en base a su título o a su *abstract*. Adicionalmente, 22 no se incluyeron por no estar en inglés y 391 tenían el acceso restringido, por lo que tampoco pudieron ser considerados a la hora de realizar el trabajo. Por lo tanto, se encontraron un total de 149 artículos que podían ser potencialmente empleados en el análisis del cáncer colorrectal y la inflamación. No obstante, de estos 149, 111 tuvieron que ser excluidos puesto que o bien trataban sobre otro tipo de cáncer o bien no tenían en cuenta el proceso inflamatorio. Por último, se añadieron 11 artículos que fueron encontrados a partir de las referencias de otros artículos hallados mediante las búsquedas bibliográficas, empleando finalmente 52 artículos para realizar este trabajo.

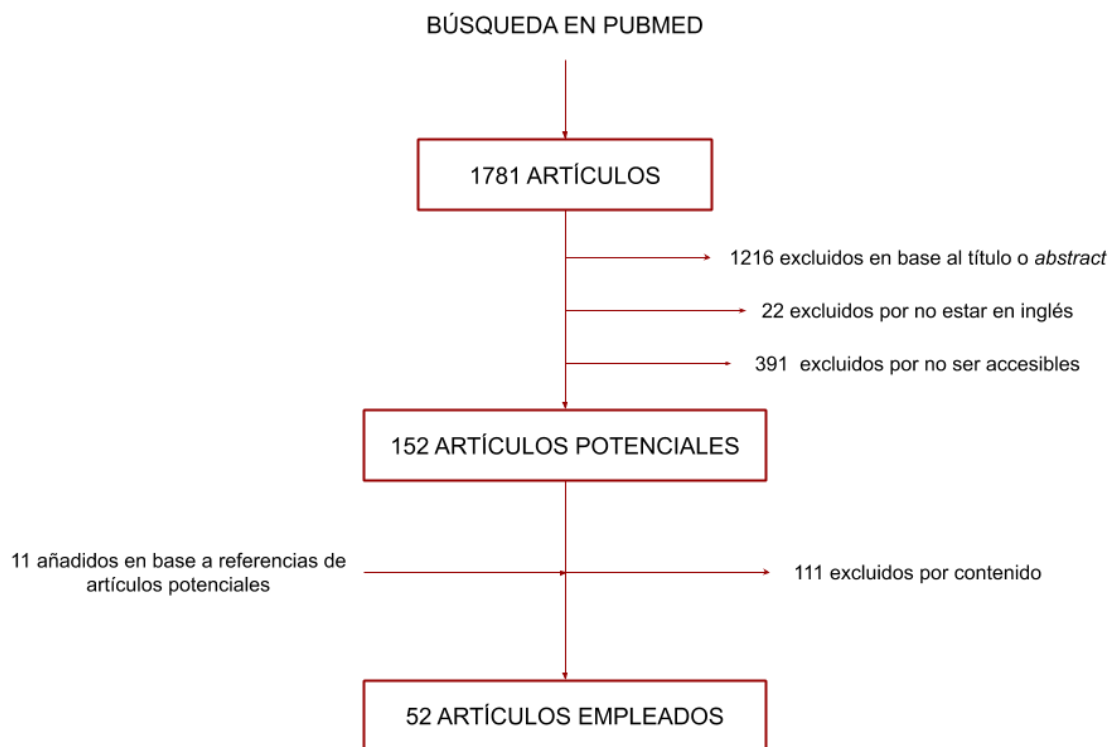


Figura 2: Proceso de selección de artículos.

4. Resultados y Discusión

4.1. Inflamación en el Cáncer Colorrectal

La colitis ulcerosa es una enfermedad inflamatoria que implica la infiltración de células inmunes y la expresión de citoquinas proinflamatorias⁵. Así, en el intestino se genera un microambiente inflamatorio que puede contribuir a la tumorigénesis del colon mediante tres vías principales: la generación de daño en el DNA causado por el incremento del estrés oxidativo que contribuye a la iniciación del proceso tumorigénico, la activación de vías de supervivencia celular y antiapoptóticas en las células epiteliales que contribuyen a la inducción cancerígena y la creación de un microambiente que promueve el crecimiento celular sostenido, la neo-angiogénesis, la migración y la invasión de las células tumorales⁸.

4.1.1. Fibroblastos Asociados al Cáncer y Células del Sistema Inmune

Fibroblastos Asociados al Cáncer

Los fibroblastos son un componente clave del tejido conectivo y se encuentran rodeados de matriz extracelular. Además, tienen funciones importantes en la regulación de la homeostasis y en la remodelación de los tejidos, así como en la producción de citoquinas, por

lo que también pueden modular el microambiente inmune. Los fibroblastos que se encuentran en el estroma tumoral se conocen como “fibroblastos asociados al cáncer” y no tienen un origen definido¹⁵. Se han propuesto varias hipótesis para explicar su origen, como la que sugiere que son células cancerosas que han sufrido una transición epitelio-mesénquima. También se ha contemplado el hecho de que se originen a partir de monocitos que se hayan diferenciado a fibrocitos, de manera que se explicaría el solapamiento significativo que se ha observado entre los fenotipos de estos fibroblastos y los macrófagos. Así, se ha visto que los fibroblastos asociados al cáncer expresan CD48, que es un marcador que se emplea para diferenciar a los macrófagos; aunque no poseen el marcador de célula inmune CD45. En términos del cáncer colorrectal, se ha relacionado la presencia de estos fibroblastos con una inducción del crecimiento celular, así como una mayor metástasis de las células tumorales¹⁶.

Los mediadores inflamatorios derivados de los fibroblastos asociados al cáncer pueden promover tanto el crecimiento como la invasión tumoral. Uno de estos mediadores es la IL-6, la cual ha sido relacionada con la progresión del cáncer colorrectal. En concreto, la presencia de IL-6 en el suero de pacientes con cáncer colorrectal se asocia a una peor prognosis, dado que este mediador promueve la supervivencia celular y la producción del factor de crecimiento vascular endotelial (*vascular endothelial growth factor*, VEGF) tanto en las células tumorales como en las inmunes¹⁷. Además, la presencia de VEGF se ha visto asociada a una peor prognosis y a una progresión tumoral aumentada, ya que promueve el proceso de angiogénesis. En diferentes estudios, se ha observado que los fibroblastos asociados al cáncer son capaces de generar más IL-6 que el propio tejido tumoral, lo cual lleva a una mayor producción de VEGF también por parte de estos fibroblastos. Así, el crecimiento tumoral se vería más favorecido por el efecto indirecto de IL-6 sobre los propios fibroblastos que por el efecto directo de IL-6 sobre las células tumorales¹⁶.

Los fibroblastos asociados a tumores producen niveles elevados de las citoquinas CCL2 y CCL5 en un mecanismo dependiente de IL-6. Estas citoquinas atraen a los monocitos, por lo que estos fibroblastos están relacionados con el reclutamiento de macrófagos y monocitos al microambiente tumoral. Además, se ha observado que las células tumorales también producen CCL2 y CCL5, así como los propios macrófagos y monocitos, por lo que se genera un *feedback* positivo que desemboca en un microambiente tumoral inflamatorio¹⁶.

Macrófagos Asociados a Tumores

Los macrófagos representan entre el 10 y el 20% de todas las células mononucleares que se hallan en la lámina propia intestinal, haciendo así que el intestino sea el mayor reservorio de macrófagos en los humanos. Estas células se caracterizan por poseer dos fenotipos bien

diferenciados, lo que hace que podamos encontrar dos tipos de macrófagos: los macrófagos de tipo I (fenotipo M1) y los macrófagos de tipo II (fenotipo M2). El fenotipo M1 se caracteriza por la producción de altas cantidades de citoquinas proinflamatorias y está implicado en la muerte de patógenos y de células tumorales mediante la secreción de compuestos como el factor α de necrosis tumoral (TNF- α), interleuquina-12 (IL-12), nitrógeno reactivo (iNOS) e intermediarios de oxígeno (ROS). Por otro lado, el fenotipo M2 es activado por señales como la de las IL-4, IL-13 y IL-10, así como por hormonas glucocorticoides, y se encarga de la regulación de la respuesta inflamatoria. Además, también elimina desechos celulares y promueve el proceso de angiogénesis y de remodelación celular, así como la liberación de citoquinas como la IL-10^{16,18}.

Los macrófagos presentes en tumores se denominan “macrófagos asociados a tumores” (*tumor-associated macrophages*, TAMs) y tienen unos papeles importantes en la evolución clínica del tumor. Normalmente, estos macrófagos expresan el fenotipo M2, mientras que los macrófagos de tipo I son más abundantes en los procesos de inflamación crónica y en los lugares donde se inicia el proceso tumorigénico¹⁹. Así, se cree posible que estos macrófagos con el fenotipo M1 pasen a ser de tipo II a medida que el tumor gana invasividad, empieza a llevar a cabo la angiogénesis y gana tamaño¹⁸.

