



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR
Ciências da Saúde

A Aspirina na Prevenção e Tratamento do Cancro colo-rectal

Francisco Beja da Costa Dá Mesquita Faustino

Dissertação para obtenção do Grau de mestre em
Medicina
(ciclo de estudos integrado)

Orientador: Prof. Doutor Miguel Castelo-Branco

Covilhã, Janeiro de 2018

Agradecimentos

Em primeiro lugar gostaria de agradecer ao meu orientador, o Professor Doutor Miguel Castelo-Branco, que foi incansável na ajuda, tanto ao nível da escolha do tema da monografia, como também na orientação durante o seu desenvolvimento.

Tenho que agradecer à Faculdade de Ciências da Saúde por todos estes anos de aprendizagem das ciências médicas e pelas oportunidades que me proporcionou no sentido de me tornar melhor aluno e futuro médico.

Gostaria, por fim, de agradecer à minha família e aos meus amigos pelo apoio, interesse e entusiasmo desde que comecei a estudar medicina.

Resumo

Nos dias de hoje já existe bastante informação que corrobora a hipótese do ácido acetilsalicílico mais conhecido como aspirina poder ter uma acção efectiva não só, na prevenção, bem como no tratamento do cancro colo-rectal (CCR).

Um conjunto de estudos randomizados e controlados de fase III está a decorrer no sentido de avaliar e aprofundar o conhecimento sobre o possível papel do ácido acetilsalicílico na prevenção e tratamento deste tipo de cancro.

Apesar de na maioria dos casos ser bem tolerado, o ácido acetilsalicílico apresenta alguns efeitos adversos que precisam de ser tidos em consideração como é o caso da dispepsia e da hemorragia. Deste modo, será importante aprofundar o debate sobre as vantagens e os riscos do possível uso do medicamento nos casos de cancro.

Nesta revisão pretende-se reunir o conhecimento existente que sugere um papel do ácido acetilsalicílico na prevenção e tratamento do CCR. Define-se igualmente como objectivo uma breve discussão sobre a existência de potenciais biomarcadores que auxiliem na avaliação da resposta ao ácido acetilsalicílico. Para finalizar, tenciona-se fazer uma reflexão sobre as vantagens e as desvantagens do uso do medicamento em questão no contexto do cancro.

Palavras-chave: Cancro colo-rectal, Ácido acetilsalicílico, Inflamação, Biomarcadores, Quimioprevenção.

Abstract

Nowadays, there is a lot of information that supports the hypothesis that acetylsalicylic acid better known as aspirin can have an effective action not only in prevention but also in the treatment of colorectal cancer (CRC).

A set of randomized, controlled phase III studies is underway to evaluate and deepen the potential role of acetylsalicylic acid in the prevention and treatment of this type of cancer.

Although in most cases it is well tolerated, acetylsalicylic acid has some adverse effects that need to be taken into account such as dyspepsia and bleeding. In this way, it will be important to deepen the debate on the advantages and risks of the possible use of the drug in cancer cases.

In this review we intend to gather the existing knowledge that suggests a role of acetylsalicylic acid in the prevention and treatment of CRC. A brief discussion on the existence of potential biomarkers that assist in assessing the response to acetylsalicylic acid is also an objective. Finally, it is intended to reflect on the advantages and disadvantages of using the drug in question in the context of cancer.

Key words: Colorectal cancer, Acetylsalicylic acid, Inflammation, Biomarkers, Chemoprevention.

Índice

Agradecimentos	ii
Resumo	iii
Abstract.....	iv
Índice	v
Índice de Figuras	vi
Introdução.....	1
Cancro colo-rectal	1
Aspirina	4
Métodos.....	6
Cancro colo-rectal e Ácido acetilsalicílico	7
Efeitos clínicos do ácido acetilsalicílico no cancro colo-rectal.....	7
Mecanismos COX-dependentes e COX-independentes na acção anti-tumoral	11
Acção do ácido acetilsalicílico na normalização da expressão do EGFR	13
Genética.....	15
Instabilidade genómica.....	15
Silenciamento epigenético	16
Biomarcadores moleculares e genéticos.....	17
Tratamento do Cancro colo-rectal e AINES	19
Vantagens e riscos do ácido acetilsalicílico	21
Conclusão e Cenários futuros	22
Bibliografia.....	24

Índice de Figuras

Figura 1. Mecanismos moleculares envolvidos no desenvolvimento do CCR (10).....	3
Figura 2. Via molecular do NF- κ B que associa a inflamação com o desenvolvimento do CCR (6).....	10

Introdução

Cancro colo-rectal

O cancro colo-rectal (CCR) é o terceiro tipo de cancro mais comum a nível mundial, correspondendo de forma estimada a 9,8% de todos os novos casos de cancro (1,2 milhões de casos anualmente) e a 8,1% de mortes por cancro (1).

Este tipo de carcinoma surge do efeito cumulativo de uma predisposição genética e de factores ambientais. A instabilidade do genoma é um factor essencial na transformação da mucosa colo-rectal para o carcinoma (1).

Três vias moleculares foram identificadas no aparecimento do carcinoma: 1- instabilidade cromossómica; 2- instabilidade dos microssatélites; 3- vias do fenótipo metilador nas ilhas citosina-guanina (ilhas CpG). As mutações nas células da linhagem germinativa são responsáveis pelo CCR hereditário enquanto a acumulação de alterações genéticas e epigenéticas são as causadoras do CCR esporádico (1).

A doença inflamatória intestinal nas suas formas mais comuns, a colite ulcerosa (CU) e a doença de Crohn (DC), está relacionada a um maior risco de desenvolvimento de CCR. Esta associação entre a CU e o CCR está bem estudada.

O risco de desenvolvimento de CCR em indivíduos que sofrem de CU é de 2% após 10 anos, 8% após 20 anos e 18% após 30 anos. Por outro lado, a relação entre a DC e o CCR ainda não é completamente evidente, uma vez que o seu carácter heterogéneo (pode afectar qualquer parte do intestino de forma não contínua) não permite quantificar um risco real (2).

Uma informação importante no contexto deste trabalho foi a descoberta de que os níveis de expressão elevados da COX-2 e da PGE-2 na doença inflamatória intestinal são similares aos presentes no CCR. Em algumas investigações pré-clínicas, observou-se uma diminuição da apoptose das células tumorais em associação a um aumento da proliferação celular, angiogénese e potencial metastático durante o processo inflamatório. (3).

Os AINES, grupo que inclui o ácido acetilsalicílico, têm um efeito anti-inflamatório e anti-tumoral por inibirem a enzima COX-2, isoforma sobre-expressa na DII e CCR. Estes compostos têm também uma acção COX-independente através da regulação positiva de uma série de factores de transcrição, tais como os supressores tumorais EGR-1, ATF3, ATF4, e CHOP e através da regulação negativa dos factores de transcrição Sp1 e β -catenina, do EGFR, do NF- κ B e da atividade do complexo das proteínas metastáticas Smad2/3 (4).

Apesar de todas as desvantagens deste tipo de anti-inflamatórios, como o maior risco de hemorragias, cardiotoxicidade e nefrotoxicidade, o uso destes fármacos demonstrou muitas vantagens.

Para além da inibição da PGE2 pró-tumoral, os AINEs também diminuem o número de citocinas no cólon e recto e nas metástases hepáticas; induzem a expressão de moléculas MHC II na superfície das células do CCR, permitindo o recrutamento e a propagação de uma resposta linfocitária anti-tumoral de forma coordenada e eficaz; atenuam a atividade inibitória das células Treg identificadas no tecido tumoral, promovendo uma resposta inflamatória anti-tumoral eficaz; inibem a supressão sistémica de linfócitos e a atividade das NK em doentes submetidos a uma grande cirurgia e em doentes com CCR, o que se pode traduzir num benefício das taxas de recorrência do CCR e sobrevivência dos doentes; menor probabilidade de desenvolver doença avançada ou metastática; a diminuição da síntese de PGs protetoras através da inibição da COX-2 demonstrou um aumento da sensibilidade do tumor à QT e radioterapia (5).

Com todas estas vantagens deverá ser considerada uma avaliação risco-benefício dependente dos factores de risco de cada indivíduo, no sentido de reduzir o risco de desenvolver CCR, mas tentando evitar os efeitos adversos supracitados comuns na administração crónica.

