

Alexandra Isabel Marques da Silva

**Potencial utilização do ácido acetilsalicílico como
anticancerígeno**

Universidade Fernando Pessoa
Faculdade de Ciências da Saúde
Mestrado em Ciências Farmacêuticas

Porto, 2014

Alexandra Isabel Marques da Silva

Potencial utilização do ácido acetilsalicílico como anticancerígeno

Universidade Fernando Pessoa
Faculdade de Ciências da Saúde
Mestrado em Ciências Farmacêuticas

Porto, 2014

Alexandra Isabel Marques da Silva

A potencial utilização do ácido acetilsalicílico como anticancerígeno

Trabalho realizado por:

(Alexandra Isabel Marques da Silva)

Trabalho apresentado à Universidade
Fernando Pessoa como parte dos requisitos
para obtenção do grau de Mestre em
Ciências farmacêuticas

Orientadora: Professora Doutora Carla Matos

Resumo

A aspirina, cuja substância ativa é o ácido acetilsalicílico, representa um dos medicamentos mais utilizados em todo o mundo. Desde a Idade Média até aos dias de hoje, têm vindo a ser descritas inúmeras propriedades terapêuticas nomeadamente: analgésica, antipirética, anti-inflamatória, anti-plaquetária, entre outras.

No presente, para além do seu uso no alívio da dor ligeira a moderada, febre e inflamação, a aspirina assume um importante papel na diminuição do risco de acidentes cardiovasculares.

Entretanto, vários ensaios têm vindo a sugerir novos efeitos benéficos da aspirina. Descobertas recentes demonstraram que a aspirina, administrada por vários anos, pode reduzir, a longo prazo, o risco de alguns tipos de cancro, particularmente o cancro colorretal.

Várias evidências apoiam a hipótese de que esse efeito é conseguido com doses baixas de aspirina, as mesmas utilizadas na prevenção de eventos cardiovasculares, posicionando a ação antiplaquetária da aspirina no centro de sua eficácia anti-tumoral.

Contudo, ainda não há dados suficientes sobre o risco/benefício e, como tal, ainda não foram feitas recomendações definitivas relativamente ao seu uso, sendo portanto, necessários novos estudos para que se possa definir qual a dose mínima efetiva, qual a duração do tratamento, qual a idade para o iniciar e qual a população alvo em que o benefício é superior ao risco.

Nesta revisão, irão ser abordados os conhecimentos atuais sobre o papel da aspirina na prevenção do cancro, especialmente o cancro colorretal. Em particular, serão explorados alguns dos possíveis mecanismos responsáveis por este efeito: uns dependentes das prostaglandinas e da ciclooxigenase (COX), nomeadamente da COX-2, e outros provavelmente independentes, destacando novos caminhos para pesquisas futuras.

Palavras-chave: aspirina, anti-tumoral, cancro colorretal, prevenção de cancro

Abstract

Aspirin, which active substance is the acetylsalicylic acid, is one of the most widely used medications in the world. From the middle Ages to the present day, several therapeutic properties have been described for this molecule, including: analgesic, antipyretic, anti-inflammatory and anti-platelet action, among others.

At present, in addition to its use in the relief of mild to moderate pain, fever and inflammation, aspirin plays an important role in reducing the risk of cardiovascular events.

Interestingly, other beneficial effects of aspirin have been recently put forward. For instance, new findings have demonstrated that aspirin intake, administered over several years, may reduce the long term risk of certain types of cancer, particularly colorectal cancer. Indeed, it has been argued that such effect may be achieved using small amounts of aspirin (in proportions similar to ones used in the prevention of cardiovascular events), placing the antiplatelet action of aspirin at the center of its anti-tumor efficacy.

However, much uncertainty remains concerning the risk/benefit of aspirin usage in cancer prevention and, as such, no definitive recommendations have been made to date. Consequently, further studies are crucially needed so that it can be defined the minimum effective dose, duration of treatment, what age to start and what the target population in which the benefit is greater than the risk.

In this review, it will be considered the current knowledge regarding the role of aspirin in cancer prevention, with a special focus on colorectal cancer. In particular, it will be explored some of the possible mechanisms responsible for this effect while highlighting new paths for future research.

Keywords: aspirin, anti-tumor, colorectal cancer, cancer prevention

Agradecimentos

No final de tão maravilhosa e importante etapa da minha vida, não posso deixar de agradecer a todos os que a tornaram possível. Foram várias as pessoas que estiveram sempre ao meu lado, às quais quero prestar o meu sincero agradecimento:

Aos meus pais, pelo amor, compreensão e apoio nesta caminhada, e por me possibilitarem a concretização de um sonho.

Às minhas irmãs Lígia e Eliana pelo carinho e amizade, e pelo incondicional apoio, especialmente nesta etapa da minha vida.

Ao Tiago, pela força e incentivo na concretização deste projeto.

Ao João, pela disponibilidade e pela preciosa ajuda.

Às minhas amigas pela paciência e pela dedicação.

À professora doutora Carla Matos pela orientação e pela inequívoca demonstração de disponibilidade.

A todos, Muito Obrigada!

Índice

I – Introdução.....	1
II – Prespectiva histórica da descoberta da aspirina	3
III – Evolução da investigação química da aspirina	6
IV – O ácido acetilsalicílico	10
1 – Efeitos terapêuticos	10
2 – Mecanismos de ação.....	11
3 – Indicações terapêuticas.....	12
4 – Efeitos adversos.....	14
i. Efeitos adversos no rim.....	15
ii. Efeitos adversos dermatológicos.....	15
iii. Hipersensibilidade.....	15
iv. Outros afeitos adversos	15
5 – Farmacologia.....	16
V – Aplicações da aspirina na prevenção do cancro	17
1 – Aplicações da aspirina na profilaxia do cancro colorretal.....	18
i. Epidemiologia	18
ii. O cancro colorretal.....	18
2 – Mecanismos de ação da aspirina na prevenção do cancro	21
i. Mecanismos dependentes da COX	24
ii. Mecanismos independentes da COX	26
a) Via Wnt/ β -catenina	27
b) Sinalização ERK	27
c) Transdução do sinal da via NF- κ B	28
d) Sinalização AMPK/mTOR	28
e) Acetilação de outras proteínas	29

3 – Consequências clínicas da inibição da COX pela aspirina.....	30
VI – Ensaio clínico	32
1 – Ensaio com aspirina em todos os cânceres.....	32
2 – Ensaio com aspirina no CCR.....	34
3 – Ensaio com aspirina em pacientes com Polipose Adenomatosa Familiar	36
VII – Riscos e benefícios da utilização da aspirina	37
VIII – Conclusão	39
VIV – Referências bibliográficas	40

Índice de figuras

Figura 1 – Cronograma da história da aspirina.....	3
Figura 2 – Esquema da estrutura química da salicina	6
Figura 3 – Esquema da estrutura química do ácido salicílico	7
Figura 4 – Ilustração da síntese do ácido acetilsalicílico.....	8
Figura 5 – Estrutura química do ácido acetilsalicílico	9
Figura 6 – Esquema da reação de síntese do ácido acetilsalicílico	10
Figura 7 – Esquema do mecanismo de ação do AINE	12
Figura 8 – Ilustração das etapas da formação do cancro colorretal.....	19
Figura 9 – Ilustração da colonoscopia de um intestino com Polipose Adenomatosa Familiar.....	21
Figura 10 – Mecanismos dos efeitos antitumorais da aspirina independentes da COX..	30
Figura 11 – Ilustração do balanço entre os riscos/benefícios do uso da aspirina	38

Lista de abreviaturas

AA – Ácido araquidónico

AAS – Ácido acetilsalicílico

AINEs – Anti-inflamatórios não esteróides

AMPK – Proteína quinase ativada (do inglês *Activated Protein kinase*)

APACC – Associação de prevenção com aspirina do cancro colorretal (do francês *Association pour la Prevention par l'Aspirine du Cancer Colorectal*)

APC – do inglês *Adenomatous Polyposis Coli*

ATP – Adenosina trifosfato

BCL-2 – Proteína linfoma de células B-2

CCR – Cancro colorretal

COX – Cicloxigenase

GI – Gastrointestinal

CV – Cardiovascular

DNA – Ácido desoxirribonucleico

ERK – Quinase regulada por sinal extracelular (do inglês *Extracellular signal-regulated kinase*)

FAS – Ácido gordo sintase

FDA – Administração Federal de Alimentos e Medicamentos dos Estados Unidos da América (do inglês *Food and Drug Administration*)

G6PD – Glicose 6-fosfato desidrogenase

HNPCC – Cancro do cólon não polipoide hereditário

H₂O₂ – Peróxido de hidrogénio

IκB – Inibidor do fator kappa das células B

I κ B α – Inibidor alfa do fator nuclear kappa das células B

I κ B β – Inibidor beta do fator nuclear kappa das células B

I κ K – Quinase do inibidor do fator nuclear kappa

JCAPP – Prevenção de pólipos com aspirina no Japão (do inglês *Japan Colorectal Aspirin Polyps Prevention*)

JFAPP II – Prevenção da Polipose Adenomatosa Familiar no Japão II (do inglês *Japan Familial Adenomatous Polyposis Prevention II*)

LXs – Epi-lipoxinas

5-LOX – 5-Lopoxigenase

MAP – Proteína ativada por mitógeno (do inglês *Mitogen-activated protein*)

mTOR – do inglês *Mechanistic target of rapamycin*

MMP9 – Matrix metallopeptidase 9

NF-KB – Fator nuclear kappa das células B

PAF – Polipose adenomatosa familiar

PAR-1 – Recetor-1 ativado por protease (do inglês *Protease-activated receptor-1*)

PHS – do inglês *Physicians's Health*

PKC – Proteína quinase C (do inglês *Protein kinase C*)

PP2A – Proteína fosfatase

P70^{s6K} – Enzima serina/treonina quinase

PGD2 – Prostaglandina G2

PGE2 – Prostaglandina E2

PGF2 α – Prostaglandina F2 alfa

PGG2 – Prostaglandina G2

PGH2 – Prostaglandina H2

PGI2 – Prostaciclina

RNA – Ácido ribonucleico

SPH – Esfingosina

SPHK – Esfingosina quinase

S1P – Esfingosina-1-fosfato

TCF/LEEF – do inglês *T-cell factor/lymphoid enhancer factor*

Thr172 – Treonina172

USPTF – Tarefas Serviços Preventivos da Força dos EUA (do inglês *Preventive Services Tasks Force of USA*)

WHS – do inglês *Women's health*

I. Introdução

A história da aspirina iniciou-se há mais de 3.500 anos. Hipócrates, que revolucionou a Medicina na Grécia antiga, incluiu entre as suas abordagens terapêuticas inovadoras, a prescrição de um “sumo” extraído da casca e das folhas do salgueiro branco (*Salix alba*), para aliviar as cefaleias e outras queixas álgicas e ainda para baixar a febre (Mahdi, 2010).

Na Idade Média, os ervanários europeus usaram extensivamente um extrato de salgueiro para tratar o reumatismo e gota. Outras plantas com efeitos semelhantes aos do salgueiro, como a ulmária, a gualtéria e a murta, que se demonstrou mais tarde conterem também o mesmo princípio ativo, foram usadas durante milhares de anos por outras culturas. Todavia, o primeiro “estudo clínico” só foi efetuado no século XVIII. O reverendo Edward Stone reportou em 1763, na *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, que a casca seca do salgueiro tinha provado, de forma consistente, ser “muito eficaz na cura de dores e perturbações intermitentes” em 50 pessoas (Stone, 1763).