A los macrófagos asociados a tumores se les ha asociado con una promoción del crecimiento tumoral, tanto de forma directa sobre las células tumorales como indirectamente mediante la interacción con células presentes en el microambiente tumoral¹⁹. Diversos estudios han mostrado cómo los macrófagos asociados a tumores inducen la expresión de citoquinas proinflamatorias como IL-6 e IL-13, esta última mediada a través del factor de transcripción STAT-3. La presencia de estas citoquinas ha sido relacionada con una peor prognosis del paciente y, de hecho, se ha observado que una sobreexpresión del factor STAT-3 está correlacionado significativamente con una mayor mortalidad. De esta forma, se ha demostrado que tanto los macrófagos asociados a tumores como los fibroblastos asociados al cáncer promueven la formación de un microambiente tumoral que lleva a la progresión del cáncer colorrectal. Además, los macrófagos asociados a tumores también tienen un papel importante en el incremento de la expresión de metaloproteinasas de matriz como la MMP-2 y la MMP-9, las cuales degradan la matriz extracelular y promueven así la invasión tumoral¹⁶.

Los macrófagos migran preferentemente a las regiones hipóxicas de los tumores, donde adquieren un fenotipo similar al que presentan los macrófagos implicados en la curación de heridas: el fenotipo M1. Este fenotipo puede llevar a la inducción del crecimiento tumoral y se

caracteriza por un incremento en la expresión del transportador GLUT-1, que se produce en un intento de captar más glucosa en un ambiente pobre en nutrientes¹⁶.

Además de un aumento en la producción de moduladores inflamatorios, los tumores colorrectales también causan defectos de la barrera intestinal, permitiendo así el contacto entre las células inmunes y los productos de la microbiota intestinal¹⁶. Esto lleva a un incremento en la producción de la citoquina inflamatoria IL-23, la cual estimula la producción de IL-17 tanto en las células T como en las tumorales, así como de otras interleuquinas y factores como el TNF- α en las células endoteliales, epiteliales y del estroma¹⁸. Así, se genera un proceso inflamatorio que afecta a la microbiota intestinal y promueve la progresión tumoral¹⁶.

La relación entre la infiltración de macrófagos y la prognosis del cáncer colorrectal aún no está muy clara, ya que, mientras que unos estudios muestran una correlación positiva entre la infiltración de macrófagos y la prognosis del paciente, otros estudios muestran lo contrario¹⁸. Esto se debe a que se ha visto que los macrófagos, en respuesta a IL-6, pueden tanto promover como inhibir el crecimiento tumoral. De esta manera, los macrófagos que han sido estimulados con IL-4 y/o IL-13 incrementan la producción de IL-10 (citoquina antiinflamatoria) en respuesta a IL-6; mientras que los que han sido estimulados con interferón γ (IFN- γ) adquieren un fenotipo que se caracteriza por la producción de IL-1 β y TNF- α (citoquinas proinflamatorias) en presencia de IL-6¹⁶.

Células T

En los últimos años, se ha llevado a cabo la cuantificación de células T infiltradas en el tejido cancerígeno mediante la técnica inmunohistoquímica denominada “*Immunoscore*”, mediante la que se analiza la presencia de células T CD4+, CD8+ y CD45RO+, que han sido relacionadas con una buena prognosis del paciente. Empleando esta técnica se ha observado una diagnosis como una predicción de la evolución del paciente precisa, aunque su eficacia puede verse comprometida por la presencia de células T que no están asociadas a una buena prognosis¹⁶. Por ejemplo, se ha observado que las células T inflamatorias CD4+ (células Th17), que normalmente se cuantifican mediante su producción de IL-17, y las células T reguladoras CD4+ (Tregs), que se suelen cuantificar por la expresión del factor de transcripción FoxP3, pueden representar tanto una evolución positiva como negativa del paciente¹³. Además, también se ha asociado a una evolución positiva un ratio bajo de células T CD4+/CD8+. Esto podría deberse a que las células T CD8+ pueden ser más efectivas en sus efectos antitumorales que las células T CD4+, sobre todo si se tiene en cuenta que existe un subgrupo de células T CD4+ que están relacionadas con una peor evolución. Así, como el fenotipo de

las células T residentes en el tumor está regulado por el ambiente local de citoquinas, la eficiencia de la respuesta de las células T ante el tumor es dependiente de la interacción con otras células¹⁶.

Las células Th17 son importantes en las respuestas antimicrobianas del intestino. La adquisición de un fenotipo productor de IL-17 se produce cuando las células T *naive* se activan en presencia de IL-6, IL-1 β , TGF- β e IL-23. Las respuestas inflamatorias de estas células se dan por la producción de citoquinas (especialmente IL-17) que reclutan monocitos y neutrófilos al sitio de la inflamación. Entonces, estas células del sistema inmune innato producen las mismas citoquinas para promover las respuestas Th17¹⁶. La producción de IL-17 en el cáncer colorrectal ha sido asociada a una mala prognosis dado que, aunque no se conoce completamente el rol de las células T17, se ha observado que en su presencia se veía inducida la producción de VEGF por las células tumorales. Este incremento de los niveles de VEGF lleva consigo un incremento de la angiogénesis tumoral así como una inducción de la proliferación tumoral²⁰.

Las células T reguladoras han sido relacionadas con la inhibición de la proliferación de las células Th17, por lo que es posible que una acumulación de las células T reguladoras en los cánceres colorrectales suprima la respuesta inflamatoria de las células Th17, mejorando así la evolución clínica del paciente¹³. Estas células T reguladoras se caracterizan por la producción de IL-10, que es una citoquina que principalmente está asociada a las respuestas antiinflamatorias. En estudios con pacientes de cáncer colorrectal, los niveles de IL-10 se han correlacionado de forma inversa con la cantidad de IL-17. Así, se ha visto que la producción de IL-10 podría inhibir las respuestas inflamatorias pro-tumorales, así como activar las respuestas inmunes anti-tumorales¹⁶.

Las células tumorales pueden escapar de la reactividad de las células T CD8+ mediante una disminución de la expresión del Complejo Mayor de Histocompatibilidad de clase I (*Major Histocompatibility Complex Class I*, MHC-I). Entonces, estas células representan una potencial diana para las células *Natural Killer* (NK), las cuales son capaces de reconocer y eliminar células con una baja expresión de MHC-I. No obstante, se ha observado que en el cáncer colorrectal generalmente las células NK se encuentran en unos niveles muy bajos comparado con la mucosa normal intestinal, independientemente de la expresión del MHC-I¹³. Esto se debe a que las células de cáncer colorrectal son capaces de producir moléculas inmunosupresoras que causan una disfunción de las células NK, como los antígenos leucocitarios humanos E y G²¹.

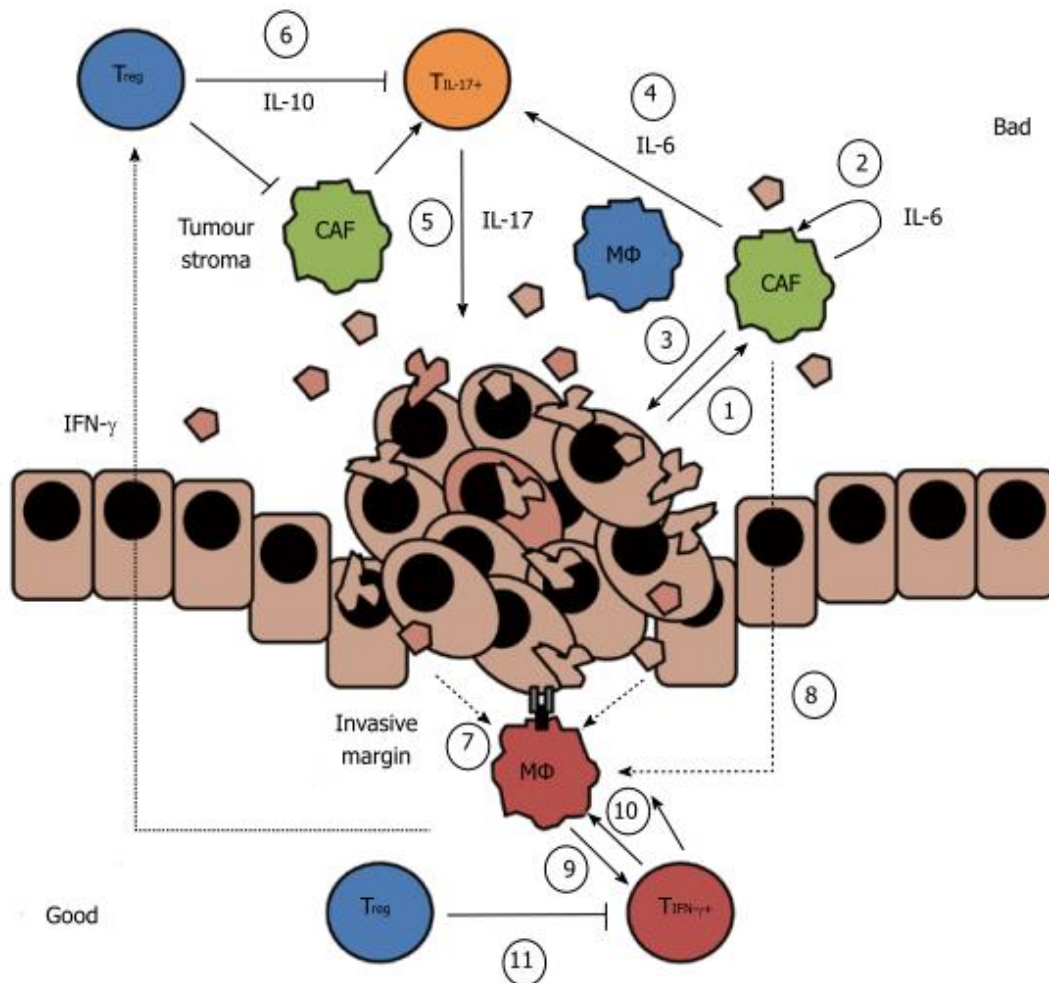


Figura 3¹⁶: Interacciones de las células del sistema inmune en el cáncer colorrectal.