O cancro colo-rectal (CCR) consiste num conjunto de tumores que afectam o cólon e o recto. Este tipo de cancro é um grande problema de saúde no mundo ocidental, continuando a ser uma das causas mais importantes de morbilidade e mortalidade com mais de 1 milhão de casos diagnosticados anualmente e cerca de 500 000 mortes anuais a nível mundial (6).

Esta associação importante entre a doença inflamatória intestinal e o desenvolvimento de CCR já tinha sido descrita por Burril Crohn em 1925 (7).

Alterações genéticas celulares podem conferir vantagens de crescimento às células, favorecendo o aparecimento tumoral. A proliferação celular é causada pela acumulação de danos no ADN, ficando as células em questão não responsivas aos controlos fisiológicos (Figura 1).

Em Feagins et al., 2009 verifica-se que as mutações genéticas se apresentam como alterações morfológicas. Assim, as células neoplásicas passam a apresentar a capacidade de proliferar sem estímulos exógenos, resistência à senescência celular e à apoptose, capacidade de desenvolver mecanismos de angiogénese, invasão e metastização para outros tecidos (8).

O CCR apresenta inúmeros factores de risco, alguns dos quais relacionados com a dieta e o estilo de vida e outros relacionados com a predisposição genética. A doença inflamatória intestinal constitui-se também como um factor de risco para o CCR (9).

Deste modo, o CCR pode ser classificado como hereditário ou esporádico. O CCR hereditário engloba o hereditário não poliposo (síndrome de Lynch) e o hereditário poliposo (polipose adenomatosa familiar (PAF)), o qual está associado à mutação no gene APC. O CCR pode ainda ser classificado como inflamatório se tiver origem na doença de Crohn ou na colite ulcerosa que na esmagadora maioria dos casos não apresenta etiologia conhecida (6).

Nos casos de doentes com doença inflamatória intestinal, a bibliografia existente verifica que o risco de displasia é ainda influenciado por factores ambientais, genéticos e individuais. Deste modo, o risco pode aumentar com a idade, a duração e a extensão da doença inflamatória, o grau de inflamação, o historial familiar de CCR e o início precoce da doença inflamatória.

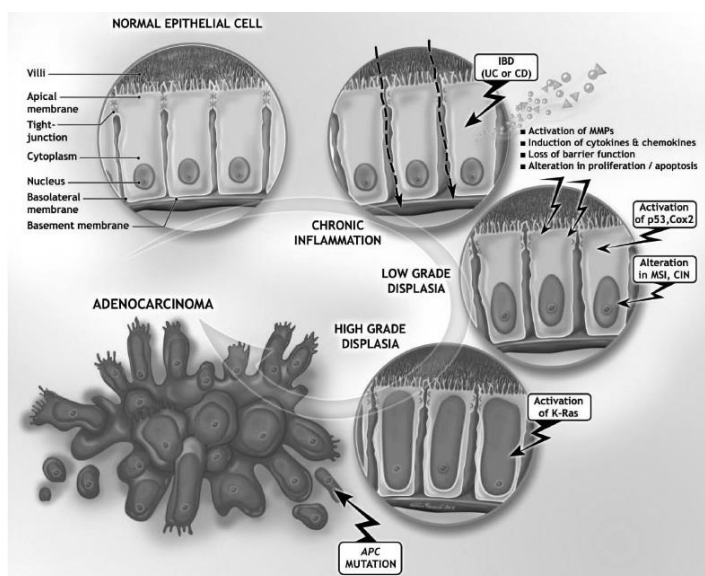


Figura 1. Mecanismos moleculares envolvidos no desenvolvimento do CCR (10).

Aspirina

A primeira enzima na via sintética das prostaglandinas é a prostaglandina G/H sintase também conhecida como COX. Esta enzima converte o ácido araquidónico (AA) em intermediários instáveis como a PGG₂ e a PGH₂, levando igualmente à produção de tromboxano A₂ (TXA₂) e a uma variedade de prostaglandinas (11).

Doses terapêuticas de ácido acetilsalicílico (50-320 mg/dia) reduzem a biossíntese das prostaglandinas através do bloqueio da COX, havendo uma correlação significativa entre a potência do fármaco e a sua actividade anti-inflamatória. Existem duas isoformas de COX, chamadas COX-1 e COX-2. As isoenzimas têm a mesma actividade catalítica mas ao nível da transcrição e processamento pós-transcricional são reguladas de forma distinta (11).

A COX-1 é uma isoforma expressa de forma constitutiva, encontrada na maioria das células e tecidos normais. Nas plaquetas promove a sua activação e agregação e nas células do músculo liso vascular induz a vasoconstrição e proliferação celular. Além disso, a COX-1 é expressa de modo dominante nas células epiteliais gástricas, onde desempenha um papel importante na citoprotecção através da geração de prostaglandinas, como a prostaglandina E₂ (PGE₂). Daí a inibição da COX-1 neste local ser tida, em grande parte, como responsável pelos eventos gástricos que complicam o tratamento com AINE. (11).

As citocinas e os mediadores que se associam à inflamação induzem a produção de COX-2. A COX-2 é expressa de forma constitutiva em algumas áreas do rim e do cérebro, sendo também induzida nas células endoteliais por forças de cisalhamento laminar. É igualmente expressa em certas condições patológicas como é o caso do cancro. Em células tumorais, a principal prostaglandina produzida através da COX-2 é a PGE₂, que desempenha um papel importante na modulação da motilidade, proliferação e resistência à apoptose (11).

O ácido acetilsalicílico altera covalentemente a COX-1 e a COX-2, sendo capaz de inactivar de modo irreversível a actividade da COX. Esta é uma diferença importante em relação a outros AINE, na medida em que a duração dos efeitos do ácido acetilsalicílico está relacionada com a taxa de regeneração da COX em diferentes tecidos-alvo e não com o período de tempo de disposição do fármaco. O ácido acetilsalicílico tem uma semi-vida curta quando administrada in vivo, sendo rapidamente convertida pelas esterases do plasma e dos tecidos em ácido salicílico, que é um inibidor fraco das COX.

O ácido acetilsalicílico em doses baixas (50 -100 mg por dia) é capaz de causar uma inibição quase completa na capacidade plaquetária de gerar TXA₂ por via do bloqueio da COX-1. Devido à inibição irreversível da COX-1 e a limitada capacidade de síntese das plaquetas, o efeito inibitório da função plaquetária pode persistir ao longo do intervalo entre doses (isto é, 24 h). Na administração oral de baixas doses de ácido acetilsalicílico, o efeito inibidor mais significativo ocorre na circulação pré-sistémica, onde o fármaco atinge concentrações mais elevadas. (11).

O impacto de uma dose baixa de ácido acetilsalicílico, administrada uma vez por dia, sobre a actividade da COX-2 in vivo é marginal. Deste modo, através da farmacocinética e da farmacodinâmica do medicamento em questão, percebe-se que o ácido acetilsalicílico actua principalmente na modificação da função das plaquetas como uma consequência da inibição de COX-1. Em doses mais elevadas, o ácido acetilsalicílico pode afectar a COX-2 de uma forma dependente da dose (11).

Métodos

A realização deste trabalho foi baseada em artigos, usando como base de dados o NCBI e o B-On. Critérios de pesquisa foram tidos em conta como a relevância dos artigos e a sua data de publicação. Grande parte dos artigos escolhidos é posterior a 2010, alguns embora anteriores foram tidos em conta devido à sua importância.

As palavras usadas na pesquisa bibliográfica foram “colorectal cancer”, “aspirine”, “inflammation”, “colorectal cancer associated to aspirine”, “colorectal cancer quimioprevention”, entre outras. Esta pesquisa foi realizada desde Setembro de 2016 a Julho de 2017. A revisão está escrita não cumprindo o acordo ortográfico.

Câncro colo-rectal e Ácido acetilsalicílico

Efeitos clínicos do ácido acetilsalicílico no câncro colo-rectal

O ácido acetilsalicílico é um medicamento muito utilizado embora em doses reduzidas na prevenção das doenças cardiovasculares, no entanto tem demonstrado resultados positivos em estudos clínicos, prevenindo a recorrência de adenomas e diminuindo a incidência e mortalidade atribuídas ao CCR.

Estudos epidemiológicos de caso - controlo e de coorte associam o uso de baixas doses de ácido acetilsalicílico (50-100 mg) a um menor risco de desenvolvimento de CCR. Uma análise de 662.424 homens e mulheres que participaram num estudo de coorte (Cancer Prevention Study II) demonstrou que o uso diário de ácido acetilsalicílico por pelo menos 5 anos está associado a uma redução de cerca de 32% do risco de aparecimento de CCR (12).