A aspirina tem uma história longa – desde o seu uso na fitoterapia, ao isolamento da salicina a partir da casca do salgueiro, até à síntese do Ácido Acetilsalicílico, um composto eficaz para o tratamento da dor e da febre, há mais de 110 anos. O papel desta molécula na terapêutica é devido quer às suas valiosas propriedades analgésicas e anti-inflamatórias, quer ao reconhecimento, na segunda metade do século XX, da sua eficácia na prevenção dos eventos cardiovasculares num espetro alargado de indivíduos em risco. Hoje em dia, como é reconhecida por numerosas recomendações internacionais, a profilaxia com a aspirina em baixa dose constitui um elemento central das estratégias de tratamento da doença cardiovascular, e o seu papel está a expandir-se com o reconhecimento de que os seus benefícios se estendem aos doentes hipertensos e aos doentes diabéticos. Para além disso, existe evidência crescente de que os efeitos anti-inflamatórios da aspirina em baixa dose poderão também ser úteis noutras patologias, tais como as neoplasias ou a doença de Alzheimer.

Foi tendo como pano de fundo este contexto que um painel internacional de especialistas se reuniu em Frankfurt, em Junho de 2009, para discutir o papel atual e futuro da aspirina (Person *et alli*. 2009).

Nesta revisão, irão ser discutidos os resultados clínicos relacionados com o impacto da aspirina no risco de desenvolvimento de neoplasias, com especial enfoque no carcinoma colorretal. Irá ser explicado em detalhe a farmacologia da aspirina em doses baixas e altas, de modo a dar uma interpretação da ação da aspirina como um agente preventivo do cancro.

II. Perspetiva histórica da descoberta da aspirina

A terapia com plantas medicinais ou fitoterapia foi uma das primeiras técnicas de cura e de prevenção de doenças utilizada pelo Homem. Na tentativa de prevalecer sobre a doença surge a necessidade de testemunhar e perceber os potenciais benefícios das plantas contribuindo, assim, para o desenvolvimento de fármacos.

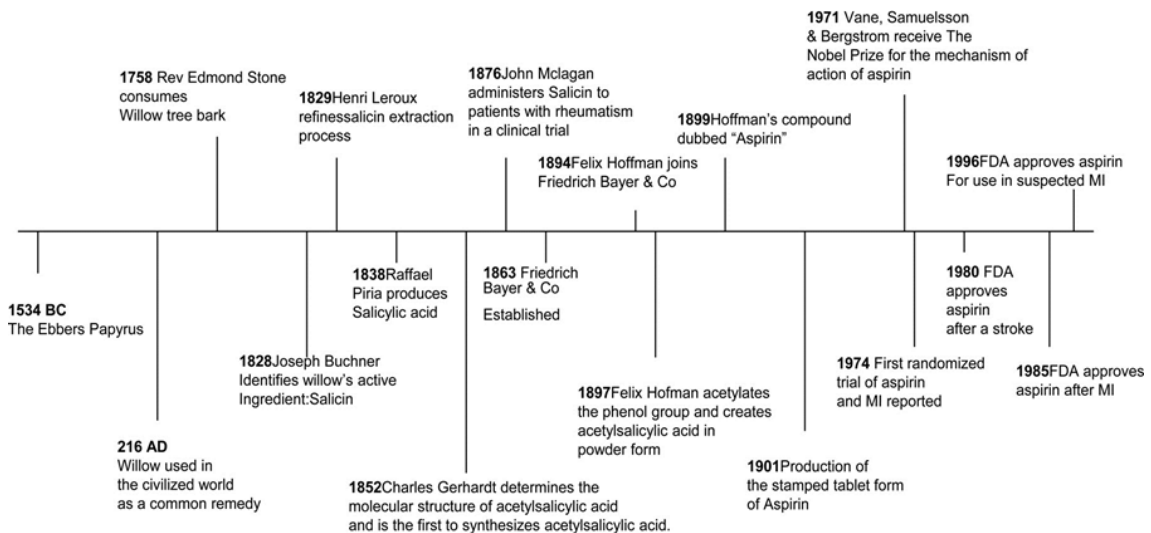


Figura 1 – Cronograma da história da aspirina

Adaptada de Fuster et alli. (2011)

A história do salgueiro (*Salix sp.*) remonta às civilizações primitivas, especialmente à Mesopotâmia há cerca de 6000 anos, quando as plantas foram exploradas para alimentos e como fonte de tratamento de doenças. Experiências de ambas as civilizações, Assírios (4000 AC) e Babilônios (605-562 AC), no atual Iraque, contribuíram para o desenvolvimento dos medicamentos. No *Código de Hamurabi* (1750 AC), encontraram-se vários registos sobre a história médica que contribuiu para a longa cadeia de conquistas farmacológicas. Nessas civilizações, cirurgiões e médicos usavam nebulizações à base de extrato de salgueiro para curar doenças, dores, inflamações e febre comum. Foram encontradas placas de argila, deixadas pelos assírios do período sumério, descrevendo o uso de salgueiro em tais condições (Lévesque & Lafont, 2000). De acordo com essas inscrições, os Sumérios foram a primeira civilização conhecida a registar receitas médicas para a dor (Wells, 2000).

Também os Egípcios (1300 AC) usaram as folhas de salgueiro para tratar doenças inflamatórias. Incluíram o salgueiro na lista de remédios à base de plantas no “Papiro de Ebers” (Nunn, 1996), no antigo Egito, que descreve o efeito analgésico das folhas de salgueiro para o alívio das feridas inflamadas (Jack, 1997).

A casca do salgueiro foi ainda explorada pelas civilizações chinesas e gregas há mais de 2000 anos atrás, para aliviar a febre e dor (Riddle, 1999). Os Chineses usaram cascas de álamo (*Populus alba*) e de salgueiro-chorão (*Salix babylonica*) durante séculos para tratar febre reumática, constipações, hemorragias, bócio e como antisséptico para feridas em geral (Rainford, 1984). Os gregos, por sua vez, também usaram o salgueiro como uma forma de medicina. O filósofo, Hipócrates (460-370 AC) recomendava mascar casca de salgueiro a pacientes que sofriam de dor e febre e também prescrevia uma mistura de folhas de salgueiro para aliviar as excruciantes dores de parto (Riddle, 1999). Cerca de 500 anos mais tarde, outro médico grego, Dioscórides, também prescrevia a casca do salgueiro para reduzir os sintomas de inflamação, e o seu uso continuou devido às suas propriedades analgésicas e anti-inflamatórias. Um outro médico grego, Celsius, aceite como o autor dos famosos sintomas da inflamação: “*vermelhidão, inchaço com calor e dor*”, tratava as mulheres com prolapso uterino com folhas de salgueiro fervidas em vinagre. Além disso, também Plínio Romano descreve calos tratados com uma pasta de casca de salgueiro queimado, e Galeno tratou feridas sangrentas e úlceras com folhas dessa árvore (Wells, 2003).

A era moderna da descoberta da aspirina começou no século XVIII, quando se reuniu mais informação científica.

Em 1763, o reverendo Edward Stone relatou o efeito benéfico da casca de salgueiro, numa carta dirigida à *Royal Society*. Aqui, Stone descreveu os resultados de um estudo clínico, ao tratar pacientes que sofriam de malária (febre, geralmente considerado como sendo malária) com casca de salgueiro em pó num pouco de água. Cento e treze anos mais tarde, Thomas MacLagan, um médico escocês, realizou, em 1876, um estudo clínico para testar a eficácia da terapêutica com salgueiro em pó. Tratou-se a si próprio com sucesso, antes de aplicar este extrato aos seus pacientes no tratamento do reumatismo agudo. Os seus tratamentos resultaram numa redução completa da febre e da inflamação das articulações. No entanto, foi apenas a partir de 1971 que a exata

farmacologia da aspirina foi elucidada e se demonstrou que esta interfere com a síntese de prostaglandinas (PGs) (MacLagan, 1876).

Estudos epidemiológicos modernos da década de 1980 indicaram que aspirina é inversamente associada ao risco de desenvolver cancro colorretal. Estudos epidemiológicos e biológicos, têm vindo, desde então, a concentrar-se na aspirina como um fármaco com potencial anticancerígeno. Além disso, tem sido demonstrado que a aspirina, em concentrações relativamente elevadas (5-20 mM), possui um potencial efeito inibitório nas células de proliferação em várias populações de células cancerígenas. Estas doses, no entanto, podem ter diversos efeitos, e, conseqüentemente, limitar o potencial anticancerígeno direto.

III. Evolução da investigação química da aspirina

A investigação química da substância terapeuticamente ativa do extrato de salgueiro começou no XIX. Este século foi caracterizado por avanços importantes na química orgânica e sobretudo em produtos farmacêuticos. Como resultado das investigações, identificaram-se os componentes ativos do salgueiro entre os quais a salicina, ainda que com muitas impurezas. No início da década de 1820, Brugnatelli, Fontana e Buchner obtiveram substâncias terapeuticamente ativas com menos contaminantes. A purificação foi conseguida por Buchner, em 1828, na Universidade de Munique quando removeu os taninos e obteve uma substância amarelada de sabor amargo, à qual chamou de *salicina*, derivada do nome latino para o salgueiro. Finalmente, a forma cristalina e pura da salicina foi obtida pelo farmacêutico francês Henri Leroux em 1829 (Leroux, 1830; Rainsford, 1984).

Um outro grande avanço deu-se com a descrição da estrutura química da salicina. (Figura 2).

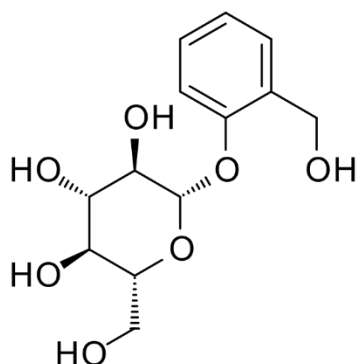


Figura 2 – Esquema da estrutura química da salicina.

Disponível em <http://en.wikipedia.org/wiki/Salicin>

Em 1930 Gay-Lussac constatou que a salicina era um composto não-azotado, e em 1935, Raffaele Piria, químico italiano, descobriu, através da hidrólise em meio ácido, que a estrutura da salicina era composta por metades de D-glucose e álcool salicílico. O álcool salicílico foi então oxidado a ácido salicílico, sendo a sua estrutura confirmada com uma amostra autêntica de ácido salicílico (Figura 3), obtida a partir da oxidação do aldeído salicílico (Figura 4).

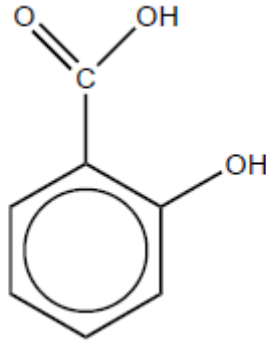


Figura 3 – Esquema da estrutura química do ácido salicílico.

Disponível em http://en.wikipedia.org/wiki/Salicylic_acid

Em 1835, o farmacêutico suíço Pagenstecher terá usado o extrato de ulmária (*Spiraea ulmaria*) como alternativa à casca do Salgueiro passando o seu testemunho ao químico alemão, Lowig, que por sua vez também obteve ácido salicílico por oxidação (Rainsford, 1984).

A oxidação do aldeído salicílico também resultou na formação de ácido salicílico (como ilustrado na figura 4). A sua estrutura foi mais tarde esclarecida pelo químico francês, Cohours, em 1845, e pelo químico escocês, Couper, em 1858. Ambos hidrolisaram o éster metilsalicílico (Figura 4) contido no óleo de gualtéria (*Gaultheria procumbens*) obtendo o ácido salicílico embora em pequena escala (Couper, 1858).