Neutrófilos

Los neutrófilos o células polimorfonucleares (*polymorphonuclear cells*, PMN) tienen un papel esencial en la primera línea de defensa ante patógenos microbianos, aunque dada su corta vida media, no se han considerado importantes en el proceso inflamatorio asociado al cáncer. No obstante, los neutrófilos activados son capaces de producir y liberar mediadores proinflamatorios como IL-1 e IL-8. También sintetizan y almacenan en su interior enzimas relacionadas con el metabolismo oxidativo, como la mieloperoxidasa (MPO), así como especies de reactivas de oxígeno. Además, las interleuquinas IL-23 e IL-17 activan el programa inflamatorio de los neutrófilos, de manera que se produce una liberación de mieloperoxidasa y de las metaloproteasas de matriz MMP-8 y MMP-9, llevando a una destrucción tisular por actividad proteolítica. Como estas interleuquinas están especialmente presentes en el microambiente del cáncer colorrectal, durante la evolución de éste también se vería inducida una disfunción de los tejidos adyacentes¹⁸.

4.1.2. Microambiente Oxidativo e Inflamatorio

Daño en el DNA

La respuesta inflamatoria crónica representa un equilibrio entre la inflamación activa, la reparación y la destrucción que se lleva a cabo en respuesta a estímulos persistentes durante un periodo de tiempo prolongado. La activación de las células inmunes en respuesta a estos estímulos lleva a la producción de citoquinas, quimiocinas, especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno (ROS y RNS, respectivamente)²². De esta forma, si hay un desequilibrio entre los sistemas endógenos de defensa antioxidante y los sistemas de producción de especies oxidantes, se produciría un incremento en los niveles de especies reactivas. Estos ROS y RNS pueden provocar entonces la oxidación de los ácidos nucleicos, de proteínas y de lípidos, así como la inducción de lesiones en el DNA. De hecho, la acumulación de daño en el DNA está asociado con la disminución de la actividad de las defensas antioxidantes¹⁸.

Se estima que las especies reactivas de oxígeno producidas en el proceso de inflamación crónica pueden ser un factor primario en el desarrollo de un tercio de todos los cánceres, donde los neutrófilos y los macrófagos son la mayor fuente de oxidantes que causan alteraciones genéticas y que pueden promover el desarrollo tumoral. Además, en el cáncer de colon asociado a colitis, las especies reactivas tanto de nitrógeno como de oxígeno podrían contribuir a las mutaciones del supresor tumoral p53, así como pueden alterar los componentes proteicos de los sistemas de reparación del DNA. De esta forma, el daño oxidativo persistente puede inducir daño en el DNA como la modificación de bases y las roturas de cadena doble y simple, lo que puede llevar a un estado de inestabilidad genómica; y, entonces, se pueden ver activados factores de transcripción que promuevan la expresión de oncogenes como NF- κ B, c-Fos, c-jun y c-myc. Asimismo, las ROS están implicadas también en el proceso de angiogénesis, dado que inducen la liberación de VEGF. Esta acumulación de daño tisular y de angiogénesis, con una pérdida del control del ciclo celular, podría contribuir así a la iniciación tumoral¹⁸.

Secuencia Adenoma-Carcinoma

El desarrollo de cáncer colorrectal generalmente sigue una serie de etapas consecutivas, que fueron inicialmente descritas en el estudio llevado a cabo por Fearon y Vogelstein en 1990²³. Aunque las mutaciones iniciales en las células epiteliales normales o en las células madre se producen al azar y en niveles bajos, las células que contienen mutaciones activadoras de la vía Wnt o en la β -catenina son más propensas a formar tumores²⁴. Así, las mutaciones en el gen *APC* generalmente se dan en etapas tempranas de la tumorigénesis y

son necesarias para que las células epiteliales preneoplásicas pasen a formar las criptas aberrantes, las cuales preceden a la formación de microadenomas, adenomas y carcinomas. Esto se debe a que la mutación inactivadora de APC hace que deje de darse la migración y la diferenciación de las células premalignas en las criptas intestinales. De esta forma, en vez de producirse la renovación de las células epiteliales de la cripta, éstas no son renovadas cuando poseen mutaciones en APC y se permite que adquieran las segundas y terceras mutaciones necesarias para que se dé la transformación celular²⁵.

Para que se genere un adenoma y un consecuente carcinoma, también han de verse desreguladas otras vías. Esta progresión incluye la activación de los oncogenes *K-ras* y *B-Raf*, así como la inactivación de supresores tumorales, como el receptor TGF- β -RII, la proteína p53 y la proteína proapoptótica Bax⁸. Además, para que produzca la transición adenoma-carcinoma, es necesario que haya un incremento de la ciclooxigenasa-2 (COX-2), así como en genes relacionados con los puntos de control del ciclo celular. En este punto de la tumorigénesis, se genera la inestabilidad genómica que define a cada tipo de cáncer colorrectal y que le proporciona unas características concretas²⁵.

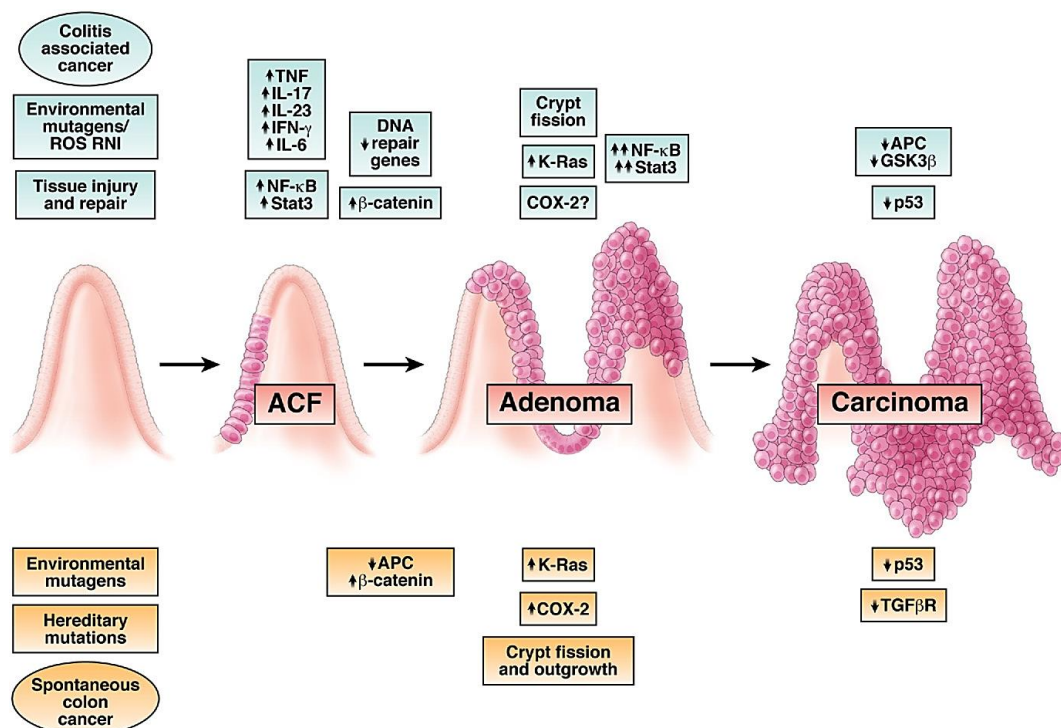


Figura 4²⁵: Principales características de la secuencia adenoma-carcinoma del cáncer colorrectal esporádico y del asociado a colitis.

No obstante, en el cáncer colorrectal asociado a colitis, los factores que causan la transformación de las células epiteliales normales a tumorales son diferentes (**Figura 2**). Por un lado, la secuencia comienza con unas células epiteliales intestinales que se encuentran en

un ambiente proinflamatorio debido a la colitis, por lo que estas células se ven sometidas especialmente a mutágenos ambientales y a especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno. Así, las células preneoplásicas forman criptas aberrantes como consecuencia de la presencia de elevados niveles de citoquinas proinflamatorias como TNF- α , IL-17, IL-23, IFN- γ e IL-6; de la actividad de vías que promueven la síntesis de estas citoquinas como la de NF- κ B, así como por la disfunción de los sistemas de reparación del DNA y por el incremento en los niveles de β -catenina¹⁰. Además, una de las diferencias más significativas entre el cáncer colorrectal espontáneo y el asociado a colitis es que, mientras que en el espontáneo la mutación de APC es necesaria para la formación de adenomas, en el cáncer colorrectal asociado a colitis esta mutación generalmente se detecta una vez que se forma el carcinoma como tal. Así, aunque el proceso de tumorigénesis en ambos tipos de cánceres colorrectales sea bastante similar, sí que se observan diferencias significativas que permiten diferenciarlos de forma clara⁸.