Outros 2 estudos de coorte realizados nos Estados Unidos que incluíram 47.364 homens e 82.911 mulheres mostraram que os indivíduos que tomavam regularmente ácido acetilsalicílico (> 2 vezes por semana) têm 21% e 23% menor risco de vir a desenvolver CCR durante períodos de seguimento de 18 e 20 anos, respectivamente. (13) (14).

Numa outra análise de um estudo de coorte (Nurses Health study cohort) em que participaram 79.439 mulheres sem história de doença cardiovascular ou câncro verificou-se que as participantes que tomavam ácido acetilsalicílico regularmente apresentavam uma redução do risco de morrer por CCR em cerca de 28% e de morrer por qualquer outro tipo de câncro em 12% (15).

Estudos clínicos têm chegado a conclusões coerentes com os estudos epidemiológicos supracitados, associando também o ácido acetilsalicílico a uma redução do risco de vir a desenvolver CCR.

Em 2010, Rothwell et al. obteve alguns dados novos sobre este tema em 4 estudos randomizados que foram originalmente desenvolvidos para avaliar os efeitos do ácido acetilsalicílico na prevenção de doenças cardiovasculares (DCV) (16).

Estes estudos avaliaram diferentes populações com DCV que incluíam 10.224 homens de baixo risco e 3809 homens e mulheres de alto risco. A dosagem de ácido acetilsalicílico variou entre 75-1200 mg/dia, a duração do tratamento foi em média de 6 anos e o período de seguimento foi em média de 18 anos. No final, verificou-se que o tratamento com ácido acetilsalicílico (75-500 mg/dia) reduzia em 24% o risco de vir a desenvolver CCR num período de 20 anos e diminuía ainda em 35% o risco de vir a morrer por CCR, sendo que o benefício aumentava com a duração do tratamento (16).

Os mesmos autores publicaram posteriormente um estudo em que compararam os efeitos da toma diária de ácido acetilsalicílico a longo prazo com o risco de morte devido a todos os tipos de cancro (17).

Este incluiu informação de 8 estudos randomizados (25.570 pacientes, 674 mortes por cancro), concluindo-se que o ácido acetilsalicílico reduz o risco de morte por cancro, mas que o benefício é só aparente depois de 5 anos de tratamento. A redução absoluta atingiu os 7 % no risco de morte por cancro em 20 anos nos pacientes com idade superior a 65 anos. Nos 3 estudos que só incluíram indivíduos com tratamentos com duração igual ou superior a 5 anos verificou-se uma diminuição em cerca de 40% no risco de morte por CCR em 20 anos (17).

Tal como é explicado em Sostres et al., 2014 apesar de todos estes dados serem compatíveis com uma associação entre o ácido acetilsalicílico e o menor risco de desenvolvimento de CCR, é necessário ter em consideração que os estudos em questão foram desenvolvidos para analisar a prevenção das DCV, pelo que estes estudos não foram originalmente desenhados para avaliar a incidência e a mortalidade do CCR. Os dados obtidos são resultantes de uma análise secundária (1).

Para além disso, existem estudos randomizados que não apoiam qualquer efeito do ácido acetilsalicílico na incidência de CCR e sua respectiva mortalidade num período de 10 anos como é o caso do PHS (Physician's Health Study) e o WHS (Women Health Study) (18) (19).

Em Sostres et al., apontam-se várias razões para esta discrepância de resultados entre as meta-análises realizadas por Rothwell e os dados obtidos pelos estudos PHS e WHS. Um argumento baseia-se no facto de nas meta-análises se considerar uma dose diária de ácido acetilsalicílico constante enquanto nos estudos em questão se usam doses de ácido acetilsalicílico diferentes durante o seguimento. Outro assenta no período de seguimento que é mais pequeno nos estudos PHS e WHS, podendo não ser suficiente para detectar os efeitos do ácido acetilsalicílico. Por fim, a dose usada no estudo WHS é de 50 mg enquanto nas meta-análises de Rothwell a dose mínima efectiva considerada é de 75 mg (1).

Deste modo, é pertinente sugerir que o ácido acetilsalicílico tenha um efeito preventivo nas lesões que poderão vir a dar origem ao carcinoma como é o caso dos adenomas na grande maioria das vezes. A sua prevenção ou regressão foi proposta como marcador do risco de vir a desenvolver CCR (20).

Numa meta-análise de 4 estudos duplo cegos randomizados que pretenderam comparar o ácido acetilsalicílico versus placebo na prevenção secundária de adenomas colo-rectais em pacientes com adenomas ou CCR prévios observou-se uma redução de 17% do risco de vir a desenvolver adenomas com qualquer dose de ácido acetilsalicílico (81 a 325mg/dia) versus placebo. Isto corresponde a uma redução de 6,7% no risco absoluto e de 28% no risco relativo

para qualquer lesão. O efeito preventivo em questão manifesta-se logo após 1 ano do início da administração do ácido acetilsalicílico (21).

Os doentes que apresentam uma síndrome de CCR hereditário, que tenham uma história de adenomas colo-rectais prévios ou doença inflamatória intestinal fazem parte dos grupos com alto risco de vir a desenvolver CCR (Figura 2). Como o ácido acetilsalicílico pode exacerbar a doença inflamatória intestinal, estes doentes são descartados deste contexto, mas existem dados que apoiam um efeito benéfico do ácido acetilsalicílico nos restantes grupos de risco (22).

Esta relação é apoiada por um estudo randomizado chamado CAPP 1 (Colorectal Adenoma/Carcinoma Programme 1) que incluiu 206 indivíduos com um diagnóstico de PAF. Este estudo comparou o uso de ácido acetilsalicílico versus placebo, tendo sido só usados os dados dos doentes com tratamento superior ou igual a 1 ano. Deste modo, obteve-se uma redução significativa da dimensão dos pólipos nos doentes que tomavam ácido acetilsalicílico, embora em relação ao número de pólipos a diferença não tenha sido relevante (23).

Os dados mais consistentes dizem respeito à síndrome de Lynch (cancro colo-rectal hereditário sem polipose) que consiste na síndrome de CCR hereditário mais comum.

O estudo CAPP2 (Cancer Prevention Project 2) incluiu doentes com síndrome de Lynch que foram distribuídos em 2 grupos aleatoriamente. A um dos grupos foi administrado diariamente ácido acetilsalicílico (600 mg) e ao outro placebo. Assim, foi possível verificar uma redução na incidência de CCR no grupo que tomava ácido acetilsalicílico pelo menos durante 2 anos (24).

A associação que tem sido abordada também foi observada num estudo que se baseou em doentes com história de CCR não metastizado após a sua respectiva ressecção. O tratamento com baixas doses de ácido acetilsalicílico após a ressecção foi associado a uma redução de 35% no risco de recorrência de adenoma ou carcinoma em 36 meses de seguimento (25). Estudos in vitro demonstraram que o ácido acetilsalicílico inibe a proliferação e induz a apoptose em linhagens celulares no CCR. (26) (27).

Esta demonstração sugere a possibilidade do ácido acetilsalicílico poder ter um papel no tratamento do cancro. McCowan C et al. estudou num coorte em 2012 o uso do ácido acetilsalicílico após o diagnóstico de cancro colo-rectal e a sua associação com a mortalidade (28). Em 2015 foi a vez de Ng K et al. observar a acção do ácido acetilsalicílico e dos inibidores da COX-2 em doentes com cancro colo-rectal em estadio III (29). Os dados parecem mostrar que o uso do ácido acetilsalicílico como terapia adjuvante parece melhorar a sobrevivência em pacientes que o tomam antes e depois da quimioterapia.

Outro estudo com 13.994 doentes com CCR realizado pela UK General Practice Research Database encontrou uma forte associação entre o uso do ácido acetilsalicílico e de anti-inflamatórios com a maior taxa de sobrevivência em doentes com CCR (30).

Como existe uma grande heterogeneidade nos estudos não existe uma estatística aceite nos resultados do uso do ácido acetilsalicílico como terapia em casos diagnosticados de CCR. No entanto, numa meta-análise de cinco estudos com doentes cardiovasculares verificou-se que a administração de ácido acetilsalicílico está associada de forma significativa com a redução do risco de metastâses quando o CCR é diagnosticado e subsequente desenvolvimento durante o follow-up (31).