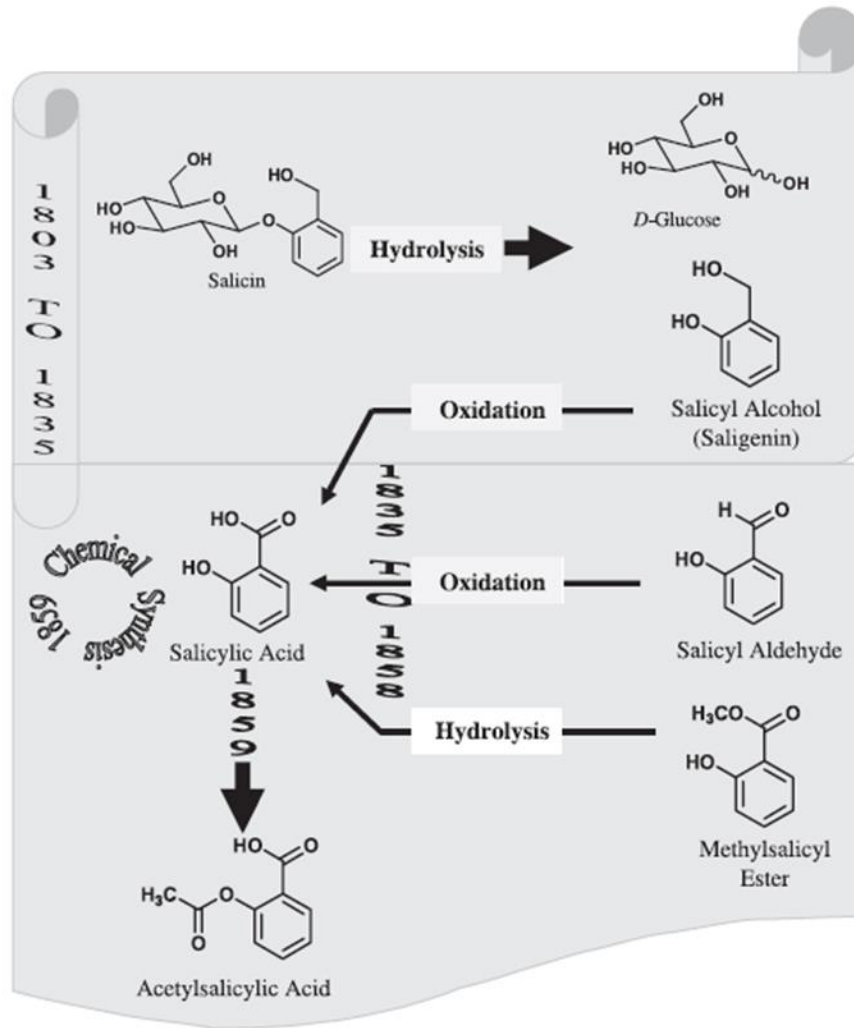


Figura 4 – Ilustração da síntese do ácido salicílico.

Adaptado de Mahdi et alli. (2006)

Mais tarde, desenvolveram reações químicas em grande escala, levando à criação de um estabelecimento comercial, o *Heyden Chemical Company*, na Alemanha, para a produção de ácido salicílico para fins analgésicos e antipiréticos. No entanto, o ácido salicílico revelou-se irritante para o estômago, causando hemorragia quando administrado em doses elevadas, tendo sido, por isso, acetilado quimicamente por Felix Hoffmann, em 1897, dando origem ao ácido acetilsalicílico (Figura 5).

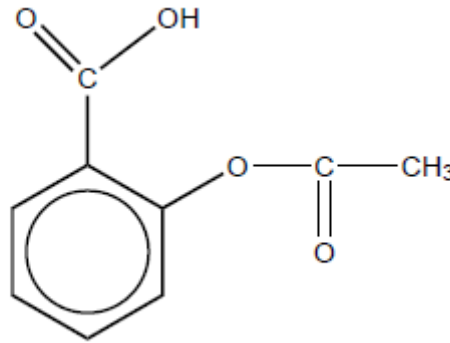


Figura 5 – Estrutura química do ácido acetilsalicílico

Disponível em Disponível em http://en.wikipedia.org/wiki/Acetylsalicylic_acid

Existe alguma controvérsia a respeito de quem decidiu acetilar o ácido salicílico - Felix Hoffmann ou a Heyden Chemical Company. Sneader, historiador Farmacêutico da Faculdade de Farmácia, da Universidade de Strathclyde, sugere que a descoberta da aspirina deve ser atribuída, a Arthur Eichengrün, colega de Hoffman, que sintetizou o ácido acetilsalicílico no início de abril de 1897. No entanto, Eichengrün é apenas mencionado cerca de 50 anos mais tarde devido ao regime nazi que conhecia a sua ascendência judaica. De qualquer modo, o sucesso finalmente chegou quando a companhia *Bayer* registou o produto sob o nome comercial de Aspirina, a 6 de março de 1899, e passou a distribuí-la em clínicas e hospitais para o tratamento dos pacientes.

Em 1900, a Bayer lançou a aspirina sob a forma de comprimidos, tornando-se conhecida em todo o mundo como “remédio seguro e eficaz para o alívio da dor”. Em poucos anos, a aspirina passou a estar disponível para os médicos e para o público em geral. A partir de 1915 passa a estar acessível ao público sem necessidade de receita médica.

IV. O Ácido acetilsalicílico

O ácido acetilsalicílico - AAS (em latim *acidum acetylsalicylicum*), é um salicilato obtido a partir do ácido salicílico com anidrido acético, em presença de algumas gotas de ácido sulfúrico que por sua vez atua como catalisador da reação (figura 6).

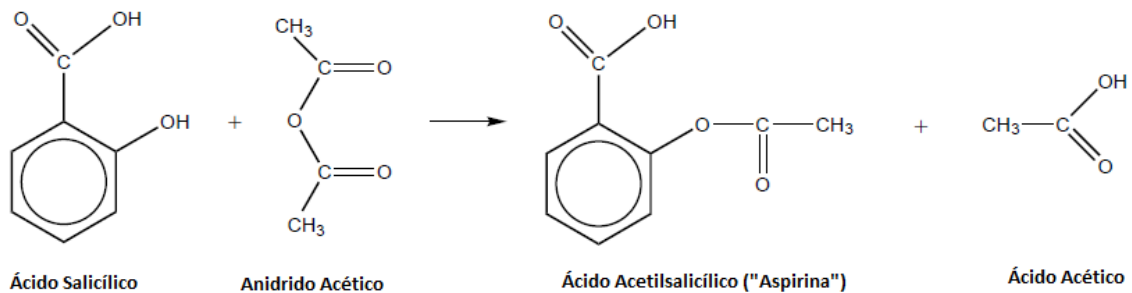


Figura 6 – Esquema da reação de síntese do ácido acetilsalicílico.

Adaptada de Lewis et alli. (1998)

É um fármaco do grupo dos anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) com propriedades analgésicas, antipiréticas, anti-inflamatórias e anti-plaquetárias. Estes efeitos farmacológicos devem-se à ação da porção acetyl e do salicilato da molécula intacta, bem como à ação do ácido salicílico (metabolito ativo). As ações de outros salicilatos devem-se somente à porção salicilato.

1. Efeitos terapêuticos

A sua ação analgésica deve-se a uma ação periférica em que há uma obstrução da geração do impulso da dor; e a uma ação central, possivelmente no hipotálamo. A ação periférica pode predominar e envolve provavelmente a inibição da síntese das prostaglandinas e possivelmente a inibição da síntese e/ou ações de outras substâncias que sensibilizam os recetores da dor aos estímulos mecânicos ou químicos.

Quanto à sua ação anti-inflamatória, pensa-se que os salicilatos possam agir periféricamente no tecido inflamado, provavelmente inibindo a síntese das prostaglandinas e, possivelmente, inibindo a síntese e/ou ações de outros mediadores da resposta inflamatória. A inibição da migração dos leucócitos, da libertação e/ou ações de enzimas lisossomais, das ações em outros processos celulares e imunológicos nos tecidos do mesênquima e conectivos podem estar também envolvidas.

O efeito antipirético resulta da sua ação no centro do hipotálamo, a nível do centro regulador do calor, produzindo vasodilatação periférica, tendo como resultado um aumento do fluxo sanguíneo cutâneo, da sudorese, e perda de calor. A ação central pode envolver a inibição da síntese de prostaglandinas a nível do hipotálamo. Também a febre causada por pirogênicos endógenos podem também responder à terapia com salicilatos.

O efeito anti-agregante plaquetário do AAS está relacionado com a sua capacidade de afetar a função das plaquetas inibindo a COX e impedindo desse modo a formação do tromboxano A₂. Esta ação é irreversível e os efeitos persistem durante a vida das plaquetas expostas (4 a 7 dias). O AAS pode também inibir a formação de prostaciclina, que por sua vez são inibidores da agregação plaquetária nos vasos sanguíneos; esta ação é, no entanto, reversível. (disponível em: http://www.ff.up.pt/monografias_toxicologia/monografias/ano0607/aspirina/mecanismo.html)

2. Mecanismo de ação

De uma maneira geral, o seu mecanismo de ação consiste na inibição direta da atividade da enzima cicloxigenase (COX) diminuindo, deste modo, a formação dos precursores das prostaglandinas (PGs) e dos tromboxanos (TX) a partir do ácido araquidónico (AA). O AAS inibe ambas as isoformas da COX. A COX-1 desempenha um papel importante na manutenção das funções normais a nível vascular, gástrico e renal, catalisando a formação de prostaglandinas de proteção (Patrono *et alli*. 2001). A COX-2 é induzida por estímulos inflamatórios e por citocinas circulantes (Harper *et alli*. 2008). Assim, as ações anti-inflamatórias dos AINEs são devidas à inibição da COX-2, enquanto os efeitos indesejáveis, tais como irritação gástrica e efeitos renais tóxicos, são devidos à inibição da enzima constitutiva COX-1 (Figura 7).

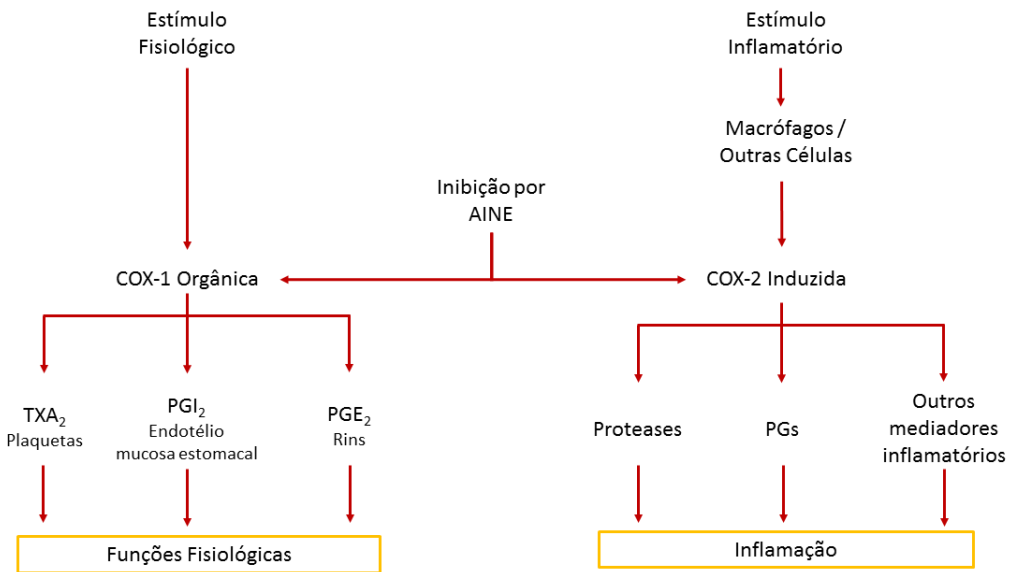


Figura 7 – Esquema do mecanismo de ação do AINE

Adaptado de Carvalho e Lemônica, 1998

3. Indicações terapêuticas

Existem no mercado inúmeros medicamentos cuja substância ativa é o ácido acetilsalicílico; no entanto, o principal é, inquestionavelmente, a Aspirina®. Sendo uma molécula com grupos multifuncionais que a tornam capaz de várias interações químicas com moléculas biológicas, esta possui uma gama de atividades farmacológicas, tais como: antipiréticas, anti-inflamatórias, anti-reumáticas, analgésicas, bem como propriedade antissépticas, tornando-se o medicamento mais comum vendido sem receita médica, estando indicado em variadas situações (disponível em: http://www.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=639&tipo_doc=rcm):