Inestabilidad Genómica

En el cáncer colorrectal se han descrito tres vías principales de inestabilidad genómica: la vía de inestabilidad cromosómica (*chromosomal instability*, CIN) o de estabilidad de microsatélites (*microsatellite stable*, MSS), la vía de inestabilidad de microsatélites (*microsatellite instability*, MSI) y la vía del fenotipo metilador de islas CpG (*CpG island methylator phenotype*, CIMP)⁸. La mayoría de los casos de cáncer colorrectal derivan de la secuencia adenoma-carcinoma, que se encuentra causada mayoritariamente por la vía de inestabilidad cromosómica (CIN). La vía de inestabilidad cromosómica se caracteriza por la acumulación de una serie de mutaciones en oncogenes específicos (como BRAF, KRAS y PI3K) y en supresores tumorales (como APC y TP53) que causan aberraciones cromosómicas estructurales y numéricas y una gran pérdida de heterocigosidad. De hecho, la pérdida de función de la proteína APC es una de las alteraciones biológicas más tempranas del cáncer colorrectal¹³.

La vía de inestabilidad de microsatélites también se encuentra relacionada con la patogénesis del cáncer colorrectal. Esto se debe a que, debido a deficiencias en el sistema de reparación de errores de apareamiento (*DNA mismatch repair*, MMR), se generan mutaciones en las secuencias de DNA microsatélite repetitivas, de manera que se ven afectados genes que contienen este tipo de secuencias, como Bax, TGF β RII y el de la microglobulina β 2¹³. Este fenotipo deficiente en el sistema MMR se ha visto en un 10-20% de los casos esporádicos de cáncer colorrectal y se caracteriza por la localización del cáncer en el costado derecho y por la presencia de una multitud de linfocitos infiltrantes de tumor (*tumor-infiltrating lymphocytes*, TILs)^{8,13}. Este fenotipo, además, se relaciona con una buena prognosis clínica y con un riesgo

de metástasis menor^{11,26}. Esta vía de inestabilidad genómica se ha visto asociada de forma específica con el cáncer colorrectal asociado a colitis, dado que se ha demostrado que el ambiente oxidativo y proinflamatorio que tiene lugar puede provocar mutaciones en las secuencias de los microsatélites, así como en los genes relacionados con la MRR⁸.

La vía del fenotipo metilador de islas CpG se caracteriza por la hipermetilación de las islas CpG que se encuentran en regiones promotoras, lo que puede causar la represión de la transcripción de supresores tumorales. La mayoría de los casos de cáncer colorrectal donde se observa inestabilidad de microsatélites también poseen el fenotipo metilador de islas CpG. Así, se ha visto como los pacientes de cáncer colorrectal pueden presentar características de varias vías de inestabilidad genómica. Como consecuencia de esta inestabilidad genómica, se produce una acumulación de mutaciones que llevarían a la producción de proteínas anómalas, las cuales podrían perder su función o bien afectar a la expresión y a la función de otras proteínas e incluso a comprometer toda una vía de señalización¹³.

Factor Nuclear Kappa B (NF-κB)

El factor nuclear kappa B (NF-κB) es un regulador clave del proceso inflamatorio y se puede ver activado por un gran abanico de estímulos como los componentes bacterianos (lipopolisacárido, LPS), citoquinas como TNF-α e IL-1, virus y agentes que causan daño en el DNA. Para activarse, primero ha de actuar el complejo IκB (IKK) con actividad quinasa sobre la proteína IκBs, la cual se une a NF-κB e impide que sea activo. Así, la proteína IκBs es degradada y NF-κB puede translocarse al núcleo para mediar la transcripción de sus genes diana. Algunos de los genes dianas de este factor son los que codifican para citoquinas proinflamatorias tales como TNF-α, IL-1 e IL-6, las cuales contribuyen al proceso de tumorigénesis²⁷. Por ejemplo, se ha visto que TNF-α induce la producción de ROS y promueve la generación de daño en el DNA, lo que incrementaría de forma importante el riesgo de inicio de una neoplasia en el colon. De hecho, en pacientes con colitis ulcerosa se observan unos niveles de expresión incrementados de NF-κB, especialmente en los macrófagos de la mucosa del colon y en las células epiteliales⁶. Además, también hay una mayor presencia de las citoquinas proinflamatorias que se ven sintetizadas como consecuencia de la activación de NF-κB. Asimismo, NF-κB tiene dianas génicas relacionadas con la respuesta antiapoptótica y con la proliferación celular, por lo que también tiene un papel importante en la supervivencia de las células tumorales²⁷.

Por otro lado, NF-κB se ha asociado tanto de forma directa como indirecta con la invasión tumoral, dado que promueve la angiogénesis mediante la inducción de la expresión de VEGF

y de COX-2. Además, la producción de metaloproteinasas como la MMP-9 se encuentra regulada por este factor, por lo que facilitaría así la invasión de las células cancerosas²⁷.

Factor Inducible por Hipoxia (HIF-1)

La rápida proliferación de las células cancerosas en un tumor sólido puede hacer que los nutrientes y el oxígeno aportados por la vasculatura disfuncional del tumor no sean suficientes para mantener a todo el tejido tumoral. Por esta razón, se generan regiones en el tumor con un menor aporte de nutrientes y oxígeno, que es lo que se conoce como el desarrollo de microambientes hipóxicos. Con la formación de estos microambientes hipóxicos se esperaría una reducción del crecimiento tumoral, pero diferentes estudios han demostrado que, de hecho, son los tumores hipóxicos los que tienen una mayor resistencia a la radioterapia y a la quimioterapia y están asociados a una peor prognosis. La adaptación de las células cancerosas a la hipoxia permite la evasión de la apoptosis o necrosis, de forma que se da una proliferación sostenida y se incrementa su comportamiento migratorio. Además, la hipoxia provoca una reprogramación metabólica que causa la acidosis del tumor y la estimulación de la angiogénesis que permite entonces la oxigenación y facilita la metástasis²⁸.

El factor inducible por hipoxia (HIF) es el regulador clave de la respuesta hipóxica de las células cancerosas y está formado por factores de transcripción heterodiméricos constituidos por una subunidad HIF α sensible al oxígeno, de la que existen tres variantes (HIF-1 α , HIF-2 α y HIF-3 α), y una subunidad HIF β constitutiva común (HIF-1 β o RNAT)²⁹. Se conocen tres formas de HIF (HIF-1, HIF-2 y HIF-3), dependiendo de la subunidad sensible a oxígeno que presenten (HIF-1 α , HIF-2 α y HIF-3 α , respectivamente). HIF-1 α se expresa en todos los tejidos en condiciones de hipoxia y es la forma mejor estudiada, mientras que HIF-2 α y HIF-3 α tienen una expresión más específica de tejidos y tienen unas funciones menos conocidas²⁸.

En condiciones de normoxia, HIF-1 α sufre hidroxilaciones en la subunidad sensible al oxígeno a causa de la acción de las prolihidroxilasas (PHDs), generando así puntos de anclaje a la proteína supresora tumoral von Hippel-Lindau (VHL), que provoca su degradación por el proteosoma^{29,30}. Sin embargo, estudios recientes han mostrado que HIF-1 α puede ser estabilizado en condiciones de normoxia gracias a la presencia de productos de la glucólisis como el piruvato y el lactato. Así, como las células cancerosas se caracterizan por producir elevados niveles de lactato, este lactato podría ser considerado un onco-metabolito, puesto que estabiliza HIF-1 α y estimula la biogénesis mitocondrial en situaciones de estrés como el que sufren las células tumorales, mejorando así su supervivencia³⁰.

En una situación de hipoxia las hidroxilaciones no tienen lugar, por lo que VHL no puede unirse a HIF-1 y éste no es degradado. De esta forma, se incrementan los niveles de HIF-1 α en condiciones hipóxicas, de manera que se ve afectada la actividad transcripcional de sus genes diana. La hipoxia tumoral y unos niveles elevados de HIF-1 α están asociados a una mala prognosis de todos los tipos de cáncer, dado que una sobreexpresión de HIF-1 α está implicada en el incremento de la agresividad del tumor y en una mayor mortalidad de los pacientes²⁹.

HIF-1 α es un oncogen crítico y un factor de transcripción implicado en el cambio metabólico que se produce desde la fosforilación oxidativa (OXPHOS) hacia una glucólisis alterada en las células tumorales. Además, también es capaz de modular la transcripción de la ciclooxigenasa-2, una enzima clave en la síntesis de prostaglandinas³⁰.

Tanto el RNA mensajero como la proteína HIF-1 α se detecta en adenomas y en adenocarcinomas, y normalmente su expresión se encuentra relacionada con la etapa de la enfermedad. Mediante inmunohistoquímica, se ha observado la expresión de HIF1- α en el 66.7% de los cánceres colorrectales y en el 12.25% de los adenomas colorrectales. Además, la expresión de este factor fue significativamente mayor en pacientes en estadio III respecto a aquellos en estadios I-II. Asimismo, diferentes estudios han mostrado incrementos significativos en los niveles de HIF1- α , así como de VEGF en el cáncer colorrectal, los cuales se han asociado a una disminución de los niveles del supresor tumoral PTEN. Esto significaría que la vía PI3K/Akt/FRAP estaría implicada en el aumento de la expresión de HIF-1 α ²⁸.