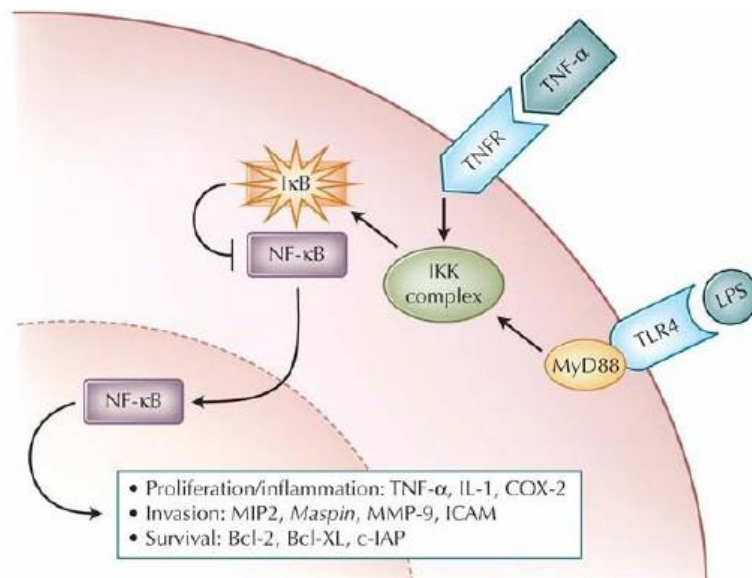


Figura 2. Via molecular do NF- κ B que associa a inflamação com o desenvolvimento do CCR (6).

Mecanismos COX-dependentes e COX-independentes na acção anti-tumoral

Os estudos clínicos ao demonstrarem que o ácido acetilsalicílico tem um efeito preventivo nos processos trombóticos e no CCR sugerem que a activação plaquetária está envolvida na etiologia destes processos patológicos.

As baixas doses de ácido acetilsalicílico estão associadas à inibição selectiva da actividade da COX-1 plaquetária e ainda à inibição da função plaquetária dependente do tromboxano A₂ (TXA₂) (1).

Em (1) verifica-se que cerca de 50% dos adenomas colo-rectais e 80-90% dos CCR demonstram uma sobreexpressão na transcrição do gene codificador da COX-2, provavelmente causada por uma alteração na função do gene APC (1). No entanto, o gene codificador da COX-1 e a sua expressão não são afectados (32, 32).

A COX-2 é localizada de forma significativa nas células tumorais em comparação ao tecido normal circundante (1). A sobreexpressão da COX-2 está associada a uma maior adesão celular, resistência à apoptose, alterações fenotípicas e angiogénese tumoral (34, 35). Sugere-se, portanto, que o papel da COX-2 é importante nas fases iniciais da génese tumoral através de um aumento da produção de prostaglandinas, na medida em que não está sempre relacionada à sobrevivência e aos últimos estadios da doença (36); (32).

Os níveis de prostaglandinas no CCR estão aumentados, sendo a prostaglandina E₂ (PGE₂) a predominante. Esta é responsável pela inibição da apoptose, pela estimulação do crescimento tumoral e pela angiogénese através da estimulação de factores de transcrição das células T como a B-catetina (1) (37).

Deste modo, a COX-2 poderá ser um dos alvos do ácido acetilsalicílico na prevenção do CCR. Esta associação é sustentada pela grande maioria dos estudos experimentais publicados, estando o ácido acetilsalicílico, o celocoxib entre outros anti-inflamatórios não esteróides associados a uma redução da mortalidade no CCR (38); (39); (1).

Outro importante mecanismo que poderá afectar a génese tumoral é a formação de TXA₂, produto da COX-1 plaquetária. Em modelos experimentais, o TXA₂ promoveu a agregação plaquetária e a vasoconstrição. Sugere-se que este produto poderá promover a angiogénese e o desenvolvimento de metástases (1, 40).

Assim, alguns investigadores defendem que tanto a COX-1 como a COX-2 estarão envolvidas na cancerogénese intestinal e que actuam sequencialmente, apoiando-se no facto da inibição da COX-1/COX-2 boquear a formação de pólipos intestinais em modelos animais em cerca de 90% (1, 41, 42).

Muitas destas descobertas foram obtidas in vitro, em ambientes controlados e com concentrações de ácido acetilsalicílico que não se conseguem obter na circulação sistémica com baixas concentrações na administração. Assim, serão necessários mais estudos para compreender completamente os mecanismos envolvidos (1).

Acção do ácido acetilsalicílico na normalização da expressão do EGFR

Pelos dados que temos disponíveis verificamos que o ácido acetilsalicílico tem um papel na prevenção do carcinoma colo-rectal, mas o que ainda não foi possível explicar é o seu mecanismo molecular.

No estudo Haitao et al., 2015, é possível obter novas informações sobre um possível mecanismo no qual é implicado o receptor do factor de crescimento epidérmico (EGFR), um receptor transmembranar tirosina-quinase da família ErbB. Recorrendo à imunohistoquímica estabeleceu-se que em 80% do casos já numa fase inicial da génese do tumor existe uma sobreexpressão do EGFR, o que pode estar implicado na etiologia do CCR. Em pacientes com polipose adenomatosa familiar verificou-se uma sobreexpressão simultânea de EGFR e de COX-2 (43).

Estudos posteriores revelaram que a sobreexpressão da COX-2 estimula a activação do factor de transcrição dependente c-jun, levando à formação da proteína 1 de activação (AP-1) que por sua vez se associa ao promotor do EGFR. Esta associação leva à maior expressão de EGFR. A acumulação celular exagerada de EGFR poderá tornar mais fácil a transformação do epitélio para células pré-neoplásicas. Deste modo, o ácido acetilsalicílico poderá exercer a sua actividade anti-tumoral pelo menos parcialmente através da normalização da expressão de EGFR nas lesões pré-neoplásicas gastrointestinais (43).

Este mecanismo é suportado não só por vários estudos de intervenção com inibidores da COX-2, mas também pela resistência à génese tumoral que é observada na ausência do PTGS-2 (gene codificador da COX-2) em ratos (44, 15).

No entanto, a activação da COX-2 não é suficiente para desencadear a génese do CCR, o que é evidenciado pela incapacidade da COX-2 transgénica desenvolver tumores espontaneamente em ratos. A COX-2 poderá então funcionar como um promotor tumoral em vez de um iniciador. Deste modo, o EGFR poderá ser um novo alvo na prevenção farmacológica do CCR (41).

Em Pai et al., 2002 reporta-se que a PGE₂, a prostaglandina mais significativa resultante da COX-2 poderia transactivar a cascata de quinases do EGFR nas células neoplásicas do cólon, mas a activação do EGFR poderia por sua vez estimular a biosíntese da COX-2. Deste modo, poderá existir um ciclo de feedback positivo entre o EGFR e a COX-2 na génese tumoral intestinal (45).

Neste ponto de vista, os pacientes com polipose adenomatosa familiar (PAF) cujos pólipos colónicos expressam altos níveis de EGFR e de COX-2 poderão ser os que mais beneficiarão de uma terapia combinada anti-COX-2/EGFR (45).

É do conhecimento geral que a COX-2 exerce as suas funções biológicas através das prostaglandinas que dela derivam. A identificação das prostaglandinas que actuam a jusante na cascata da COX-2 será essencial para o entendimento completo de como esta leva à sobreexpressão do EGFR (43).

A experiência mais directa é examinar a biossíntese de prostaglandinas ao inibir a COX-2. A biossíntese das 5 principais prostaglandinas que derivam da COX-2 nas células epiteliais dos adenomas primários intestinais é suprimida pelo tratamento com ácido acetilsalicílico ou celocoxib (43).

O conhecimento do tipo de células que expressam COX-2 poderá ser importante para a compreensão de como a COX-2 promove a progressão do CCR. Apesar de não haver um consenso e dizer-se que a COX-2 poderá ser expressa em várias linhagens celulares (46), em Li H. et al., 2015 defende-se que a COX-2 é primariamente expressa nas células epiteliais dos adenomas do cólon e nos cancros do cólon esporádicos (43).

Embora todos estes dados sejam interessantes, várias perguntas continuam por responder e poderão ser ponto de partida para futuras investigações. Uma questão que fica por esclarecer diz respeito aos níveis de EGFR que continuam nos limites superiores à normalidade mesmo com a aspirina a reduzir de forma significativa os níveis em pacientes com PAF e nos restantes indivíduos estudados (quer tomassem aspirina de modo regular ou não) (43).