- Tratamento da dor e/ou febre (alívio da dor ligeira a moderada, nomeadamente: dor de cabeça, dor de dentes, dor óssea causada por doença neoplásica com metástases, cólicas menstruais e para reduzir a febre);
- Tratamento da cefaleia de tensão;
- Profilaxia da enxaqueca;

- Tratamento da inflamação não reumática (alívio da mialgia, na dor músculo-esquelética, e em outros sintomas de condições inflamatórias não reumáticas);
- Tratamento da artrite reumatóide, artrite juvenil, osteoartrite ou artrose (alívio sintomático de outras doenças reumáticas relacionadas devido à sua ação anti-inflamatória);
- Tratamento da febre reumática;
- Profilaxia da agregação plaquetária (o ácido acetilsalicílico está indicado na inibição da agregação das plaquetas na profilaxia de ataques isquémicos transitórios; na profilaxia do tromboembolismo cerebral e na profilaxia de recorrências de tromboembolismo), nomeadamente:
 - Profilaxia do enfarte do miocárdio (prevenção do enfarte do miocárdio em pacientes com angina estável ou instável e na diminuição das recorrências em pacientes com história de enfarte do miocárdio);
 - Profilaxia do tromboembolismo;
 - Profilaxia de trombose venosa profunda e embolia pulmonar logo após imobilizações prolongadas;
 - Redução do risco de morbidade e mortalidade em pacientes com antecedentes de infarte do miocárdio;
 - Redução do risco de um primeiro episódio de enfarte do miocárdio em pacientes com fatores de risco cardiovascular (por exemplo: diabetes mellitus, hiperlipidemia, hipertensão, obesidade, fumadores, idade avançada);
 - Aterosclerose;
- Tratamento da Doença de Kawasaki;

- Profilaxia da Demência senil multienfarte;
- Tratamento da Diabetes (efeito favorável sobre o metabolismo da glucose uma vez que acelera a sua utilização e estimula a produção da insulina);

4. Efeitos adversos

Apesar de muito frequentes em doses mais elevadas, os efeitos adversos (disponível em: http://www.ff.up.pt/monografias_toxicologia/monografias/ano0607/aspirina/reaccoesadversas.html) podem ocorrer mesmo em doses mais baixas, principalmente em doentes mais idosos.

De um modo geral, os efeitos adversos surgem mais frequentemente a nível do trato gastrointestinal, sendo a intolerância gastrointestinal o mais comum, causando, geralmente mal estar gástrico, sensação de estômago pesado, anorexia, náuseas, vômitos e epigastralgia. Normalmente, as lesões ocorrem nos locais onde o pH tem um valor mais baixo como no estômago e na primeira porção do duodeno. Para além deste, outros efeitos adversos podem ocorrer: flatulência, dor abdominal e diarreia. Estes variam de acordo com uma série de fatores tais como: dose, idade, presença de doença péptica anterior, uso de álcool, entre outros.

Mais raramente, o ácido acetilsalicílico também pode provocar lesões graves, tais como úlcera gástrica e úlcera duodenal, que podem sangrar ou perfurar, acarretando um alto risco de mortalidade.

O uso crónico de AAS leva a perdas sanguíneas ocultas através do trato gastrointestinal e, eventualmente, pode causar anemia crónica. Indivíduos que ingerem entre 1 a 3g de aspirina por dia perdem 3 a 5 ml de sangue/dia, enquanto indivíduos normais que não fazem uso de anti-inflamatórios perdem menos do que 1 ml de sangue/dia. O sangramento gastrointestinal deve-se à ação tóxica do AAS sobre a mucosa gastrointestinal e é agravado pela sua ação inibitória sobre a agregação plaquetária.

A maioria das reações graves ocorre em indivíduos que administram doses elevadas ou que fazem uso crónico. Neste último grupo, o risco de úlcera com sangramento é

aproximadamente 3 a 4 vezes maior do que entre os não usuários. O uso de formulações gastrorresistentes pode potencialmente reduzir os efeitos adversos gastrointestinais.

i. Efeitos adversos no rim:

Os salicilatos podem diminuir a função renal, especialmente quando as concentrações do soro alcançam 25mg por 100 ml. Contudo, o risco de complicações devido a esta ação parece mínimo nos pacientes com função renal normal.

ii. Efeitos adversos dermatológicos

A nível dermatológico, pode surgir angioedema ou urticária especialmente em pacientes com história de angioedema ou urticária idiopática recorrente. Embora pouco frequentes, podem também ocorrer o síndrome de Stevens-Johnson e eritema multiforme.

iii. Hipersensibilidade

O AAS pode causar uma série de sintomas em indivíduos sensíveis: rinite vasomotora, edema angioneurótico, urticária, broncoespasmo (ocorre mais provavelmente nos pacientes com asma, alergia e pólipos nasais induzidos pelo AAS), edema laríngeo, hipotensão e choque.

Embora muito semelhantes às reações de carácter anafilático, essas reações não parecem ser mediadas pelo sistema imunológico, tratando-se de intolerância e não alergia. Essas reações são mais comuns em indivíduos alérgicos.

iv. Outros efeitos adversos

A utilização de ácido acetilsalicílico tem sido associada à síndrome de Reye em crianças com doenças de etiologia viral, especialmente varicela e influenza, mesmo em doses baixas (15 mg/kg/dia). Recomenda-se que não se utilize salicilatos em crianças e adolescentes até que a presença dessas etiologias seja excluída.

É necessário uma atenção médica para as seguintes reações, menos frequentes ou raras, caso se tornem persistentes ou incomodativas:

- Reação anafilática
- Anemia

- Dermatites alérgicas
- Ulceração gastrointestinal com possível sangramento
- Irritação retal com supositórios de AAS

5. Farmacologia

O ácido acetilsalicílico apresenta um tempo de semi-vida curto quando administrado *in vivo*, sendo rapidamente hidrolisado a ácido salicílico (um fraco inibidor das COXs) pelas esterases do plasma e dos tecidos. Testes em sangue humano, *in vitro*, comprovam que é 100 vezes mais potente na inibição da COX-1 do que a COX-2 (Dovizio *et alli.* 2012).

Quando administrada em doses baixas (75-100mg por dia), a aspirina impede quase por completo a produção de TXA₂ a partir da COX-1 (Patrono *et alli.* 2005), demonstrando assim, que a inibição máxima da função plaquetária, dependente do TXA₂, ocorre em baixas doses. Esse efeito inibitório persiste ao longo do intervalo entre as doses (24h) devido à inibição irreversível da COX-1 e ao facto das plaquetas terem uma capacidade limitada de nova síntese proteica (Evangelista *et alli.* 2006). A inibição da COX-1 ocorre, na sua maioria, na circulação pré-sistémica onde o fármaco atinge as concentrações mais elevadas, após administração oral (Patrono *et alli.* 2005). Ao sofrer um efeito da primeira passagem, a concentração sistémica torna-se bastante baixa (com uma dose de 75 mg, a C_{max} é de aproximadamente 7µM) e, conseqüentemente, insuficiente para inibir completamente a atividade da COX-1. Quando administrada sobre a forma de libertação controlada, a sua concentração sistémica é desprezável (menos do que 1µM) e portanto, incapaz de inibir quer a COX-1 como a COX-2 (Charman *et alli.* 1993).

O impacto de uma dose baixa de aspirina, administrada uma vez por dia, na atividade da COX-2 *in vivo* é quase insignificante, uma vez que, as concentrações sistémicas do fármaco são insuficientes para afetá-la de forma significativa e ainda que possa ocorrer uma inibição, esta deve ser quase totalmente recuperada em poucas horas (Dovizio *et alli.* 2012; Patrono *et alli.* 2005). De uma forma geral, as características farmacocinéticas e farmacodinâmicas da aspirina em doses baixas sustentam a ideia de que a função anti-plaquetária da aspirina está sobretudo dependente da inibição da COX-1. Em doses mais elevadas, a aspirina pode afetar a COX-2 de uma forma dependente da dose.

V. Aplicações da aspirina na prevenção do cancro

Em virtude do crescente interesse pela aspirina, têm vindo a ser realizadas novas pesquisas clínicas e farmacêuticas ao longo dos anos. Uma das aplicações mais conhecidas da aspirina é como anti-agregante plaquetário. Em 1948, o clínico geral californiano, Lawrence Craven, observou que a toma regular da aspirina poderia reduzir consideravelmente o risco de enfarte miocárdio. Num estudo realizado com 400 pacientes tratados com aspirina diariamente, verificou-se que nenhum sofreu acidentes cardiovasculares durante o período de investigação. Tais resultados incentivaram várias organizações, nomeadamente a FDA (*Food and Drug Administration*) a testar a aspirina como profilático para o enfarte do miocárdio em pacientes com problemas cardíacos. Em 1988, a FDA também aprovou a sua utilização para a prevenção de ataques isquémicos transitórios recorrentes, fazendo da aspirina a terapia padrão para indivíduos com histórico de acidentes vasculares cerebrais (Childs, 2006).

Entretanto, diversos estudos epidemiológicos demonstraram que a ingestão frequente de aspirina e outros anti-inflamatórios não esteroides (AINEs), parecia contribuir para uma redução do risco de cancro, em particular, o cancro colorretal (Childs, 2006). O resultado desse benefício da aspirina seria conseguido com baixas doses diárias (aproximadamente 75mg), o mesmo utilizado para a prevenção de doenças cardiovasculares, posicionando a ação anti-agregante plaquetária da aspirina no centro de sua ação anticancerígena. A descoberta de que baixas doses de aspirina são eficazes tanto para a prevenção de eventos cardiovasculares como para o cancro, sugere que as duas condições patológicas podem ter um mecanismo de ação comum. Nesse sentido, foram realizadas pesquisas de modo a comprovar esta hipótese.

Apesar de existir uma grande variedade de AINEs, nomeadamente o ibuprofeno, o cetoprofeno, o naproxeno, o diclofenac e o meloxicam, entre outros, a aspirina tornou-se, nos últimos 30 anos, o foco de uma investigação mais aprofundada sobre a sua utilização quer na prevenção, quer no tratamento do cancro (Orellana, 2003). Os seus benefícios conhecidos a nível cardiovascular e os dados de eficácia e segurança disponíveis apontam para aspirina como o AINE mais provável para utilização na profilaxia do cancro. Desde então, tem-se assistido ao crescente interesse nos seus efeitos clínicos e farmacológicos neste campo, impulsionando a realização de diversos

estudos *in vitro* e estudos experimentais em animais. Mesmo assim, o grupo de peritos da USPTF (*Preventive Services Task Force of USA*) não recomenda a aspirina para quimioprevenção primária, embora tenha destacado a necessidade de se estabelecer a idade em que o tratamento deve ser iniciado, a duração mais eficaz de ingestão e a dosagem ideal.