Por otro lado, HIF-1 α también parece tener un papel en los eventos inflamatorios que tienen lugar en el cáncer colorrectal. Así, se ha visto que el lipopolisacárido (LPS), que tiene efectos proinflamatorios, es uno de los inductores de la expresión de HIF-1 α , así como de su translocación al núcleo. La sobreexpresión de HIF-1 α en células de cáncer colorrectal, además, incrementa la invasividad de estas células, estando así implicado también en el proceso de metástasis²⁸.

Al mismo tiempo, se ha observado que el supresor tumoral APC e HIF-1 α tienen papeles antagónicos, de forma que HIF-1 α regula los niveles del RNA mensajero y de proteína APC, mientras que APC reprime HIF-1 α mediante un mecanismo dependiente de β -catenina y de NF- κ B. Esto implica que la pérdida de expresión de APC causada por la activación de HIF-1 α lleva a una mayor supervivencia de las células tumorales en condiciones hipóxicas y que la pérdida de APC por mutaciones hace que se promueva una respuesta hipóxica. Como APC se encuentra mutada en la mayoría de los cánceres colorrectales, podría tratarse de un factor importante en la progresión de los tumores colorrectales hasta en etapas tempranas²⁸.

Factor Respiratorio Nuclear 2 (Nrf2)

El factor respiratorio nuclear 2 (Nrf2) es un factor de transcripción considerado como el principal mecanismo de defensa y regulador de la supervivencia celular⁶. Forma parte de la familia de factores respiratorios nucleares junto al Nrf1, que se encargan de regular la expresión de proteínas de la cadena respiratoria, así como de antioxidantes. Por lo tanto, es muy importante en el mantenimiento de la integridad mitocondrial, cuya desregulación puede contribuir en gran manera al desarrollo y a la progresión del cáncer colorrectal³¹.

En condiciones normales, Nrf2 protege ante la tumorigénesis y la progresión tumoral, dado que atenúa la generación y la propagación de compuestos genotóxicos. No obstante, la activación de la respuesta de defensa de Nrf2 puede promover la supervivencia tanto de células sanas como tumorales mediante la generación de un ambiente óptimo para el crecimiento celular. Además, Nrf2 protege a las células tumorales del estrés oxidativo, de los agentes quimioterapéuticos y de la radioterapia, favoreciendo la progresión tumoral y la reprogramación metabólica³¹.

En una situación homeostática, Nrf2 se encuentra secuestrado por su proteína inhibidora Keap1, de manera que es inactivo transcripcionalmente³¹. Sin embargo, la proteína Keap1 se caracteriza por poseer una serie de residuos de cisteína sensibles a las especies reactivas de oxígeno, por lo que, en presencia de ROS, éstos interaccionan con esas cisteínas. Esto tiene como consecuencia la disociación de Keap1 y Nrf2, de manera que éste puede translocarse al núcleo tras sufrir una serie de fosforilaciones estabilizadoras por quinasas como p21, BRCA o PKC⁶. Entonces, Nrf2 en el núcleo forma complejos transcripcionales con proteínas como las Mafs y estimula la expresión de genes antioxidantes y citoprotectores, para así eliminar ROS. Asimismo, su activación también incrementa el nivel de autofagia y reduce el daño genotóxico. De esta manera, Nrf2 tendría un papel protector en las células epiteliales del colon ante situaciones de estrés oxidativo, como las que se generan en el proceso inflamatorio de la colitis ulcerosa, reduciendo así el riesgo de tumorigénesis³¹.

No obstante, se dice que Nrf2 puede tener un papel dual en el desarrollo del cáncer colorrectal puesto que su desregulación puede incrementar el riesgo a sufrir esta neoplasia. Esto se produciría como consecuencia de una sobreexpresión de Nrf2, la cual puede venir dada tanto por mutaciones que afecten a la proteína represora Keap1 o al propio gen Nrf2, como por unos niveles excesivos de ROS e incluso por la presencia de macrófagos con un perfil de secreción proinflamatorio. Así, este aumento descontrolado de los niveles de Nrf2 llevarían consigo una mayor respuesta inflamatoria, un incremento en la actividad del proteosoma y una disminución del proceso apoptótico³¹. Además, diversos estudios muestran

una correlación entre la sobreexpresión de Nrf2 y niveles elevados de HIF-1 α y VEGF, por lo que también se daría un aumento en el proceso de la angiogénesis. Por lo tanto, esta sobreexpresión de Nrf2 se ha asociado con un mayor riesgo de sufrir cáncer colorrectal⁶.

4.2. miRNAs en la Iniciación, Progresión y Metástasis del Cáncer Colorrectal

Los microRNAs (miRNAs) son RNAs pequeños no codificantes que regulan negativamente la expresión génica y que se encargan de controlar multitud de genes y vías celulares¹⁵. Realizan su función a nivel post-transcripcional, puesto que se unen a las regiones 3' no traducidas de sus RNA mensajeros (mRNA) diana, impidiendo así su traducción a proteína³². Estos miRNA se sintetizan en el núcleo a partir de un pre-miRNA con estructura de horquilla, que es procesado enzimáticamente hasta generar un miRNA maduro de cadena simple, de unos 21-23 nucleótidos³³. Los miRNAs pueden actuar tanto a nivel intracelular como intercelular. Su acción intercelular está mediada por exosomas, que son unas vesículas extracelulares de entre 40 y 100 nm que participan en toda una variedad de procesos fisiológicos y fisiopatológicos. Los exosomas tienen la función de transportar en su interior toda una serie de sustancias, como proteínas, mRNAs y miRNAs, de una célula a otra, facilitando así la comunicación intercelular¹⁵. Así, los exosomas son capaces de modular el fenotipo de las células a las que se unen mediante la transferencia de su contenido, ya sea de forma paracrina como endocrina³³. Recientemente, se han encontrado evidencias que indican que los exosomas tienen unos roles críticos en diversos aspectos de la progresión del cáncer, desde su iniciación y proliferación hasta su invasión y posterior metástasis. Además, también se han asociado al organotropismo metastásico, que se define como la propensión de algunos cánceres a formar metástasis en órganos concretos, como la del cáncer colorrectal y su metástasis hepática¹⁵.

En cuanto a su papel en la iniciación y progresión del cáncer, diversos estudios han demostrado que existen miRNAs relacionados con la desregulación de vías y factores clave del proceso tumorigénico a nivel intracelular¹⁵. Por un lado, multitud de miRNAs se han asociado con una activación de la vía Wnt/ β -catenina, como los miR-135a/b y miR-494, que actúan inhibiendo a APC, activando de esta forma la proliferación celular. Además, miRNAs como el miR-20 y el miR-21 impiden la acción de la proteína PTEN, un supresor tumoral clave que, en condiciones normales, impide la activación descontrolada de la vía de señalización EGFR, e impidiendo por lo tanto el crecimiento y la división celular. Por otro lado, los miRNAs han sido relacionados con la inactivación de la vía de señalización del TGF- β , en la que miRNAs

como el miR-135b y el miR-301a impiden la síntesis del receptor del TGF- β , de manera que se ve inhibido el proceso de apoptosis y estimulada la progresión tumoral. Asimismo, múltiples miRNAs (por ejemplo: el miR-125b, el miR-504 y el miR-30) también muestran una acción supresora de la función del supresor tumoral p53, promoviendo la progresión del cáncer colorrectal³³.

A nivel metastático, se han encontrado miRNAs que regulan tanto factores clave de la migración e invasión celular como que predisponen a que el tumor secundario se genere en un tejido específico³³. Por ejemplo, el miR-19 se encuentra en niveles significativamente elevados en las células de cáncer colorrectal e inhibe la expresión de la transglutaminasa-2 (TG2), lo que proporciona a las células una habilidad invasiva alterada. La TG2 es una enzima crítica de la matriz extracelular y tiene un papel importante en el microambiente tumoral y en la metástasis del cáncer colorrectal³². Otro estudio muestra que la sobreexpresión del miR-855-5p induce la migración celular de forma significativa, así como la invasión y la metástasis del hígado mediante su actuación sobre CPEB2 (*cytoplasmic polyadenylation element binding protein 2*), que es necesaria para la progresión del ciclo celular³⁴. Otro ejemplo sería el miR-429a, que tiene SOX-2 como diana, promoviendo la tumorigénesis y el proceso de transición epitelio-mesénquima que permite a las células de cáncer colorrectal migrar a otros tejidos³⁵.