Esta evidência é consistente com os resultados da prevenção do CCR com o ácido acetilsalicílico, funcionando esta com a maioria da população mas não com a sua totalidade. Para além disso, alguns casos já retratados na literatura (47) verificam que a inibição da COX-2 tem efeito em apenas 4 linhagens celulares do adenocarcinoma do cólon, o que poderá sugerir que já existe um mecanismo do carcinoma que escapa à dependência da COX-2, embora este continue pouco claro.

Genética

Os processos de reparação enzimática do ADN, a verificação que ocorre durante o ciclo celular, são mecanismos responsáveis por bloquear a proliferação de células com ADN alterado.

No entanto, um processo inflamatório pode ser propiciador de um conjunto de mutações do ADN, levando a um fenómeno chamado de instabilidade genómica que, por sua vez, pode criar uma situação de malignidade. Este processo é o que ocorre em casos de doença inflamatória intestinal (8).

Neste contexto é pertinente definir-se o papel pró-cancerígeno do sistema imunitário a partir das vias genéticas envolvidas.

Em casos de CCR associados a inflamação, um dos primeiros acontecimentos é a perda de função do p53 (gene supressor tumoral que codifica uma proteína citoplasmática). Esta perda de função é encontrada em cerca de 50% dos tumores humanos e é um passo significativo para a progressão tumoral. Mais tarde, ocorre a perda de função de outro supressor tumoral, o gene APC, sendo esta mutação responsável pela activação da via da B-catetina que tem um papel importante na progressão do processo neoplásico (46).

No entanto, mesmo na ausência de perda de função do gene APC, a via da B-catetina pode ser desregulada através da activação de vias inflamatórias alternativas (NF- κ B, PI-3K, EWRK) pelo factor de necrose tumoral alfa (TNF-alfa) ou pela PGE2, dois produtos expressos em níveis elevados durante um processo inflamatório (46).

Deste modo, as alterações genéticas podem nem estar presentes neste ponto sendo substituídas por sinais inflamatórios no começo do processo neoplásico. Sugere-se, portanto, que a inibição da inflamação durante o desenvolvimento do CCR pode bloqueá-lo ou revertê-lo pelo menos em parte.

Instabilidade genómica

A Instabilidade genómica pode ser definida como uma tendência gradual do genoma em adquirir mutações quando processos envolvidos na manutenção e replicação do mesmo se tornam disfuncionais. Consiste, portanto, no conjunto de processos que permite às células atingirem as características malignas ao contornarem a maquinaria anti-carcinogénica. Esta instabilidade é um dos mecanismos subjacentes à carcinogénese.

Como é descrito em Feagins LA et al, 2009, dois tipos de instabilidade genómica têm um papel significativo no CCR: a instabilidade de microssatélites e a instabilidade cromossómica (8).

A instabilidade de microssatélites é o resultado do mau funcionamento dos genes codificadores das enzimas que durante a replicação celular reparam os pares de bases de ADN

incompatíveis. A instabilidade cromossômica é o resultado das deleções, translocações e ampliações causadoras de um número cromossômico alterado ou um conteúdo anormal de ADN.

Silenciamento epigenético

As alterações epigenéticas em conjunto com as mutações esporádicas fazem parte das alterações somáticas não hereditárias, cujo papel na formação neoplásica é muito significativo. Neste contexto é importante salientar os mecanismos epigenéticos conduzidos pelo processo inflamatório no silenciamento de genes na doença inflamatória intestinal e no CCR (48).

O silenciamento epigenético ocorre através da metilação do ADN e das histonas ou através do silenciamento ao nível dos microRNAs como o TGFBR11 e o TCF4 (críticos na regulação da estabilidade da transcrição genica). Com este silenciamento reduz-se, assim, a expressão de proteínas que actuam como supressores tumorais ou que actuam na própria replicação do ADN. Este processo de metilação de loci do ADN e de histonas envolve genes supressores tumorais como o APC e também genes reguladores da estabilidade do ADN como os MLH. Verifica-se que a inflamação resulta na activação e expressão de transferases metiladoras de ADN como o Dnmt1 e o Dnmt3, tendo como consequência o silenciamento de genes alvo no CCR (49).

Um processo muito comum no CCR esporádico e no carcinoma associado a inflamação intestinal é a metilação, e por isso o bloqueio, do promotor do gene hMLH1. Consequentemente não ocorre a reparação dos emparelhamentos anormais das bases azotadas, criando-se um ADN mutado. Em Terzic J et al, 2010, obteve-se uma diminuição da progressão tumoral através do bloqueio das transferases metiladoras de ADN em modelos animais de CCR (49).

Assim, na carcinogénese do CCR deve ter-se em consideração as alterações genéticas e epigenéticas que são induzidas pelo processo inflamatório.

Biomarcadores moleculares e genéticos

Enquanto os grupos que apresentam maior risco de vir a desenvolver CCR parecem beneficiar com a administração de ácido acetilsalicílico, talvez seja possível identificar quais os indivíduos que também beneficiam dentro dos grupos de baixo risco.

Uma análise do estudo CAPP2 (Cancer Prevention Project 2) que se dedicou ao estudo de indivíduos com síndrome de Lynch mostrou que o aumento do risco de CCR associado à obesidade pode ser minimizado pela aspirina nesta população (24).

Deste modo, a obesidade poderia ser um possível biomarcador preditivo do benefício do ácido acetilsalicílico (22).

Novos dados demonstram que os indivíduos que apresentam polimorfismos nucleotídicos singulares (SNP) e que tomam ácido acetilsalicílico têm um risco reduzido de desenvolver CCR. A ausência destes SNP poderá identificar um grupo que não beneficia com a toma de aspirina (22).

Um estudo de caso-controlo que incluiu 840 pacientes com CCR e 1686 controlos examinaram o risco de CCR dependendo da expressão do alelo T do gene rs6983267 que está associado a uma expressão reduzida de WNT/ B-catetina (via oncogénica importante do CCR). Os investigadores observaram que o ácido acetilsalicílico reduzia o risco de CCR de maneira geral, mas a redução foi mais significativa nos indivíduos que apresentavam o alelo T do rs6983267 (50).

Outro estudo de caso-controlo com 8634 casos e 8553 controlos examinou o risco de CCR dependendo de 2 SNP distintos, o rs2965667 (localizado próximo do gene do glutatião S-transferase 1 microsomal que é sobreexpressado no CCR) e o rs16973225 (localizado próximo do gene da interleucina 16 e que está implicada na carcinogénese do CCR. Na análise subsequente verificou-se que o uso de ácido acetilsalicílico ou de outro anti-inflamatório não esteróide está associado a uma redução do risco de CCR nos indivíduos com um genótipo TT do rs2965667 e com um genótipo AA do rs16973225 (51).

Deste modo, os polimorfismos genéticos poderão ser úteis na identificação dos indivíduos que mais beneficiarão do uso do ácido acetilsalicílico dentro da população de baixo risco.

Em (22) tomamos consciência de que o trabalho na identificação de biomarcadores relativos ao uso do ácido acetilsalicílico no tratamento do CCR resulta de grandes coortes como o NHS/HPFS (14) ou ECR (52).

Nos coortes NHS/HPFS percebe-se que o ácido acetilsalicílico tem uma acção benéfica no CCR porém esta é observada essencialmente em indivíduos cujos tumores expressam COX-2 (14).

Deste modo, apesar da inibição da COX-1 ou COX-2 ser suficiente para o bloqueio da génese tumoral em modelos de laboratório, não existe uma certeza em relação ao papel das COX na acção anti-tumoral pelo ácido acetilsalicílico. A incerteza aumenta mais quando sabemos que as doses diárias de aspirina usadas na prevenção cardiovascular não são suficientes para a inibição das COX nos tecidos sistémicos (53).

Em (54) propõe-se que, como tem uma acção anti-plaquetária, o ácido acetilsalicílico poderia expôr as células tumorais em circulação à destruição imuno-mediada através das células Natural Killer (NK). Este efeito seria restrito a tumores com baixa expressão de HLA classe I. Como cerca de um terço dos tumores colo-rectais expressam antigénios HLA classe I, esta observação poderá identificar grupos que beneficiarão do uso do medicamento em questão após o diagnóstico de CCR (52).