1. Aplicação da aspirina na profilaxia do cancro colorretal

i) Epidemiologia

O cancro colorretal (CCR) é uma das neoplasias mais comuns no mundo, sendo o terceiro cancro mais comum a seguir ao cancro da mama e da próstata, com uma taxa de incidência acima dos 30 casos por 100.000 habitantes em Portugal (Ferlay *et alli.* 2010). Afeta mais os homens do que as mulheres. De acordo com um relatório recente, é o terceiro cancro mais frequente em homens (663 mil novos casos por ano, 10,0% do total) e o segundo em mulheres (570 mil novos casos por ano, 9,4% do total). Em todo o mundo, foram estimados, em 2008, cerca de 608 mil mortes por CCR (cerca de 8% do total das mortes por cancro) tornando-se a quarta causa mais comum de morte por cancro (Ferlay *et alli.* 2010). O rastreio reduz a mortalidade por CCR e é recomendado a partir dos 50 anos para os indivíduos de risco médio, embora o cumprimento esteja longe de ser adequado visto que não está acessível a ambientes com poucos recursos (Shapiro *et alli.* 2008).

ii) O cancro colorretal

O CCR é um tumor maligno, invasivo, que tem origem nas células que formam a camada epitelial da parede do intestino grosso. As células epiteliais do cólon, responsáveis pela constituição do tecido da mucosa do cólon, vão sofrendo regeneração quando se encontram no seu estado normal; porém, quando as células perdem este mecanismo de controlo e sofrem alterações no seu genoma, podem transformar-se em células cancerígenas, resultando na formação de um tumor (<http://www.roche.pt/sites-tematicos/infocancro/index.cfm/tipos/cancro-do-colon-recto/>) (Figura 8).

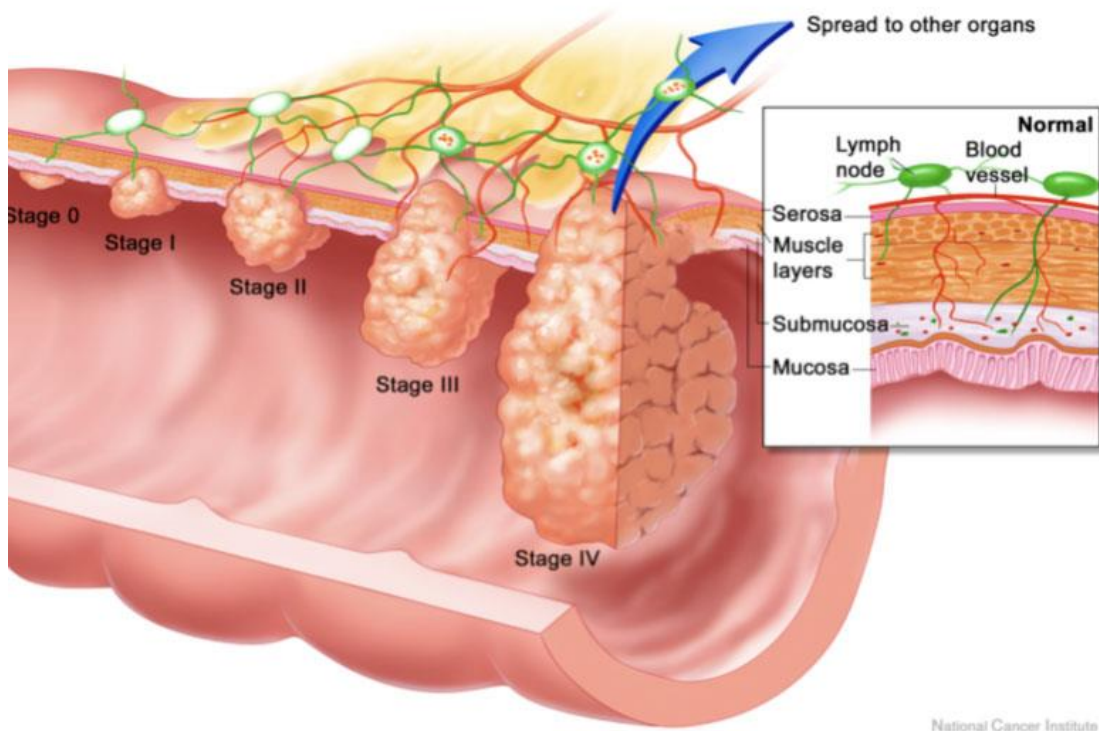


Figura 8 – Ilustração das etapas da formação do cancro colorretal.

Disponível em <http://www.cancer.gov/>

O cancro que tem início no cólon chama-se cancro do cólon e o cancro que tem início no reto, chama-se cancro retal. O cancro que afete qualquer um destes órgãos pode, também, ser chamado de CCR. A diferença entre cólon e reto está na localização anatómica e na necessidade de tratamento diferente; no entanto a biologia tumoral é a mesma.

Muito frequentemente, o CCR tem origem num pólipó que é um crescimento anómalo de tecido epitelial na parede do intestino. No entanto, nem todos os pólipó se transformam em cancro. Os pólipó podem ser removidos antes de se tornarem malignos. Quando identificadas células malignas no pólipó removido, o doente pode ficar curado desde que as células não tenham invadido outras camadas do órgão. Não sendo removidos, os pólipó podem transformar-se em adenocarcinomas podendo invadir as várias camadas do órgão e disseminar-se pelo organismo.

Não se sabe, exatamente, quais as causas do CCR. No entanto, investigações nesta área demonstraram que pessoas com determinados fatores de risco, têm maior probabilidade

de desenvolver este tipo de cancro do que outras. Um fator de risco é algo que está ligado a uma possibilidade aumentada de desenvolver a doença. Nos estudos efetuados, foram já identificados os seguintes fatores de risco:

- **Idade:** a probabilidade de ter CCR aumenta com a idade. Mais de 90% dos diagnósticos desta doença são efetuados em pessoas com mais de 50 anos. A idade média do diagnóstico é 65 anos;
- **Pólipos colorretais:** os pólipos são saliências do tecido da parede do cólon ou do reto. São comuns em pessoas com mais de 50 anos. A maioria dos pólipos é benigna (não cancerígena), mas alguns deles podem tornar-se cancerígenos (adenomas). Detetar e remover os pólipos, pode reduzir o risco de cancro;
- **História familiar de cancro colorretal:** os familiares próximos (pais, irmãos ou filhos) de uma pessoa com história de CCR, têm maior probabilidade de desenvolver a doença, especialmente se o familiar teve a doença ainda jovem. Se muitos familiares tiverem história de cancro CCR, então o risco ainda é maior;
- **Alterações genéticas:** As alterações em determinados genes, aumentam o risco de cancro.

O cancro do cólon não-polipoide hereditário (HNPCC) é o tipo de cancro hereditário, ou genético, mais comum; representa cerca de 2% de todos os casos de cancro colorretal e resulta numa alteração de vários genes *mismatch repair*. Aproximadamente 3 entre 4 pessoas, com alteração no gene HNPCC, desenvolvem cancro do cólon; a idade média do diagnóstico de cancro do cólon é 44 anos.

A Polipose Adenomatosa Familiar (PAF) hereditária é rara e corresponde à formação de centenas de pólipos no tubo digestivo, mas sobretudo no cólon e no reto (Figura 9).

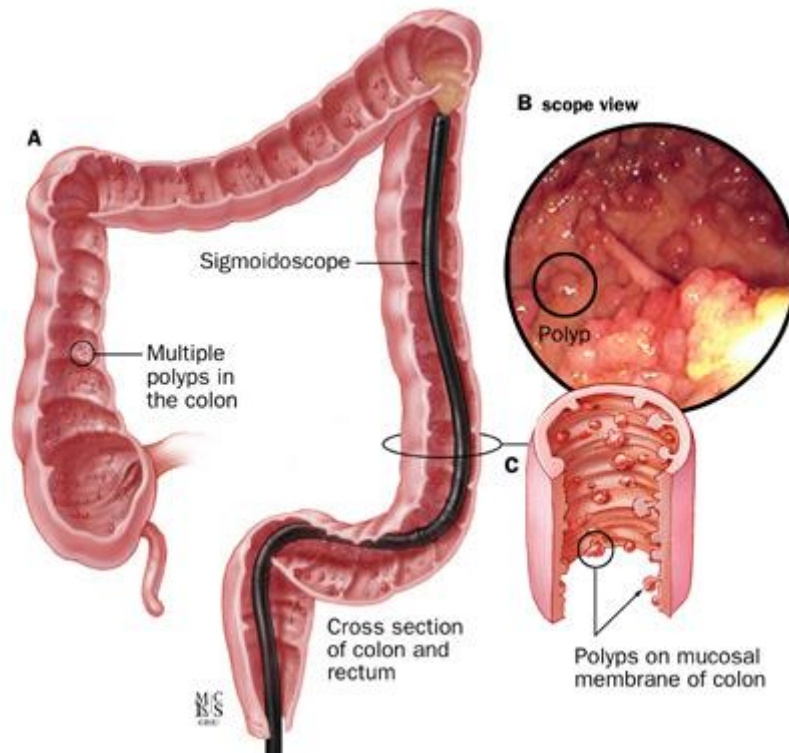


Figura 9 – Colonoscopia de um intestino com Polipose Adenomatosa Familiar.

Disponível em <https://gi.jhsp.org>

É causada por uma alteração num gene específico, chamado APC. Se a polipose adenomatosa familiar não for tratada resulta em CCR, aproximadamente aos 40 anos de idade.

Estima-se que cerca de 20% dos tumores colorretais apresentam uma componente hereditária, e por isso, é de extrema importância a determinação da natureza de uma neoplasia intestinal. Pensa-se, também, que síndromes de predisposição ao cancro hereditário geralmente predispõem à ocorrência de mais de um tipo de cancro no mesmo paciente ou na família.

2. Mecanismo de ação da aspirina na prevenção do cancro

Poderão ser vários os mecanismos potencialmente envolvidos nesta associação: uns dependentes das prostaglandinas e da ciclooxigenase (COX), nomeadamente da COX-2, e outros provavelmente independentes. Uma vez confirmados, poderão abrir-se caminhos para o uso racional de medicamentos antiplaquetários tradicionais, tais como aspirina e clopidogrel, e possivelmente novos agentes antiplaquetários para o

desenvolvimento de quimioprevenção, bem como para tratamentos personalizados do cancro.

Estudos realizados por Petersen *et alli.* (2005) demonstraram que doses baixas de aspirina protegem as células contra danos oxidativos e induzem a apoptose. Estas características têm sido demonstradas em particular nas células epiteliais do cristalino humano, comprovando o potencial antioxidante da aspirina. Várias evidências sugerem que a aspirina possui propriedades antiproliferativas em diferentes linhagens de células, incluindo: células de tumor colorretal humano, células cancerígenas gástricas, células B de leucemia linfocítica crónica, células de leucemia mielóide, células do músculo liso vascular, células de adenocarcinoma do cólon, bem como muitos outros tipos de células.

Antes de recomendar o uso de baixas doses de aspirina na prevenção de cancro é necessário esclarecer o seu mecanismo de ação. O mecanismo pelo qual a aspirina e outros AINEs exercem os seus efeitos terapêuticos no cancro foi estabelecido pela primeira vez com base na inibição da síntese de prostaglandinas (PGs). As prostaglandinas são moléculas de sinalização e são responsáveis pela regulação de várias funções celulares, incluindo a expressão de genes, crescimento e diferenciação. A superprodução de PGs é uma característica demonstrada em diferentes tipos de cancro, sendo essa característica passível de ser inibida pelo uso da aspirina.