Respecto a su rol en el organotropismo metastásico, se ha visto que la liberación de miRNAs dentro de exosomas desde las células de cáncer colorrectal es capaz de preparar nicho secundario y de remodelar el microambiente hepático para que se produzca la metástasis hepática. Esto se debe a que los exosomas derivados de tumores (*tumor-derived exosomes*, TEX) poseen en su membrana lipídica una composición de integrinas, que se unen a receptores específicos de las células diana y preparan el nicho pre-metastásico mediante la inducción de señales proinflamatorias. De hecho, diversos estudios han asociado la presencia de dos receptores de quimiocinas, CXCR4 y CCR6, con la metástasis del cáncer colorrectal al hígado y se considera que son los responsables de este organotropismo³³. Así, se ha visto en ratones que los exosomas derivados de las células de cáncer colorrectal son endocitados por los macrófagos residentes en el hígado y les inducen la polarización al fenotipo secretor de IL-6. Además, la presencia del miR-21 en estos exosomas incrementa la invasión de los macrófagos e induce la formación de un microambiente inflamatorio en el hígado, lo que promueve la metástasis hepática por las células de cáncer colorrectal³⁶. Concretamente, el miR-21 favorece la expresión de citoquinas proinflamatorias como IL-6, IL-23, IL-17 e IL-21. Y, de hecho, la expresión de miR-21 se encuentra regulada por la propia IL-6 y la presencia de especies reactivas de oxígeno, estableciendo así una retroalimentación positiva

proinflamatoria^{37,38}. De esta forma, los exosomas y su composición de membrana determinarían el nicho en el que se generaría el tumor secundario, mientras que los miRNAs de su interior estimularían la tumorigénesis y la inflamación del tejido³³.

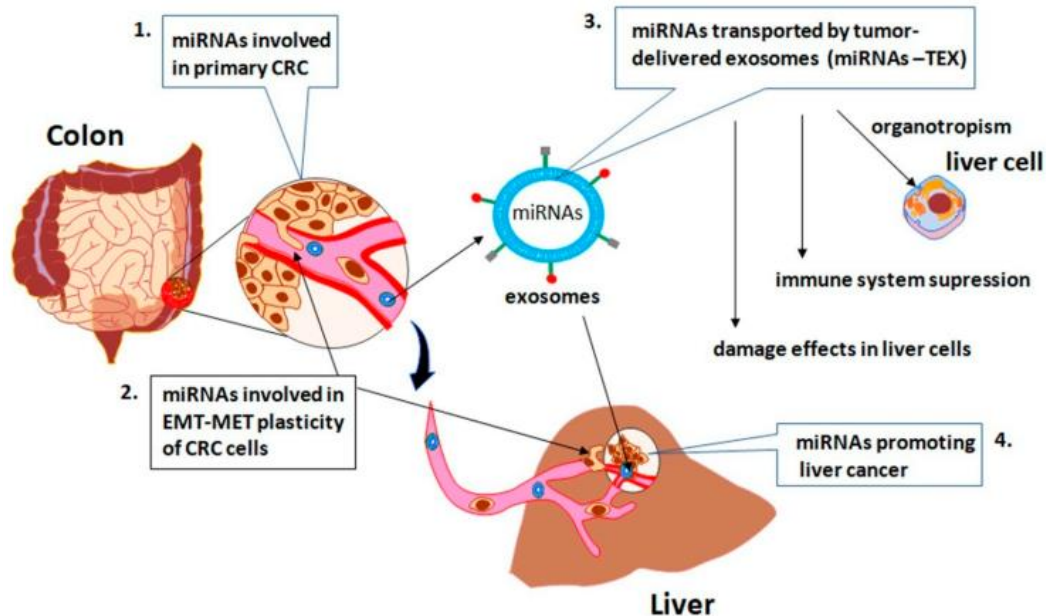


Figura 5³³: Papel de los miRNAs en la metástasis del cáncer colorrectal en el hígado.

También se ha observado que los miRNAs tienen papeles reguladores de las condiciones características de las enfermedades inflamatorias intestinales, de manera que su desregulación puede causar una inflamación crónica en el colon. Por ejemplo, el *cluster* formado por los miR-17, 18, 19, 20, 92 y 106 promueve la diferenciación de las células Th17, afectando así de forma indirecta a la expresión de IL-17 y de IFN- γ y promoviendo el estado inflamado del colon³⁷. Además, existen otros miRNAs asociados a un incremento en los niveles de IL-17, como el miR-155, cuyos niveles se encuentran elevados en las enfermedades inflamatorias¹⁹. Y, aunque actualmente no se conoce la diana de actuación del miR-155, sí que se ha relacionado con una inducción de la colitis ulcerosa, dado que se ha observado que tiene un papel importante en la activación de la respuesta de las células T, en concreto las Th17³⁹. Adicionalmente, ciertos miRNAs, como el miR-34a, han mostrado una acción inhibitoria de la síntesis de ROS mediante el silenciamiento de los genes que codifican para los complejos mitocondriales y para enzimas prooxidantes. Por lo tanto, estos miRNAs contribuirían a la resistencia a la apoptosis y a la supervivencia de las células tumorales³⁸. De esta manera, los miRNAs no sólo tienen roles cruciales durante la evolución del proceso tumorigénico del colon, sino que también están implicados en la inducción de la inflamación que acompaña a la tumorigénesis y en la promoción del crecimiento tumoral³⁷.

4.3. Tratamientos Quimiopreventivos Antiinflamatorios

4.3.1. Ácido 5-Aminosalicílico

El ácido 5-aminosalicílico (*5-aminosalicylic acid*, 5-ASA) es un fármaco antiinflamatorio estructuralmente similar al ácido salicílico y a los fármacos antiinflamatorios no esteroideos, los cuales tienen efectos potencialmente quimiopreventivos. De hecho, el 5-ASA y sus derivados son los agentes quimiopreventivos más investigados para prevenir el cáncer colorrectal⁴⁰. Además, el 5-ASA forma parte de la terapia más empleada para los pacientes con colitis ulcerosa leve y moderada, es un fármaco tolerado por la gran mayoría de los pacientes y tiene unos efectos secundarios sistémicos y una toxicidad gastrointestinal muy limitados. Esto viene dado por su baja disponibilidad sistémica, ya que el 5-ASA se metaboliza rápidamente a nivel de la mucosa del intestino y se convierte en un metabolito inactivo. Así, se evitan efectos secundarios como los del ácido acetilsalicílico y de los fármacos antiinflamatorios no esteroideos, cuya administración puede provocar hasta sangrado gastrointestinal⁴¹.

El mecanismo de acción por el que el 5-ASA reduce el número de tumores, el crecimiento tumoral y la proliferación celular e incrementa la apoptosis de las células tumorales aún no se conoce completamente. Sin embargo, sí se sabe que sus propiedades antiproliferativas están mediadas tanto por una vía dependiente de COX-2 como por una vía independiente de COX-2. De esta manera, se ha visto que uno de los efectos del 5-ASA vienen de su capacidad para inhibir la síntesis de prostaglandinas mediante el bloqueo de COX-2^{40,42}. Por otro lado, el mecanismo de acción del 5-ASA independiente de COX-2 previene el daño oxidativo del DNA en la mucosa del colon e induce la apoptosis mediante la inhibición de la activación de NF- κ B que se produce en respuesta a citoquinas⁴³. Es más, el 5-ASA se ha visto relacionado con la estimulación del efecto proapoptótico de los ligandos de PPAR- γ (*peroxisome proliferators-activated receptor- γ*), que son conocidos por actuar como agentes antiproliferativos en el colon humano y por inducir la apoptosis de las células de cáncer colorrectal⁴². Adicionalmente, en estudios realizados con cultivos de células de cáncer colorrectal (concretamente, Colo205) mostraron que el 5-ASA alteraba el potencial de la membrana mitocondrial interna, promoviendo así la síntesis de ROS y la muerte de estas células⁴⁴. De esta forma, actualmente el 5-ASA está siendo considerado como el agente quimiopreventivo ideal del cáncer colorrectal, dado que no sólo puede emplearse en los pacientes con colitis ulcerosa por sus propiedades antiinflamatorias, sino que además tiene otras características que le aportan un efecto anticancerígeno⁴¹.

4.3.2. Pentoxifilina

La pentoxifilina (PTX) es un derivado de la metilxantina que funciona como un inhibidor competitivo no selectivo de la fosfodiesterasa con actividad antioxidante y es empleada como tratamiento en los desórdenes vasculares periféricos. No obstante, se ha visto que la PTX reprime la producción de TNF- α y el estrés oxidativo, y mejora las condiciones fisiopatológicas de las enfermedades inflamatorias crónicas⁴⁵. Diversos estudios muestran que la administración de PTX suprime la formación de criptas intestinales aberrantes y de microadenomas. Esto tendría lugar mediante la atenuación del estrés oxidativo y de la reducción de los niveles de citoquinas proinflamatorias como TNF- α en la mucosa del colon⁴⁶. Así, se ha demostrado que la administración de PTX hace que disminuyan los niveles de 8-oxoguanina en orina y de metabolitos reactivos de oxígeno (d-ROMs) en suero, que son marcadores de estrés oxidativo sistémico, en ratas a las que se les ha inducido una inflamación colorrectal severa. Y, de hecho, en el mismo estudio, se observó cómo los grupos tratados con PTX no sólo tenían inhibida la expresión de TNF- α , sino que también había una disminución significativa de los niveles de IL-6 y de NF- κ B respecto al grupo no tratado¹. Además, el tratamiento con PTX también parece reducir la expresión de la COX-2 en la mucosa del colon, lo que también podría contribuir a la inhibición del desarrollo de lesiones del colon premalignas⁴⁶.

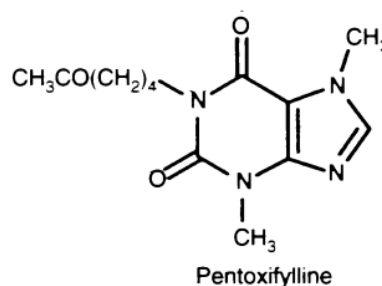


Figura 6⁴⁵: Estructura de la pentoxifilina.