Outro possível biomarcador da resposta do ácido acetilsalicílico é o gene fosfatidilinositol 3-quinase (PI3KCA). Isto surge depois da publicação de dados dos coortes NHS/ HPFS que demonstram que indivíduos com mutações no PI3KCA que tomavam ácido acetilsalicílico após o diagnóstico de CCR tiveram uma melhoria significativa nas taxas de sobrevivência em comparação com os tumores que possuíam um PI3KCA selvagem (55).

Esta associação parece ser apoiada por outros estudos, mas os dados mais recentes não parecem confirmá-la, por isso serão necessários mais estudos sobre este marcador (22).

Tratamento do Cancro colo-rectal e AINES

Actualmente, as alternativas de tratamento oncológico convencional são a cirurgia, a quimioterapia e a radioterapia. A abordagem terapêutica depende sempre do estágio do tumor.

As guidelines da DGS definem o tratamento cirúrgico como terapêutica de primeira linha para o tumor primário nos estádios mais precoces, sendo o único tratamento dito curativo em doentes com CCR. Em estádios mais avançados, nomeadamente II, III e IV, é implementada quimioterapia em associação à ressecção cirúrgica, sendo esta um factor importante para o aumento da sobrevivência global dos doentes (56).

A quimioterapia pode ser adjuvante quando é um tratamento sistémico realizado depois da ressecção cirúrgica com o objectivo de reduzir as recidivas ou neoadjuvante quando é administrada antes da cirurgia no sentido de reduzir o tamanho tumoral (57).

No entanto, os fármacos utilizados na quimioterapia têm demonstrado limitações na sua eficácia e, por isso, a quimioprevenção e o estudo das vias que estão na base da inflamação relacionada com o desenvolvimento de cancro tornam-se uma linha de investigação com potencial. Por um lado, os tumores têm demonstrado ganhar resistência à terapêutica convencional e por outro, certos subgrupos de doentes não têm beneficiado da terapêutica. Como ainda não foi possível desenvolver uma quimioterapia personalizada e individualizada, é necessário investigar novas vias subjacentes ao desenvolvimento do CCR.

Deste modo, sendo a inflamação um processo com um papel significativo no desenvolvimento dos tumores colo-rectais, a inibição de algumas das moléculas participantes na mesma (e bloqueio das respectivas vias) poderá ter benefícios ao ser utilizada em associação com a terapêutica convencional. Pode funcionar igualmente como terapêutica profilática em indivíduos de alto risco como nos casos de doença inflamatória intestinal (58).

Além disso, a existência de um processo inflamatório sistémico tem sido associada a uma resposta à quimioterapia menos efectiva e a um aumento do risco de efeitos adversos da mesma, por isso, outra vantagem do uso de anti-inflamatórios neste contexto poderá ser a melhor resposta à quimioterapia convencional (5).

Deste modo, é pertinente o desenvolvimento de fármacos anti-inflamatórios para o contexto de CCR. Poderão ser criadas novas oportunidades na área dos fármacos anticancerígenos em cancros com elevada componente inflamatória, nomeadamente na prevenção e na terapêutica da doença no sentido de aumentar a margem temporal que ocorre entre a detecção e a remoção da massa tumoral antes da sua metastização e também com o objectivo de melhorar a resposta à quimioterapia (48).

Podem considerar-se outras estratégias para reduzir a incidência e a mortalidade por CCR, nomeadamente as que nos permitem obter um diagnóstico mais precoce. A realização de

rastreios através da pesquisa de sangue oculto nas fezes ou da colonoscopia constitui um método comprovadamente eficaz no âmbito da prevenção secundária (57).

A colonoscopia é o método “gold standard” no rastreio do CCR, na medida em que permite não só diagnosticar a presença de pólipos como também a sua exérese (polipectomia). Esta técnica representa um papel importante, uma vez que uma grande percentagem de tumores colo-rectais tem origem nestes adenomas.

Assim, se o diagnóstico for estabelecido numa fase inicial, a taxa de sobrevivência aos 5 anos poderá ser superior a 95%. A prevenção primária poderá consistir em hábitos alimentares saudáveis (dieta rica em legumes e gorduras vegetais e pobre em carne vermelha e ovos), em exercício físico, na eliminação dos hábitos tabágicos e na prevenção com AINEs (57).

Por fim, a investigação e o estabelecimento de novas vias moleculares críticas para o desenvolvimento neoplásico criam oportunidades para o aparecimento de novas substâncias que têm como alvo citocinas específicas que modulam a resposta imunitária a um nível primário. No entanto, este processo não será fácil, tendo em conta o facto do sistema imunitário, para além da defesa orgânica, contribuir como agente etiológico da malignidade, sendo esta uma limitação para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas (59).

A investigação nesta área nos próximos anos será muito importante para ultrapassar estes obstáculos. Alguns compostos, entre os quais o ácido acetilsalicílico, estão a ser testados com resultados preliminares muito promissores na prevenção e tratamento do CCR.

Vantagens e riscos do ácido acetilsalicílico

O ácido acetilsalicílico é usado há muito tempo e tem um perfil de toxicidade bem conhecido. As contraindicações conhecidas são: história de úlcera péptica activa, hemorragia gastrointestinal, hemorragia intracraniana prévia, diátese hemorrágica ou alguma alteração patológica nas vias da coagulação. Os efeitos adversos podem ser minimizados se se evitar a administração de outros anti-inflamatórios não esteroides, anticoagulantes ou corticosteróides (22).

Os sintomas gastrointestinais são efeitos adversos conhecidos. Uma história de refluxo gastroesofágico ou dispepsia não ulcerosa foi associada a uma maior probabilidade de vir a apresentar sintomas gastrointestinais consequentes à toma de ácido acetilsalicílico (60).

A infecção por *Helicobacter pylori* também foi associada a um risco aumentado de hemorragia digestiva e dispepsia na administração do ácido acetilsalicílico (61).

Em (61) é igualmente demonstrado que a idade é um preditor chave no risco de hemorragia, sendo esta a condição mais temida nos doentes que tomam o medicamento em causa. Neste estudo verificou-se que o risco de hemorragia aumenta cerca 3 a 4 vezes nas idades entre 50-54 e 70-74 anos.

Em Arisawa et al., 2007 é sugerido que certos polimorfismos funcionais do gene da COX-1 (rs1330344) podem estar associados à ulceração gástrica induzida por anti-inflamatórios (62).

Por sua vez, alguns polimorfismos na enzima CYP2C9 que tem um papel no metabolismo do ácido acetilsalicílico também podem estar ligados a uma maior propensão a eventos hemorrágicos (63).

Uma questão importante e que não foi ainda levantada é qual será a dose mínima necessária de ácido acetilsalicílico para a prevenção do carcinoma colo-rectal. Através dos dados fornecidos pelos estudos observacionais e pelos estudos clínicos existe uma associação muito forte entre os 75-325 mg de dose diária com a redução do risco de vir a desenvolver CCR. No entanto, na prevenção das DCV a dose de ácido acetilsalicílico entre 75-81 mg parece ser tão efectiva como as doses mais altas e ainda parece apresentar um perfil mais seguro (1).

Conclusão e Cenários futuros

Inúmeros compostos têm vindo a ser estudados pelas suas propriedades anticancerígenas e quimiopreventivas no contexto do CCR e muitos deles têm demonstrado ser promissores na prevenção deste tipo de cancro. Um destes são os anti-inflamatórios não esteroides (AINES) nos quais se inclui o ácido acetilsalicílico.

O cancro colo-rectal e a doença cardiovascular têm em comum um conjunto de factores de risco como a obesidade, a hipercolesterolemia e a diabetes. Deste modo, os benefícios do ácido acetilsalicílico no que toca às DCV poderão associar-se aos efeitos da mesma não só na prevenção mas também no tratamento do CCR.

No entanto, quaisquer dados que apoiam uma melhoria das taxas de sobrevivência com a administração de ácido acetilsalicílico precisam de ser interpretadas no contexto do tumor em causa. Existem inúmeros factores prognósticos como o estágio, o modo de apresentação, a instabilidade dos microssatélites, o facto de ter havido tratamento com quimioterapia adjuvante ou não que precisam de ser tidos em conta (22).

Cuzick J et al., 2014 estudou recentemente os riscos e os benefícios do uso do ácido acetilsalicílico para a prevenção do CCR na população e concluiu que o uso de ácido acetilsalicílico entre os 55 e os 65 anos por pelo menos 5 anos com doses entre os 75-325 mg tem um bom perfil de risco-benefício (64).