Como já foi discutido anteriormente, a diminuição da síntese das prostaglandinas é conseguida através da inibição das COXs. Estas enzimas são responsáveis pela síntese de PGs em várias células e parecem desempenhar um papel importante em várias doenças malignas (Munkarah *et alli.* 2002). Conhecem-se duas isoformas da enzima: cicloxigenase 1 (COX-1) e cicloxigenase 2 (COX-2). Apesar de reguladas de forma diferente a nível catalítico, transcricional e pós-transcricional, compartilham, no entanto, as mesmas atividades catalíticas: *i) Atividade da ciclooxigenase*, que oxida o ácido araquidónico (AA) a prostaglandina G_2 e *ii) Atividade da peroxidase*, que reduz a prostaglandina G_2 ao endoperóxido instável PGH₂. Cada monómero atua como uma subunidade alostérica (regulatória), através da sua capacidade de converter o seu par num monómero catalítico transformando o AA em PGG₂ que por sua vez é transformado em PGH₂ pela ação da peroxidase da COX-1 e COX-2 (Yuan *et alli.* 2009). O PGH₂ é posteriormente metabolizado pelas sintases das prostaglandinas

biologicamente ativas, ou seja, da PGE₂, da PGF₂ α , da PGD₂, da PGI₂ (prostaciclina) e do TXA₂ (tromboxano A₂).

O gene COX-1 é considerado um "gene de manutenção" altamente expresso nas plaquetas, responsável pela produção de TXA₂, que promove a ativação e agregação das plaquetas, vasoconstrição e proliferação das células do músculo vascular liso (Smyth *et alli.* 2009). Além disso, é altamente expresso em células epiteliais gástricas, onde desempenha um papel importante na citoproteção através da geração de prostaglandinas, tais como PGE₂. Relativamente ao gene COX-2, é produzido em diversos locais reguladores como resposta primária (Kang *et alli.* 2007), sendo também expresso, em condições fisiológicas, em alguns tecidos tais como o endotélio, rim e cérebro, e ainda em estados patológicos, tais como o cancro (Harper *et alli.* 2008). Em células cancerígenas, a principal prostaglandina produzida pela COX-2 é a PGE₂, a qual desempenha um papel importante na sua motilidade, proliferação e resistência à apoptose (Dixon *et alli.* 2001). Assim, o excesso de expressão de COX-2 leva ao aumento dos níveis de PGE₂ contribuindo, deste modo, para o aparecimento do fenótipo neoplásico (Masmoudi *et alli.* 2004). Altos níveis de COX-2 podem também conferir resistência à apoptose em algumas células cancerígenas por ativação de genes que promovem a sobrevivência celular (Wang & Dubois, 2005). A aspirina pode, portanto, exercer as suas propriedades anticancerígenas através da inibição da COX-2 e, subsequentemente, a inibição da produção de PGs, podendo, deste modo, resultar na indução de apoptose e/ou a inibição de proliferação celular.

Ao contrário de outros AINEs, apenas a aspirina é capaz de provocar uma inativação irreversível das isozimas COX através da acetilação de uma porção específica de serina (Ser529 da COX-1 e Ser516 da COX-2) (Patrono *et alli.* 2008). A aspirina liga-se a um monómero da COX-1 e COX-2, através da interação com o resíduo Arg120 e modifica covalentemente a isozima COX acetilando a Ser529 (na COX-1) e Ser516 (na COX-2) (Sidhu *et alli.* 2010; Rimo *et alli.* 2010). A acetilação da subunidade alostérica da COX-1 pela aspirina provoca uma inibição irreversível da atividade da COX impedindo a produção de PGG₂ a partir do AA. A COX-2 acetilada torna-se incapaz de formar PGG₂, e em vez disso, produz ácido 15R-hidroxi-eicosapentaenoico (15R-HETE) (Sharma *et alli.* 2010). Estudos *in vitro* demonstraram que 15R-HETE é convertido, pela 5-lipoxigenase (5-LOX), em epi-lipoxinas (LXs), responsáveis por ações anti-proliferativas e anti-inflamatórias. Contudo, existem provas convincentes de que, em

humanos, estes mediadores lipídicos desencadeados pela aspirina são escassos *in vivo*. Importa ainda salientar que as concentrações sistémicas de aspirina, alcançadas após a administração de doses baixas, são insuficientes para acetilar a COX-2 significativamente (Dovizio *et alli*. 2013). Pode-se supor que as concentrações locais de aspirina obtidas no sistema digestivo, incluindo no cólon e no esófago, após a sua administração, são apenas suficientes para acetilar as isoenzimas COX- epiteliais. No entanto, é necessário a realização de novos estudos, utilizando biomarcadores apropriados, de modo a obter novas conclusões.

Tem sido demonstrado que a aspirina pode evitar a ativação de NF- κ B (Fator nuclear kappa B) induzida por espécies de oxigénio reativas, como por exemplo o peróxido de hidrogénio (H₂O₂), de uma forma dependente da dose, através da inibição da fosforilação e degradação das proteínas inibidoras do fator de transcrição (I κ B α e I κ B β) em células HeLa (Kutuk & Basaga, 2003). Por outro lado, a p70^{s6k} constitui um membro importante da família de sinalização da MAP quinase (Mitogen Activated Protein Kinase) sendo importante para a progressão do ciclo celular. Estes resultados indicam que os efeitos anti proliferativos e apoptóticos da aspirina são mediados por diferentes mecanismos específicos de cada célula (Han *et alli*. 2001).

No entanto, o uso da aspirina como anticancerígeno é prejudicado quer pela elevada dose necessária para demonstrar o potencial cancerígeno, quer pela sensibilidade da mucosa gástrica. A utilização de uma concentração elevada de aspirina *in vitro* não é comparável com a sua dose habitualmente prescrita de 100 mg para uso humano. Além disso, Wang & Dubois (2005) relataram que o uso prolongado de doses elevadas de aspirina leva a sérios efeitos adversos cardiovasculares. Novas investigações vêm, portanto, recomendar a utilização de doses mais baixas para balançar a relação custo/benefício da terapia com aspirina em cancro.

i. Mecanismos dependentes da COX

Com base no conhecimento da farmacologia da aspirina, tem sido proposto que tanto a dose baixa de aspirina como a dose alta, podem afetar diferentes etapas da tumorigénese do cólon. Baixas doses de aspirina podem contrariar a hiperregulação da expressão da COX-2, possivelmente induzido por plaquetas em células estromais e em células epiteliais intestinais. Podem também afetar a metástase através da inibição da ativação plaquetária, sendo este fenómeno considerado importante nos tumores em

disseminação. Doses mais elevadas de aspirina podem, por sua vez, afetar diretamente a atividade da COX-2, uma vez que é expressa em adenomas intestinais podendo traduzir-se numa redução da progressão da lesão assim como da metástase (Rothwell *et alli.* 2012).

Num estudo recente, Ulrych *et alli.* demonstraram que tanto *in vitro* (em concentrações micromolares) como *ex vivo* [após a administração de uma única dose analgésica (500 mg) ou após a administração de uma dose anti-plaquetar de 100 mg dia, durante 3 dias], a aspirina inibe a libertação de S1P (*esfingosina-1-fosfato*) a partir de plaquetas humanas, através da inibição da produção de TXA₂ dependente da COX-1, mesmo após estimulação com um potente péptido agonista do recetor da trombina PAR-1 (*protease-activated receptor-1*) (Ulrych *et alli.* 2011), sendo que a sua libertação é dependente da ativação do recetor do TXA₂. A S1P desempenha um papel chave como molécula reguladora no desenvolvimento do cancro (Kawamori *et alli.* 2009), através da promoção da proliferação celular, sobrevivência e regulação da angiogénese, sugerindo o seu envolvimento na tumorigénese. Nos seres humanos, a S1P é um constituinte natural do plasma e é gerado a partir da esfingosina (SPH), através da enzima esfingosina-quinase (SPHK), das quais se conhecem duas isoformas (SphK1 e SphK2) (Tani *et alli.* 2005). As plaquetas geram e armazenam grandes quantidades de S1P que é libertada por estimulação com ativadores da proteína quinase C (PKC), tal como a trombina e o TXA₂ (Tani *et alli.* 2005). A SPHK é altamente ativa em plaquetas, as quais, no entanto, não têm a capacidade de sintetizar substrato para a esfingosina (Tani *et alli.* 2005). Assim, a sua absorção extracelular e subsequente fosforilação de S1P foi proposta como o mecanismo principal de formação de S1P em plaquetas. A S1P, por sua vez, acumula intracelularmente, após ativação das plaquetas, uma vez que não possuem a enzima liase S1P para a degradar (Yatomi, 2006).

Num estudo realizado em indivíduos com histórico de pólipos adenomatosos, foi detetada a inibição de PGE₂ em biópsias rectais realizadas após 1 mês de tratamento com três doses de aspirina (81, 325, e 650 mg) ou placebo (Sample *et alli.* 2002). Inesperadamente, a dose diária de aspirina de 81mg também inibiu níveis de PGE₂ à semelhança do que aconteceu com a dose de 650mg. Foi demonstrado, ainda, que o tratamento com 81mg de aspirina por dia durante três meses reduziu a produção de PGE₂ na mucosa e transformando-a em mucosa retal com aparência normal. Estes resultados podem indicar que a aspirina em baixa dose é suficiente para atenuar os

níveis de PGE₂ no microambiente do trato GI. No entanto, tem sido afirmado que a contaminação das plaquetas durante as biópsias retais pode ter contribuído significativamente para a geração de prostaglandinas na mucosa retal explicando, assim, a eficácia da aspirina em baixas doses na inibição das prostaglandinas neste cenário. Portanto, devem ser realizados outros estudos utilizando metodologias mais adequadas de modo a esclarecer definitivamente se doses baixas de aspirina afetam a atividade da COX-1 no trato gastrointestinal. Além disso, estes estudos devem esclarecer a possível contribuição do efeito da aspirina sobre a atividade da COX-1 na aparente redução da produção de prostaglandinas na mucosa retal. Estes estudos são indiscutivelmente necessárias para resolver a atual incerteza sobre a dose ideal de aspirina e o regime de dosagem para a prevenção do cancro.

ii. Mecanismos independentes da COX

Como já referido anteriormente, a aspirina pode induzir efeitos antiproliferativos em várias moléculas reguladoras de células cancerígenas por vias não dependentes da produção de PGs e afetar a progressão do ciclo celular (Goel *et alli.* 2003), nomeadamente através da inibição do fator nuclear kappa B (NF-kB) – responsável pela produção de citocinas e pela sobrevivência celular – (Yin *et alli.* 1998); da inibição da enzima serina/treonina quinase (p70^{s6k}) – responsável pelo crescimento e progressão do ciclo celular – da proteína linfoma de células-B2 (BCL-2) – proteína oncogénica inibidora da apoptose – das enzimas caspases – responsáveis pela apoptose e programação celular, entre outras moléculas intracelulares. A maioria destes efeitos tem sido encontrada *in vitro* utilizando concentrações elevadas de aspirina que não podem ser obtidos na circulação sistémica, após administração de doses baixas de fármaco. Sob estas condições experimentais, diferentes efeitos antitumorais independentes da COX foram relatadas (resumidos na Figura 5). No entanto, é importante salientar que ainda não há evidências convincentes que comprovem que estes mecanismos são praticáveis *in vivo*, particularmente com doses baixas de aspirina (Hanif *et alli.* 1996).