4.3.3. Polifenoles

Los polifenoles son fitoquímicos abundantes en plantas de los que podemos encontrar cuatro tipos principales: los flavonoides, los ácidos fenólicos, los estilbenos y los lignanos. Los compuestos polifenólicos se caracterizan por poseer un anillo de benceno con uno o más grupos hidroxilos enlazados, y pueden ser aislados de plantas incluyendo frutas y verduras e incluso podemos encontrarlos en bebidas como el té, el té verde, el vino tinto y el café⁴⁷. Estos polifenoles derivados de la dieta tienen propiedades antiinflamatorias y anticancerígenas, dado que pueden afectar a varias cascadas de señalización y factores de transcripción⁴⁸. Así, se ha visto que son capaces de inhibir la proliferación celular, la invasión, la angiogénesis y la metástasis, e incluso pueden promover la apoptosis⁴⁷.

Durante años, los polifenoles han sido estudiados por su capacidad de neutralizar los radicales libres que se generan tanto endógenamente como a causa de radiación o de xenobióticos. Sin embargo, recientemente se ha observado que también tienen propiedades antiinflamatorias y antioxidantes que son consecuencia de su capacidad de disminuir los

niveles de NF- κ B, modulando así una de las vías cruciales en la inflamación y en el cáncer⁴⁸. Por ejemplo, los polifenoles presentes en el aceite de oliva, uno de los componentes característicos de la dieta mediterránea, inhiben algunos de los procesos inflamatorios más importantes a nivel de colon mediante su interacción con NF- κ B, así como la inhibición de la producción de óxido nítrico, IL-8 e IL-6. Así, el aceite de oliva podría proponerse como un elemento de la dieta capaz de prevenir y contrarrestar la progresión de las enfermedades inflamatorias intestinales, reduciendo así el riesgo de cáncer colorrectal³.

Uno de los polifenoles más estudiados es el resveratrol (*trans*-3,5,4'-trihidroxiestilbeno), que es especialmente abundante en cacahuètes, uvas y bayas, y que es producido por las plantas como un mecanismo de respuesta al daño mecánico, a la infección por hongos o a la radiación ultravioleta. Al resveratrol también se le han encontrado efectos anticancerígenos, dado que se ha visto que impide tanto la iniciación como la progresión tumoral. Así, diversos estudios muestran cómo el resveratrol tiene la capacidad de promover el arresto del ciclo celular, llevando así a la apoptosis, y de inhibir la expresión de la óxido nítrico sintasa, previniendo así el crecimiento y la migración tumoral. Además de inhibir la actividad de NF- κ B y de la COX-2, el resveratrol puede prevenir el daño en el DNA, ya que también puede actuar como un antioxidante⁴⁹. Respecto al cáncer colorrectal, el resveratrol jugaría un papel preventivo importante especialmente en aquellos pacientes con enfermedades inflamatorias intestinales, puesto que es capaz de reducir la inflamación y disminuye así el riesgo de tumorigénesis. De hecho, también parece ser capaz de regular la invasividad de las células de cáncer colorrectal, ya que promueve la expresión de la sirtuína-1, inhibe la vía inflamatoria mediada por NF- κ B y provoca la pérdida de moléculas de adhesión focal de las células tumorales, por lo que éstas sufren apoptosis⁵⁰. Adicionalmente, se han estudiado los efectos del resveratrol en combinación con el 5-fluorouracilo, un compuesto empleado en la quimioterapia de los pacientes con cáncer colorrectal en etapas avanzadas. Estas investigaciones muestran que el resveratrol indujo un desequilibrio de las defensas antioxidantes mitocondriales en cultivos celulares de cáncer colorrectal (concretamente HT-29 y SW-620). Esto llevó a un incremento de los niveles intracelulares de ROS, lo que sensibilizaba a las células ante el tratamiento con 5-fluorouracilo e incrementaba el estrés oxidativo citotóxico causado por este compuesto en las células de cáncer colorrectal⁵¹. No obstante, aunque el resveratrol es uno de los agentes quimiopreventivos con mayor potencial, se ha visto que cuando se administra oralmente se conjuga rápidamente y pierde su efectividad, por lo que se están estudiando derivados que tengan una biodisponibilidad mayor⁵².

5. Conclusión

Tal y como se ha visto a lo largo del trabajo, la inflamación juega un papel muy importante en el desarrollo del cáncer colorrectal, ya no sólo en el proceso de iniciación de este tipo de cáncer, sino también durante la progresión del tumor y su metástasis. En primera instancia, hemos visto cómo el proceso inflamatorio que tiene lugar durante la colitis ulcerosa es el principal responsable de la transformación celular que precede al cáncer colorrectal asociado a colitis. En estas etapas iniciales, el sistema inmune y el microambiente oxidativo e inflamatorio que se genera son determinantes para la transformación celular. De esta forma, tanto los fibroblastos asociados al cáncer como las células inmunitarias (principalmente los macrófagos, las células T y los neutrófilos) que se infiltran en la mucosa del colon cuando hay un brote de colitis ulcerosa favorecen la formación de un entorno proinflamatorio, con un incremento en los niveles de especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno y con la secreción de toda una serie de factores que favorecen el proceso tumoral. Así, el proceso neoplásico del colon se iniciaría como consecuencia tanto de la formación del ambiente idóneo para que tengan lugar mutaciones en el DNA, como por la desregulación de las células del sistema inmune encargadas de detectar las células transformadas.

Durante toda esta evolución, las células tumorales expresan una serie de proteínas, como pueden ser los factores NF- κ B, HIF-1 y Nrf2, que se encargan tanto de mantener el estado inflamatorio (llevando a la síntesis y liberación de citoquinas) y oxidativo (por la inducción de la síntesis de ROS y RNS), de favorecer la angiogénesis, inhibir la apoptosis y de promover el desarrollo de la capacidad invasiva de las células tumorales. La acción de estos factores se vería potenciada por la presencia de toda una serie de miRNAs, cuya función radica en impedir la traducción de proteínas inhibitoras de las vías promotoras de la tumorigénesis, de forma que se ve aún más estimulado el desarrollo neoplásico. Estos miRNAs tienen la capacidad de incentivar la metástasis tumoral, de manera que pueden inducir tanto la síntesis de proteínas implicadas en la migración e invasión celular, como la preparación del tejido donde se generará el tumor secundario, que en el caso del cáncer colorrectal suele ser el hígado. Además, también se han encontrado miRNAs involucrados en la respuesta inflamatoria del sistema inmune, pudiendo tener un papel crucial en el desarrollo de las enfermedades inflamatorias intestinales, así como en el inicio del proceso neoplásico del cáncer colorrectal asociado a colitis.

Actualmente, una parte de la investigación del cáncer colorrectal se está basando en el avance de terapias quimiopreventivas, con el fin de poder contrarrestar y frenar los efectos

que tiene el proceso inflamatorio con la tumorigénesis. Estas terapias son especialmente útiles en el cáncer colorrectal asociado a colitis, dado que la inflamación es el principal detonante del proceso cancerígeno. Además, estos fármacos no sólo han mostrado tener importantes efectos antioxidantes, sino que también parecen poseer toda una serie de propiedades que disminuyen la progresión tumorigénica, siendo así capaces de actuar a distintos niveles.

6. Bibliografía

1. Shirakami, Y. *et al.* Inhibitory effects of pentoxifylline on inflammation-related tumorigenesis in rat colon. *Oncotarget* **9**, 33972–33981 (2018).
2. Kim, K.-J. *et al.* Oligonol prevented the relapse of dextran sulfate sodium-ulcerative colitis through enhancing NRF2-mediated antioxidative defense mechanism. *J. Physiol. Pharmacol.* **69**, (2018).
3. Serra, G. *et al.* Olive oil polyphenols reduce oxysterols -induced redox imbalance and pro-inflammatory response in intestinal cells. *Redox Biol.* **17**, 348–354 (2018).
4. Dou, Y.-X. *et al.* Self-nanoemulsifying drug delivery system of bruceine D: a new approach for anti-ulcerative colitis. *Int. J. Nanomedicine* **13**, 5887–5907 (2018).
5. Wang, Z. *et al.* Oxidative stress and carbonyl lesions in ulcerative colitis and associated colorectal cancer. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2016**, (2016).
6. Liu, D. *et al.* NF- κ B and Nrf2 pathways contribute to the protective effect of Licochalcone A on dextran sulphate sodium-induced ulcerative colitis in mice. *Biomed. Pharmacother.* **102**, 922–929 (2018).
7. Xu, L.-L. *et al.* 3-(1H-Benzo[d]imidazol-6-yl)-5-(4-fluorophenyl)-1,2,4-oxadiazole (DDO7232), a Novel Potent Nrf2/ARE Inducer, Ameliorates DSS-Induced Murine Colitis and Protects NCM460 Cells against Oxidative Stress via ERK1/2 Phosphorylation . *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2018**, 1–16 (2018).
8. Scarpa, M. *et al.* Inflammatory colonic carcinogenesis: A review on pathogenesis and immunosurveillance mechanisms in ulcerative colitis. *World J. Gastroenterol.* **20**, 6774–6785 (2014).
9. Kim, E. R. & Chang, D. K. Colorectal cancer in inflammatory bowel disease: The risk, pathogenesis, prevention and diagnosis. *World J. Gastroenterol.* **20**, 9872–9881 (2014).
10. Terzić, J., Grivennikov, S., Karin, E. & Karin, M. Inflammation and Colon Cancer. *Gastroenterology* **138**, 2101–2114 (2010).
11. Passardi, A., Canale, M., Valgiusti, M. & Ulivi, P. Immune checkpoints as a target for colorectal cancer treatment. *Int. J. Mol. Sci.* **18**, (2017).
12. Yashiro, M. Ulcerative colitis-associated colorectal cancer. *World J. Gastroenterol.* **20**, 16389–16397 (2014).
13. de Vries, N. L., Swets, M., Vahrmeijer, A. L., Hokland, M. & Kuppen, P. J. K. The immunogenicity of colorectal cancer in relation to tumor development and treatment. *Int. J. Mol. Sci.* **17**, (2016).
14. Geng, F., Wang, Z., Yin, H., Yu, J. & Cao, B. Molecular Targeted Drugs and Treatment of Colorectal Cancer: Recent Progress and Future Perspectives. *Cancer Biother. Radiopharm.* **32**, 149–160 (2017).
15. Bhome, R. *et al.* Exosomal microRNAs derived from colorectal cancer-associated fibroblasts: Role in driving cancer progression. *Aging (Albany. NY).* **9**, 2666–2694 (2017).
16. Norton, S. E., Ward-Hartstonge, K. A., Taylor, E. S. & Kemp, R. A. Immune cell interplay in colorectal cancer prognosis. *World J. Gastrointest. Oncol.* **7**, 221 (2017).
17. Zhang, D. *et al.* Metabolic Reprogramming of Cancer-Associated Fibroblasts by IDH3 α