Os estudos de fase III que se estão a fazer no que diz respeito ao uso da aspirina na população em geral têm sempre a limitação do período de seguimento (follow up) como a fragilidade do número reduzido de participantes (22). Um destes é o CaPP3 (Cancer Prevention Project 3) que incide no estudo de diferentes doses de ácido acetilsalicílico na prevenção da síndrome de Lynch (CCR hereditário não poliposo).

A continuação da pesquisa dos mecanismos anti-tumorais do ácido acetilsalicílico talvez permita a identificação de um conjunto de biomarcadores que nos permitam identificar os grupos que beneficiarão mais com o tratamento. Se a aspirina se mostrar eficaz no combate do CCR poderá vir a ser um trunfo muito importante, na medida em que está disponível e é de fácil acesso a toda a população.

Como já supracitado, os níveis de expressão da COX-2 e da PGE-2 na doença inflamatória intestinal são semelhantes aos presentes no CCR. Como é visível em Wang D. et al, 2014, quase toda a informação existente sobre a associação entre a inflamação e o cancro aparece em estudos clínicos e epidemiológicos que apontam para uma diminuição do risco relativo de desenvolvimento de CCR em 40-50% com a utilização de AINES (3). Observa-se uma diminuição da proliferação celular, da angiogénese e do potencial metastático tal como um aumento da apoptose em investigações pré-clínicas.

Para além da sua acção anti-inflamatória e anti-tumoral por via da inibição da COX-2, os AINES apresentam uma série de mecanismos independentes da inibição da COX através da regulação positiva de uma série de factores de transcrição como supressores tumorais e da regulação negativa de outros (4).

Alguns estudos referem que o ácido acetilsalicílico como medicamento anti-inflamatório que pode ser usado na prevenção e tratamento do CCR pode ser combinado com as terapias convencionais como é o caso da quimioterapia e a radioterapia com o objectivo de aumentar a sua eficácia.

Por fim, estabelecem-se alguns objectivos para o futuro. A contínua procura da compreensão dos complexos mecanismos envolvidos na mediação da carcinogénese do cólon e do recto vai ajudar a responder a muitas questões que estão em aberto. Enquanto médicos temos não só o interesse mas a responsabilidade e o dever de investigar e identificar novas estratégias preventivas e terapêuticas neste âmbito, trabalhando com o doente no sentido de minimizar as consequências deste tipo de cancro com taxas de mortalidade elevadas e com uma progressão silenciosa. A aposta na prevenção secundária é fundamental através da realização de rastreios que incluem exames como a colonoscopia.

Bibliografia

1. Sostres C, Gargallo CJ, Lanas A. Aspirin, cyclooxygenase inhibition and colorectal cancer. *World journal of gastrointestinal pharmacology and therapeutics*. 2014;5(1):40-9.
2. Sachar DB. Cancer in Crohn's disease: dispelling the myths. *Gut*. 1994;35(11):1507-8.
3. Wang D, Fu L, Ning W, Guo L, Sun X, Dey SK, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor delta promotes colonic inflammation and tumor growth. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014;111(19):7084-9.
4. Liggett JL, Zhang X, Eling TE, Baek SJ. Anti-tumor activity of non-steroidal anti-inflammatory drugs: cyclooxygenase-independent targets. *Cancer Lett*. 2014;346(2):217-24.
5. Park JH, McMillan DC, Horgan PG, Roxburgh CS. The impact of anti-inflammatory agents on the outcome of patients with colorectal cancer. *Cancer Treat Rev*. 2014;40(1):68-77.
6. Kraus S, Arber N. Inflammation and colorectal cancer. *Curr Opin Pharmacol*. 2009;9(4):405-10.
7. Kraus S, Arber N. Colorectal cancer chemoprevention: ready for practice? *European journal of cancer (Oxford, England: 1990)*. 2009;45 Suppl 1:360-6.
8. Feagins LA, Souza RF, Spechler SJ. Carcinogenesis in IBD: potential targets for the prevention of colorectal cancer. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2009;6(5):297-305.
9. Colussi D, Brandi G, Bazzoli F, Ricciardiello L. Molecular pathways involved in colorectal cancer: implications for disease behavior and prevention. *Int J Mol Sci*. 2013;14(8):16365-85.
10. Walter L. Role of Matrix metalloproteinases in Inflammation/Colitis-Associated Colon Cancer. *ImmunoGastroenterology [Internet]*. 2013 [cited 2014 Jun 13];2(1):22. Available from: <http://www.stmconnect.com/ig/content/2/1/ig29.abstract>
11. Bruton L, Blumental D K et al.; Goodman and Gilman: manual de farmacologia e terapêutica, Porto Alegre: AMGH, 2010.
12. Jacobs EJ, Thun MJ, Bain EB, Rodriguez C, Henley SJ, Calle EE. A large cohort study of long-term daily use of adult-strength aspirin and cancer incidence. *Journal of the National Cancer Institute*. 2007;99(8):608-15.
13. Chan AT, Giovannucci EL, Meyerhardt JA, Schernhammer ES, Wu K, Fuchs CS. Aspirin dose and duration of use and risk of colorectal cancer in men. *Gastroenterology*. 2008;134(1):21-8.
14. Chan AT, Ogino S, Fuchs CS. Aspirin use and survival after diagnosis of colorectal cancer. *Jama*. 2009;302(6):649-58.
15. Chan AT, Manson JE, Feskanich D, Stampfer MJ, Colditz GA, Fuchs CS. Long-term aspirin use and mortality in women. *Arch Intern Med*. 2007;167(6):562-72.
16. Rothwell PM, Wilson M, Elwin CE, Norrving B, Algra A, Warlow CP, 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):1741-50.
17. Rothwell PM, Fowkes FG, Belch JF, Ogawa H, Warlow CP, Meade TW. Effect of daily aspirin on long-term risk of death due to cancer: analysis of individual patient data from randomised trials. *Lancet*. 2011;377(9759):31-41.
18. Gann PH, Manson JE, Glynn RJ, Buring JE, Hennekens CH. Low-dose aspirin and incidence of colorectal tumors in a randomized trial. *Journal of the National Cancer Institute*. 1993;85(15):1220-4.
19. Cook NR, Lee IM, Gaziano JM, Gordon D, Ridker PM, Manson JE, et al. Low-dose aspirin in the primary prevention of cancer: the Women's Health Study: a randomized controlled trial. *Jama*. 2005;294(1):47-55.
20. Kelloff GJ, Schilsky RL, Alberts DS, Day RW, Guyton KZ, Pearce HL, et al. Colorectal adenomas: a prototype for the use of surrogate end points in the development of cancer prevention drugs. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2004;10(11):3908.
21. Cole BF, Logan RF, Halabi S, Benamouzig R, Sandler RS, Grainge MJ, et al. Aspirin for the chemoprevention of colorectal adenomas: meta-analysis of the randomized trials. *Journal of the National Cancer Institute*. 2009;101(4):256-66.
22. Coyle C, Cafferty FH, Langley RE. Aspirin and Colorectal Cancer Prevention and Treatment: Is It for Everyone? *Current colorectal cancer reports*. 2016;12:27-34.