As vias independentes da COX que podem ser alteradas através de concentrações elevadas de aspirina, que podem contribuir para os efeitos tumorais, envolvem: i) a inibição de sinalizações pró-tumorais (como Wnt/ β -catenina, ERK, NF-KB e mTOR); e ii) a ativação da sinalização anti-tumoral (por exemplo, via a AMPK).

a. Via Wnt/ β -catenina

A ativação da via Wnt/ β -catenina é o primeiro passo em quase todos os cânceres colorretais e ocorre através da acumulação citoplasmática de β -catenina livre. Na maioria dos casos, a ativação da via Wnt/ β -catenina é consequência de uma mutação no gene APC resultando numa forma mutada da proteína APC que, por sua vez, altera a sua funcionalidade como supressora do complexo β -catenina. Isto traduz-se numa redução da degradação da β -catenina resultando em níveis citoplasmáticos anormalmente elevados desta. A β -catenina estabilizada migra para o núcleo, onde interage com o fator celular-T/fator intensificador linfóide (TCF/LEF, T-Cell Factor/Lymphoid Enhancer Factor), fatores transcricionais que regulam a atividade de genes como C-MYC e MMP9, os quais estão associados a eventos da progressão tumoral, como proliferação e invasão. Esta ativação anormal constitui a etapa inicial na tumorigénese colorretal e pode levar à mutação das células do epitélio intestinal que assumem capacidade proliferativa exacerbada, podendo originar a formação de adenomas. A acumulação de novas mutações pode resultar na formação da metástase. Bos *et alli.* investigaram os efeitos da aspirina sobre a atividade da via Wnt β -catenina oncogénica em linhas celulares de CCR e observaram que a aspirina inibe a via Wnt/ β -catenina estimulando a fosforilação com a consequente degradação da β -catenina (Bos *et alli.* 2006). Na realidade, numa gama de concentrações milimolares (que não podem ser alcançados após a dosagem com a aspirina, mesmo em doses anti inflamatórias elevadas, a aspirina inibiu a atividade enzimática da proteína fosfatase 2A (PP2A), uma proteína que influencia o estado de fosforilação da β -catenina. A inibição PP2A provoca um aumento dos níveis de β -catenina fosforilada levando à sua degradação traduzindo-se na redução da atividade da via Wnt/ β catenin.

b. Sinalização ERK

Tem sido demonstrado, *in vitro*, que as concentrações terapêuticas de AINEs, incluindo aspirina, podem modular as respostas biológicas independentes da COX através de alterações da atividade de quinases envolvidas em diferentes vias de sinalização, nomeadamente quinases extracelulares reguladas pela sinalização ERK1/2 (Seger, 1995) (Figura 10). A via de ERK é ativada em vários tipos de células por diversos estímulos extracelulares. A sua ativação conduz à fosforilação de diversos substratos implicados numa grande variedade de respostas celulares, tais como a proliferação,

diferenciação, sobrevivência e motilidade celular (Seger, 1995). A ativação anormal da via ERK parece ser uma característica comum essencial para muitos tipos de tumores humanos. Pan *et alli.* demonstraram recentemente que vários AINEs, incluindo aspirina, suprimem a sinalização ERK através da inibição da ligação a oncogenes Ras e à quinase c-Raf que conduz à ativação constitutiva da ERK, um evento diferente de progressão tumoral (Pan & Chang, 2008).

c. Transdução de sinal da via NF-kB

Vários estudos têm demonstrado que a modulação da transdução de sinal da via NF-kB é um mecanismo fundamental para a atividade pró-apoptótica da aspirina bem como de outros AINEs (Takada *et alli.* 2004) (Figura 10). O fator de transcrição NF-kB existe, geralmente, no citoplasma, como um heterodímero ligado pela proteína inibidora IκB. Após a estimulação celular por indutores específicos, a IκB é fosforilada pelo complexo I-κB quinase (IKK) e degradada pela maquinaria ubiquitina-proteassoma (Chen *et alli.* 1995). Subsequentemente, o NF-kB migra para o núcleo, onde regula a transcrição dos genes alvo, que incluem vários genes responsáveis pelo controlo do crescimento celular. Tem sido demonstrado que a aspirina, assim como o salicilato de sódio, inibe a atividade de IKK-β, *in vitro*, em concentrações milimolares, através da ligação a IKK-β, competindo com o ATP para se ligar à quinase, que por sua vez, é necessário para fosforilar o IκB (Grilli *et alli.* 1996). No entanto, estas concentrações de aspirina não podem ser atingidas, mesmo após administração de doses anti-inflamatórias. Por outro lado, esta via pode ser afetada, *in vivo*, quando estes níveis de salicilato são detetados na circulação sistémica após a administração de elevadas doses de aspirina.

d. Sinalização AMPK / mTOR

A proteína AMP quinase ativada (AMPK) é um sensor de energia celular crítico, que é ativado sob estímulos como hipóxia, isquemia, privação de glicose e exercício. A ativação da AMPK estimula a oxidação de ácidos gordos para gerar mais ATP para responder à necessidade de energia aguda e inibe processos anabólicos que consomem ATP. Recentemente muita atenção foi atraída para vincular a AMPK ao cancro. Na realidade, a AMPK desempenha um papel importante na regulação de uma variedade de vias implicadas na progressão tumoral de células (Luo *et alli.* 2010) entre as quais o p53, a sintase de ácido gordo (FAS) e o alvo mecanicista da rapamicina (mTOR), que controlam a sobrevivência celular bem como a regulação do seu metabolismo (Din *et*

alli, 2012), sendo uma sinalização importante no desenvolvimento do cancro, incluindo o CCR. Din *et alli*. investigaram os efeitos da aspirina sobre sinalização AMPK / mTOR onde verificaram que em células do CCR, concentrações milimolares de aspirina reduziram a sinalização mTOR, inibindo os efetores S6K1 e 4E-BP1. Além disso, a aspirina mudou os rácios de nucleótidos e ativou a AMPK. Os autores fizeram uma demonstração da inibição da mTOR pela aspirina também *in vivo* em pacientes com CCR tratados com uma dose de analgésico com 600mg de aspirina, uma vez por dia durante uma semana, e encontraram, na mucosa retal destes doentes, uma reduzida fosforilação de S6K1 e S6, os principais efetores de sinalização de mTOR.

Para além disso, Hawley *et alli*. descreveram, pela primeira vez, que o salicilato, pode ter alcançado concentrações de 1-3 mM depois da administração de doses anti-inflamatórias da aspirina podendo, deste modo, ativar diretamente AMPK, principalmente através da inibição da desfosforilação de treonina172 (thr172). Estes investigadores sugerem também que o salicilato protege contra desfosforilação e consequente inativação da AMPK Thr172 pela inibição da atividade da proteína fosfatase-2Ca.

e. A acetilação de outras proteínas

Tem sido descrito que a aspirina tem a capacidade de acetilar várias proteínas e biomoléculas, tais como a hemoglobina, o DNA, o RNA e as histonas, bem como vários constituintes do plasma, incluindo hormonas e enzimas. Recentemente, foi demonstrado que na linha celular de cancro da mama humano MDA-MB-231 a aspirina a 100 µM acetila a proteína p53 supressora de tumores. A p53 é um regulador chave da apoptose, e é acetilado em vários locais definidos por acetiltransferases celulares em resposta a vários estímulos, incluindo danos no DNA. O aumento da acetilação da p53 pela aspirina resultante do aumento da atividade de ligação da p53 ao DNA e do aumento da expressão de dois dos seus genes-alvo: p21Cip1, uma proteína envolvida na paragem do ciclo celular; e BAX, uma proteína pro-apoptótica mitocondrial. Além disso, a aspirina em doses compreendida entre 100-300 µM acetila múltiplas proteínas nos resíduos de lisina em ambas as células do CCR: HCT-116 e HT-29. Entre as proteínas acetiladas pela aspirina, importa mencionar a glicose 6-fosfato desidrogenase (G6PD), que regula a biossíntese de ribonucleótidos, uma vez que a sua forma acetilada foi associada com a inibição da sua atividade (Marimuthu *et alli*. 2011).

Estes resultados são interessantes, mas parece improvável que doses baixas de aspirina desempenhem um papel nos efeitos anti-tumorigênicos, devido quer às baixas concentrações do fármaco alcançado na circulação sistêmica, como à administração de apenas uma vez por dia, o qual deverão conduzir a um efeito inibidor de curta duração em células nucleadas. A possível ocorrência da acetilação de alvos independentes da COX, após a administração diária de aspirina com doses anti-inflamatórias elevadas, não pode ser excluída, porém, continua a ser verificado.

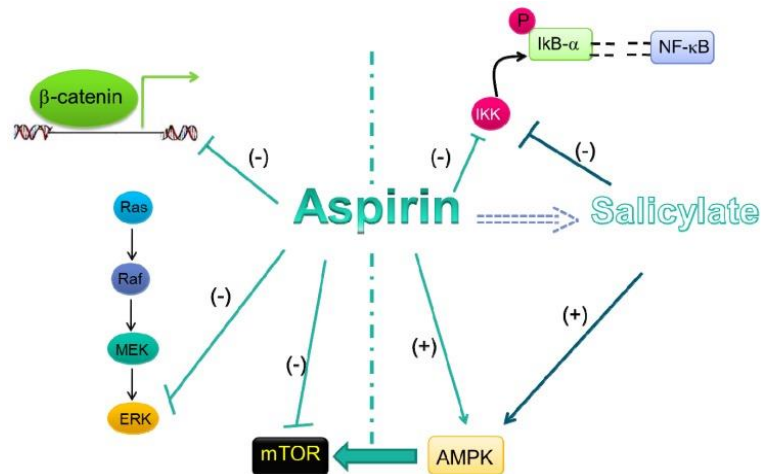


Figura 10 – Mecanismos dos efeitos antitumorais da aspirina independentes da COX

Adaptado de Dovizio et alli. (2012)

3. Consequências clínicas da inibição da COX pela aspirina

A aspirina é o único AINE utilizado como agente anti-trombótico, devido às suas características farmacodinâmicas únicas (Patrono *et alli.* 2008). Mesmo administrada em doses baixas, a aspirina promove uma inibição quase completa e persistente da atividade da COX-1, sendo este um mecanismo fundamental para a prevenção de aterotrombose. A administração de outros AINEs, inibidores reversíveis da COX, promove por sua vez, um efeito inibitório de curta duração uma vez que este diminui conforme a redução da sua concentração sistêmica. O único AINE, para além da aspirina, que pode causar um efeito semelhante nas plaquetas, pelo menos, em alguns indivíduos, é o naproxeno, quando administrado em doses altas (500 mg duas vezes ao dia), devido ao tempo de semi-vida longo (17 horas) e ao potente efeito inibidor da COX-1. Porém, ao contrário do que acontece com a aspirina, o naproxeno afeta profundamente a COX-2, inibindo a prostaciclina vascular (um importante

vasoprotetor), assim como outras vias extra plaquetárias da COX-1, nomeadamente o trato gastrointestinal. Estes mecanismos envolvidos na toxicidade do naproxeno, parecem ser o motivo pelo qual a administração do naproxeno não está associada à prevenção de eventos cardiovasculares (Patrono *et alli*.2001).

VI. Ensaios clínicos

1. Ensaios com aspirina em todos os cancros

Como referido anteriormente, existe uma grande variedade de evidências clínicas que demonstram que a aspirina pode proteger contra diferentes tipos de cancro, especialmente cancro colorretal (Thun *et alli.* 2012), sugerindo que o efeito antiplaquetário da aspirina desempenha um papel no seu efeito anticancerígeno. Apesar de indiretas, surgiram provas que sustentam esta ideia, nomeadamente o “Ensaio de Prevenção de Trombose”, que por sua vez envolveu a administração diária de 75mg de aspirina de libertação controlada, atuando, assim, quase exclusivamente por inibição da ciclooxigenase COX-1 (Charman, 1993). Este ensaio clínico randomizado, que tinha como objetivo avaliar o efeito do ácido acetilsalicílico no desenvolvimento da trombose, acabou por revelar resultados surpreendentes: além dos efeitos anti-trombóticos obtidos com doses de aspirina compreendidas entre 75 - 100mg, com uma inibição quase completa da atividade da COX-1, foi detetado também o efeito preventivo do cancro, embora a longo prazo (Rothwell *et alli.* 2010). Constatou-se ainda que o efeito preventivo máximo seria detetável, em doses baixas administradas uma vez por dia, em análises a longo prazo, feitas em ensaios clínicos cardiovasculares randomizados (Rothwell *et alli.* 2010), em ensaios de recorrência de adenomas (Logan *et alli.* 2008), assim como na maioria dos estudos de observação realizados em diferentes condições e metodologias (Cuzick *et alli.* 2009). De um modo geral, estes resultados mostram que os efeitos inibitórios máximos da aspirina em doses baixas, coincidem mais ou menos quer com o seu benefício clínico na redução do risco de acontecimentos clínicos cardiovasculares, quer na prevenção do cancro (Charman, 1993).