- Downregulation. *Cell Rep.* **10**, 1335–1348 (2015).
18. Mariani, F., Sena, P. & Roncucci, L. Inflammatory pathways in the early steps of colorectal cancer development. *World J. Gastroenterol.* **20**, 9716–31 (2014).
 19. Yin, Y. *et al.* The immune-microenvironment confers chemoresistance of colorectal cancer through macrophage-derived IL6. *Clin. Cancer Res.* **23**, 7375–7387 (2017).
 20. Mao, H. *et al.* Feedback mechanisms between M2 macrophages and Th17 cells in colorectal cancer patients. *Tumor Biol.* **37**, 12223–12230 (2016).
 21. Coppola, A. *et al.* NK Cell Inflammation in the Clinical Outcome of Colorectal Carcinoma. *Front. Med.* **2**, 1–6 (2015).
 22. Zielińska-Przyjemska, M., Olejnik, A., Dobrowolska-Zachwieja, A., Łuczak, M. & Baer-Dubowska, W. DNA damage and apoptosis in blood neutrophils of inflammatory bowel disease patients and in Caco-2 cells in vitro exposed to betanin. *Postepy Hig. Med. Dosw. (Online)* **70**, 265–71 (2016).
 23. Fearon, E. R. & Vogelstein, B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* **61**, 759–67 (1990).
 24. Bordonaro, M. Crosstalk between wnt signaling and RNA processing in colorectal cancer. *J. Cancer* **4**, 96–103 (2013).
 25. Terzić, J., Grivennikov, S., Karin, E. & Karin, M. Inflammation and Colon Cancer. *Gastroenterology* **138**, 2101–2114 (2010).
 26. Roelands, J. *et al.* Immunogenomic classification of colorectal cancer and therapeutic implications. *Int. J. Mol. Sci.* **18**, 1–20 (2017).
 27. Luo, C. & Zhang, H. The Role of Proinflammatory Pathways in the Pathogenesis of Colitis-Associated Colorectal Cancer. *Mediators Inflamm.* **2017**, 1–8 (2017).
 28. Ioannou, M. *et al.* HIF-1 α in colorectal carcinoma: Review of the literature. *J. B.U.ON.* **20**, 680–689 (2015).
 29. Müller-Edenborn, K. *et al.* Hypoxia attenuates the proinflammatory response in colon cancer cells by regulating I κ B. *Oncotarget* **6**, (2015).
 30. Wei, L. *et al.* Lactate promotes PGE2 synthesis and gluconeogenesis in monocytes to benefit the growth of inflammation-associated colorectal tumor. *Oncotarget* **6**, (2015).
 31. Gonzalez-Donquiles, C. *et al.* The NRF2 transcription factor plays a dual role in colorectal cancer: A systematic review. *PLoS One* **12**, 1–14 (2017).
 32. Huang, S. *et al.* MicroRNA biomarkers in colorectal cancer liver metastasis. *J. Cancer* **9**, 3867–6873 (2018).
 33. Balacescu, O. *et al.* The Impact of miRNA in Colorectal Cancer Progression and Its Liver Metastases. *Int. J. Mol. Sci.* **19**, 3711 (2018).
 34. Lam, C. S.-C. *et al.* Identification of microRNA 885-5p as a novel regulator of tumor metastasis by targeting CPEB2 in colorectal cancer. *Oncotarget* **8**, 26858–26870 (2017).
 35. Li, J. *et al.* MiR-429 is an independent prognostic factor in colorectal cancer and exerts its anti-apoptotic function by targeting SOX2. *Cancer Lett.* **329**, 84–90 (2013).
 36. Shao, Y. *et al.* Colorectal Cancer-derived Small Extracellular Vesicles Establish an Inflammatory Pre-metastatic Niche in Liver Metastasis. *"Applied Catal. A, Gen.* 1–19 (2018). doi:10.1016/j.apcata.2013.01.023
 37. Josse, C. & Bours, V. Non-coding RNAs in Colorectal Cancer. **937**, (2016).
 38. Lin, J., Chuang, C.-C. & Zuo, L. Potential roles of microRNAs and ROS in colorectal cancer: diagnostic biomarkers and therapeutic targets. *Oncotarget* **8**, 17328–17346 (2017).
 39. Singh, U. P. *et al.* miR-155 deficiency protects mice from experimental colitis by reducing T helper type 1/type 17 responses. *Immunology* **143**, 478–489 (2014).

40. Qiu, X., Ma, J., Wang, K. & Zhang, H. Chemopreventive effects of 5-aminosalicylic acid on inflammatory bowel disease-associated colorectal cancer and dysplasia: a systematic review with meta-analysis. *Oncotarget* **8**, 1031–1045 (2017).
41. Margagnoni, G., Pagnini, C., Menasci, F., Festa, S. & Delle Fave, G. Critical review of the evidence on 5-aminosalicylate for chemoprevention of colorectal cancer in ulcerative colitis: a methodological question. *Curr. Clin. Pharmacol.* **9**, 84–90 (2014).
42. Rousseaux, C. *et al.* The 5-aminosalicylic acid antineoplastic effect in the intestine is mediated by PPAR γ . *Carcinogenesis* **34**, 2580–2586 (2013).
43. Mbodji, K. *et al.* Adjunct therapy of n-3 fatty acids to 5-ASA ameliorates inflammatory score and decreases NF- κ B in rats with TNBS-induced colitis. *J. Nutr. Biochem.* **24**, 700–705 (2013).
44. Fina, D. *et al.* 5-Aminosalicylic acid enhances anchorage-independent colorectal cancer cell death. *Eur. J. Cancer* **42**, 2609–2616 (2006).
45. Ching, L. M. *et al.* Interaction of thalidomide, phthalimide analogues of thalidomide and pentoxifylline with the anti-tumour agent 5,6-dimethylxanthenone-4-acetic acid: Concomitant reduction of serum tumour necrosis factor alpha and enhancement of anti-tumour activity. *Br. J. Cancer* **78**, 336–343 (1998).
46. Fukuta, K. *et al.* Preventive effects of pentoxifylline on the development of colonic premalignant lesions in obese and diabetic mice. *Int. J. Mol. Sci.* **18**, 1–11 (2017).
47. Little, C. H., Combet, E., McMillan, D. C., Horgan, P. G. & Roxburgh, C. S. D. The role of dietary polyphenols in the moderation of the inflammatory response in early stage colorectal cancer. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **57**, 2310–2320 (2017).
48. Mileo, A. M., Nisticò, P. & Miccadei, S. Polyphenols: Immunomodulatory and Therapeutic Implication in Colorectal Cancer. *Front. Immunol.* **10**, 729 (2019).
49. Ji, Q. *et al.* Resveratrol suppresses epithelial-to-mesenchymal transition in colorectal cancer through TGF- β 1/Smads signaling pathway mediated Snail/E-cadherin expression. *BMC Cancer* **15**, 1–12 (2015).
50. Buhrmann, C., Shayan, P., Goel, A. & Shakibaei, M. Resveratrol regulates colorectal cancer cell invasion by modulation of focal adhesion molecules. *Nutrients* **9**, (2017).
51. Santandreu, F. M., Valle, A., Oliver, J. & Roca, P. Resveratrol potentiates the cytotoxic oxidative stress induced by chemotherapy in human colon cancer cells. *Cell. Physiol. Biochem.* **28**, 219–228 (2011).
52. Carter, L. G., D’Orazio, J. A. & Pearson, K. J. Resveratrol and cancer: focus on in vivo evidence. *Endocr. Relat. Cancer* **21**, R209–R225 (2014).