23. Burn J, Bishop DT, Chapman PD, Elliott F, Bertario L, Dunlop MG, et al. A randomized placebo-controlled prevention trial of aspirin and/or resistant starch in young people with familial adenomatous polyposis. *Cancer prevention research (Philadelphia, Pa)*. 2011;4(5):655-65.
24. Burn J, Gerdes AM, Macrae F, Mecklin JP, Moeslein G, Olschwang S, 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):2081-7.
25. Sandler RS, Halabi S, Baron JA, Budinger S, Paskett E, Keresztes R, et al. A randomized trial of aspirin to prevent colorectal adenomas in patients with previous colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2003;348(10):883-90.
26. Tang X, Sun YJ, Half E, Kuo MT, Sinicrope F. Cyclooxygenase-2 overexpression inhibits death receptor 5 expression and confers resistance to tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-induced apoptosis in human colon cancer cells. *Cancer Res*. 2002;62(17):4903-8.
27. Elder DJ, Hague A, Hicks DJ, Paraskeva C. Differential growth inhibition by the aspirin metabolite salicylate in human colorectal tumor cell lines: enhanced apoptosis in carcinoma and in vitro-transformed adenoma relative to adenoma relative to adenoma cell lines. *Cancer Res*. 1996;56(10):2273-6.
28. McCowan C, Munro AJ, Donnan PT, Steele RJ. Use of aspirin post-diagnosis in a cohort of patients with colorectal cancer and its association with all-cause and colorectal cancer specific mortality. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*. 2013;49(5):1049-57.
29. Ng K, Meyerhardt JA, Chan AT, Sato K, Chan JA, Niedzwiecki D, et al. Aspirin and COX-2 inhibitor use in patients with stage III colon cancer. *Journal of the National Cancer Institute*. 2015;107(1):345.
30. Walker AJ, Grainge MJ, Card TR. Aspirin and other non-steroidal anti-inflammatory drug use and colorectal cancer survival: a cohort study. *Br J Cancer*. 2012;107(9):1602-7.
31. Rothwell PM, Wilson M, Price JF, Belch JF, Meade TW, Mehta Z. Effect of daily aspirin on risk of cancer metastasis: a study of incident cancers during randomised controlled trials. *Lancet*. 2012;379(9826):1591-601.
32. Eberhart CE, Coffey RJ, Radhika A, Giardiello FM, Ferrenbach S, DuBois RN. Up-regulation of cyclooxygenase 2 gene expression in human colorectal adenomas and adenocarcinomas. *Gastroenterology*. 1994;107(4):1183-8.
33. Marnett LJ, DuBois RN. COX-2: a target for colon cancer prevention. *Annual review of pharmacology and toxicology*. 2002;42:55-80.
34. Nie D, Honn KV. Cyclooxygenase, lipoxygenase and tumor angiogenesis. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*. 2002;59(5):799-807.
35. Wang D, Dubois RN. The role of COX-2 in intestinal inflammation and colorectal cancer. *Oncogene*. 2010;29(6):781-8.
36. Ogino S, Kirkner GJ, Nosho K, Irahara N, Kure S, Shima K, et al. Cyclooxygenase-2 expression is an independent predictor of poor prognosis in colon cancer. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2008;14(24):8221-7.
37. Shao J, Jung C, Liu C, Sheng H. Prostaglandin E2 Stimulates the beta-catenin/T cell factor-dependent transcription in colon cancer. *J Biol Chem*. 2005;280(28):26565-72.
38. 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):2131-42.
39. Fischer SM, Hawk ET, Lubet RA. Coxibs and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs in animal models of cancer chemoprevention. *Cancer prevention research (Philadelphia, Pa)*. 2011;4(11):1728-35.
40. Grosser T, Fries S, FitzGerald GA. Biological basis for the cardiovascular consequences of COX-2 inhibition: therapeutic challenges and opportunities. *J Clin Invest*. 2006;116(1):4-15.
41. Oshima M, Dinchuk JE, Kargman SL, Oshima H, Hancock B, Kwong E, et al. Suppression of intestinal polyposis in Apc delta716 knockout mice by inhibition of cyclooxygenase 2 (COX-2). *Cell*. 1996;87(5):803-9.
42. Chulada PC, Thompson MB, Mahler JF, Doyle CM, Gaul BW, Lee C, et al. Genetic disruption of Ptgs-1, as well as Ptgs-2, reduces intestinal tumorigenesis in Min mice. *Cancer Res*. 2000;60(17):4705-8.
43. Li H, Zhu F, Boardman LA, Wang L, Oi N, Liu K, et al. Aspirin Prevents Colorectal Cancer by Normalizing EGFR Expression. *EBioMedicine*. 2015;2(5):447-55.

44. Algra AM, Rothwell PM. Effects of regular aspirin on long-term cancer incidence and metastasis: a systematic comparison of evidence from observational studies versus randomised trials. *Lancet Oncol.* 2012;13(5):518-27.
45. Pai R, Soreghan B, Szabo IL, Pavelka M, Baatar D, Tarnawski AS. Prostaglandin E2 transactivates EGF receptor: a novel mechanism for promoting colon cancer growth and gastrointestinal hypertrophy. *Nature medicine.* 2002;8(3):289-93.
46. Masferrer JL, Leahy KM, Koki AT, Zweifel BS, Settle SL, Woerner BM, et al. Antiangiogenic and antitumor activities of cyclooxygenase-2 inhibitors. *Cancer Res.* 2000;60(5):1306-11.
47. Lev-Ari S, Kazanov D, Liberman E, Ben-Yosef R, Arber N. Down-regulation of PGE2 by physiologic levels of celecoxib is not sufficient to induce apoptosis or inhibit cell proliferation in human colon carcinoma cell lines. *Dig Dis Sci.* 2007;52(4):1128-33.
48. Grivennikov SI. Inflammation and colorectal cancer: colitis-associated neoplasia. *Semin Immunopathol.* 2013;35(2):229-44.
49. Terzic J, Grivennikov S, Karin E, Karin M. Inflammation and colon cancer. *Gastroenterology* [Internet]. 2010 Jun [cited 2014 May 26; 138(6):2101-2114.e5
50. Nan H, Morikawa T, Suuriniemi M, Imamura Y, Werner L, Kuchiba A, et al. Aspirin use, 8q24 single nucleotide polymorphism rs6983267, and colorectal cancer according to CTNNB1 alterations. *Journal of the National Cancer Institute.* 2013;105(24):1852-61.
51. Nan H, Hutter CM, Lin Y, Jacobs EJ, Ulrich CM, White E, et al. Association of aspirin and NSAID use with risk of colorectal cancer according to genetic variants. *Jama.* 2015;313(11):1133-42.
52. Bastiaannet E, Sampieri K, Dekkers OM, de Craen AJ, van Herk-Sukel MP, Lemmens V, et al. Use of aspirin postdiagnosis improves survival for colon cancer patients. *Br J Cancer.* 2012;106(9):1564-70.
53. Thun MJ, Jacobs EJ, Patrono C. The role of aspirin in cancer prevention. *Nature reviews Clinical oncology.* 2012;9(5):259-67.
54. Placke T, Orgel M, Schaller M, Jung G, Rammensee HG, Kopp HG, et al. Platelet-derived MHC class I confers a pseudonormal phenotype to cancer cells that subverts the antitumor reactivity of natural killer immune cells. *Cancer Res.* 2012;72(2):440-8.
55. Liao X, Lochhead P, Nishihara R, Morikawa T, Kuchiba A, Yamauchi M, et al. Aspirin use, tumor PIK3CA mutation, and colorectal-cancer survival. *N Engl J Med.* 2012;367(17):1596-606.
56. Moura FH, George HM. Norma da DGS: Diagnóstico, Estadiamento e Tratamento do Adenocarcinoma Colo-Rectal (Internet). 2014 (cited 2014 Sep 20). p. 1-10.
57. Cancro cólon e recto em Portugal (Internet). Sociedade portuguesa de Gastrentologia. 2014 (cited 2014 Oct 26). Available from: <http://www.spg.pt/wp-content/uploads/2014/08/UEG-CCR-infographic-final-2014.jpg>
58. Waldner MJ, Neurath MF. Colitis-associated cancer: the role of T cells in tumor development. *Semin Immunopathol.* 2009;31(2):249-56.
59. Yang VW, Lewis J, Wang TC, Rustgi AK. Colon cancer: an update and future directions. *Gastroenterology.* 2010;138(6):2027-8.
60. Cayla G, Collet JP, Silvain J, Thieffin G, Woimant F, Montalescot G. Prevalence and clinical impact of Upper Gastrointestinal Symptoms in subjects treated with low dose aspirin: the UGLA survey. *Int J Cardiol.* 2012;156(1):69-75.
61. Thorat MA, Cuzick J. Prophylactic use of aspirin: systematic review of harms and approaches to mitigation in the general population. *European journal of epidemiology.* 2015;30(1):5-18.
62. Arisawa T, Tahara T, Shibata T, Nagasaka M, Nakamura M, Kamiya Y, et al. Association between genetic polymorphisms in the cyclooxygenase-1 gene promoter and peptic ulcers in Japan. *Int J Mol Med.* 2007;20(3):373-8.
63. Martinez C, Blanco G, Ladero JM, Garcia-Martin E, Taxonera C, Gamito FG, et al. Genetic predisposition to acute gastrointestinal bleeding after NSAIDs use. *Br J Pharmacol.* 2004;141(2):205-8.
64. Cuzick J, Thorat MA, Bosetti C, Brown PH, Burn J, Cook NR, et al. Estimates of benefits and harms of prophylactic use of aspirin in the general population. *Ann Oncol.* 2015;26(1):47-57.