Mesmo que indireta, esta descoberta revela extrema importância para apoiar a hipótese de que o efeito antiplaquetário da aspirina é um mecanismo fundamental não só para a prevenção de eventos vasculares, como também na tumorigénese (Thun *et alli.* 2012; Patrono *et alli.* 2001; Dovizio *et alli.* 2013) .

Um estudo recente realizado por Rothwell *et alli.* (2011) mostrou que a aspirina reduziu o risco de morte por cancro em cerca de 20% nos ensaios cardiovasculares, devido

principalmente a uma redução de 34% nas mortes após cinco anos. O acompanhamento pós-ensaio, a longo prazo, demonstrou que o risco de morte por cancro manteve-se cerca de 20% menor nos grupos tratados com aspirina, e esse benefício aumentou com a duração do tratamento prevista. O período de latência até se observar um efeito sobre as mortes foi cerca de cinco anos para o esófago, pâncreas, cérebro e cancro de pulmão, no entanto mais demorado para o estômago, colo-retal e cancro da próstata. Para o cancro do pulmão e do esófago, o benefício foi confinado a adenocarcinomas. Esses resultados forneceram, portanto, a primeira evidência confiável de que a aspirina previne o cancro nos seres humanos, o que é consistente com as previsões anteriores de efeitos sobre cancro de esófago, estômago, pâncreas, pulmão, próstata e, possivelmente, cérebro (Sivak *et alli.* 2004). A estimativa do efeito da aspirina sobre as mortes por cancro nos primeiros cinco anos de ensaios não exclui um benefício clinicamente importante a curto prazo para os cancros. Rothwell *et alli.* (2011) estudaram as mortes por cancro em todos os ensaios com aspirina administrada diariamente *versus* controlo e o curso temporal dos efeitos da aspirina em baixas doses sobre a incidência de cancro, bem como outros resultados de ensaios de prevenção primária. Usando dados de pacientes individuais de todos os ensaios clínicos randomizados de aspirina diariamente em baixa dose na prevenção primária de eventos cardiovasculares, estes mostraram que a aspirina também reduz a incidência de cancro, quer em homens quer em mulheres, bem como em fumadores e não-fumadores. Os efeitos da aspirina sobre outros desfechos principais (ou seja, risco de eventos cardiovasculares e o aumento do risco de hemorragia extracraniana) evoluem com a duração do tratamento. Curiosamente, a redução do risco de cancro é o único estatisticamente significativo a partir de três anos em diante. Além disso, Rothwell *et alli.* (2012) descobriram também que a prevenção de metástases com a aspirina poderia explicar a redução precoce de mortes por cancro. Esta descoberta sugere que a aspirina pode ajudar no tratamento de alguns tipos de cancro e contribuir para o princípio da intervenção farmacológica para prevenção de metástases.

No total, os resultados das análises de Rothwell *et alli.* (2012) sugerem que, em termos de prevenção da progressão do cancro, o efeito preventivo da aspirina é maior em adenocarcinomas. Estes incluem os cancros do intestino, CCR, especialmente alguns tipos de cancro do pulmão e a maioria dos cancros da mama e da próstata. Em termos de prevenção, a longo prazo, do desenvolvimento de novos cancros, as maiores reduções

são observadas são no CCR e no cancro do esofágico, com efeitos menores em vários outros tipos de cancro mais comuns.

Um outro estudo revelou que em ensaios clínicos randomizados de prevenção secundária, o uso de aspirina está associado a uma redução de eventos cardiovasculares não-fatais (25 a 30%) e eventos fatais (de 10 a 15%) onde o benefício máximo foi detetado em baixas doses (75-150 mg por dia) (Baigent, 2002). Em doses mais elevadas, foi demonstrada uma tendência para uma eficácia reduzida (Baigent, 2002), possivelmente devido à inibição da prostaciclina dependente da COX-2. Em doses superiores a 325 mg por dia, a aspirina é utilizada como um analgésico eficaz e agente anti-inflamatório, que atua por inibição das prostaglandinas dependentes da COX-2 em células inflamatórias e da medula espinal.

2. Ensaios com aspirina no CCR

Relativamente aos estudos realizados para avaliar o efeito da aspirina no carcinoma colorretal, tem sido demonstrado o efeito protetor dos AINEs, não só na prevenção da recorrência de adenomas como também na redução da incidência de cancro e consequentemente, na redução da mortalidade por CCR (cerca de 50%) (Thun *et alli.* 2012). No entanto, o efeito protetor parece depender do tipo de fármaco, da dose e, principalmente, do tempo de exposição (pelo menos dez anos de uso regular) (Rothwell *et alli.* 2011).

No referido estudo de Rothwell *et alii.*, relacionou-se os eventos de cancro com os resultados obtidos em ensaios inicialmente projetados para avaliar o efeito da aspirina na prevenção de doenças cardiovasculares (Rothwell *et alli.* 2010). Os ensaios incluíram populações de pacientes de baixo risco cardiovascular (n = 10,224), assim como indivíduos com maior risco (história de acidente isquémico transitório; acidente vascular cerebral menor ou oclusão arterial da retina, n = 3,809). Verificaram então que o tratamento com doses de aspirina entre 75 e 500 mg/dia reduz em 24% o risco de CCR e em 35%, a mortalidade associada, observando-se um aumento do benefício em função de uma maior duração do tratamento. Importa, no entanto, salientar que o presente ensaio não foi originalmente projetado para examinar a incidência ou mortalidade por cancro, o que constitui uma limitação.

Num outro estudo, reuniram resultados obtidos em oito ensaios de prevenção cardiovascular, relacionando-os com os efeitos da aspirina na mortalidade associada a todos os tipos de câncros (Rothwell *et alli.* 2011). Os ensaios incluíram um total de 25 570 pacientes e 674 mortes relacionadas com cancro durante os períodos de avaliação, em que os resultados apontaram para uma associação entre as tomas diárias de aspirina em doses compreendidas entre 75 a 1200 mg/dia e a redução de risco de 21% de morte por qualquer tipo de cancro, embora o benefício tenha apenas sido observado após cinco anos de acompanhamento. Em seis dos ensaios, com dados sobre o local específico da ocorrência de cancro, os pacientes apresentaram um risco reduzido de morte por CCR (HR, 0,41, 95% CI, 0,17-1,00, $p = 0,05$), com início cinco anos após a iniciação do tratamento com aspirina. Por último, nos dois maiores ensaios realizados em indivíduos saudáveis [*Physicians's Health* (PHS) e *Women's Health* (WHS)], a aspirina (325 e 100 mg, respetivamente) não reduziu significativamente o risco de CCR (Cook *et alli.* 2005). A ausência de efeito da aspirina nestes ensaios pode ser explicada por algumas limitações na conceção dos mesmos, ou seja, a duração ou acompanhamento do tratamento inadequado.

O benefício da utilização de aspirina na prevenção do CCR também foi extrapolado a partir de ensaios clínicos randomizados da aspirina na prevenção de adenomas, as principais lesões precursoras da maioria dos CCR. Estes podem ser úteis na determinação do ponto final para a prevenção do CCR uma vez que o seu desenvolvimento é consideravelmente mais curto do que a evolução de CCR, que por sua vez demoram entre 5-10 anos a desenvolver.

Até à data, foram realizados quatro estudos randomizados e controlados, avaliando a eficácia da aspirina na população de risco moderado (Logan *et alli.* 2008). Uma meta-análise de dados desses quatro estudos exibiu uma redução significativa de 21% no risco de recorrência de qualquer tipo de adenoma (RR, 0,79, 95% CI, 0,68-0,92, $p = 0,002$), com um nível moderado de heterogeneidade entre os estudos (34%) (Cole *et alli.* 2009). Além disso, houve uma redução de 7% no risco absoluto de recorrência (diferença de risco [RD], 0,07, 95% CI, 0,11-0,04, $p < 0,0001$), sem heterogeneidade estatística.

Logan *et alli.* 2008 e Cole *et alli.* 2009 compararam a aspirina associada ao ácido fólico com o placebo e não encontraram diferenças significativas no risco relativo, nem

absoluto, para a recorrência de qualquer tipo de adenoma, sem heterogeneidade estatística entre esses estudos. A possível interferência do ácido fólico sobre o efeito quimiopreventivo de aspirina pode explicar esses resultados e essa hipótese deve ser investigada em estudos posteriores. A meta-análise de Cole *et alli.* (2009) incluiu também os resultados após um ano de acompanhamento num dos ensaios clínicos randomizados, o “*Association pour la Prevention par l’Aspirine du Cancer Colorectal*”(APACC) que envolveu 272 pacientes com adenomas colo-retais tratados com acetilsalicilato de lisina solúvel em doses de 160 mg/dia, 300 mg/dia ou placebo. O tratamento com qualquer uma das doses de aspirina foi associado a uma redução significativa no risco de adenoma recorrente após um ano. No entanto, não foi demonstrada redução estatisticamente significativa na recorrência de adenoma após quatro anos de seguimento (Benamouzig *et alli.* 2012). Estudos adicionais encontram-se em curso, incluindo o estudo *Japan Colorectal Aspirin Polyps Prevention* (JCAPP), no qual se avalia o efeito da aspirina 100 mg/dia na ocorrência de tumores recorrentes dois anos após a remoção endoscópica de adenomas colo-retais e cancro numa população japonesa (Ishikawa *et alli.* 2009).

3. Ensaios com aspirina em pacientes com Polipose Adenomatosa Familiar

Como já foi referido anteriormente, a Polipose Adenomatosa Familiar (PAF) é uma doença hereditária autossômica dominante, causada por mutações no gene APC, sendo responsável por alguns dos carcinomas do cólon e reto (CCR). O portador da mutação no gene APC tem 100% de probabilidade de desenvolver cancro do cólon caso não sejam tomadas medidas profiláticas. Posto isto, estes pacientes são candidatos ideais para o estudo do efeito preventivo da aspirina no CCR (Wood *et alli.* 2014).

Num estudo projetado por Burn *et alli.* (2011), com pacientes PAF, foi realizado um ensaio randomizado com um grupo controlo (placebo) e um grupo aspirina (600 mg/dia), com idades compreendidas entre os 10-21 anos de idade com administração diária de aspirina 600 mg num período de 1 a 12 anos. Os resultados obtidos revelaram uma redução significativa do tamanho dos pólipos. Apesar de promissores, os autores do estudo assumem varias limitações que podem ter influenciado os resultados obtidos, nomeadamente a falta de padronização da extensão do exame endoscópico e vigilância feita por vários endoscopistas em 12 centros de tratamento diferentes (Burn *et alli.*

2011; Chan, 2011). Assim, novos ensaios serão necessários para confirmar o efeito da aspirina na redução de pólipos nestes pacientes.

Atualmente, no Japão, decorrem estudos, nomeadamente o *Japan Familial Adenomatous Polyposis Prevention II* (J-FAPP II), na tentativa de avaliar a eficácia de doses baixas de aspirina (100 mg / dia) nestes doentes (Ishiwaka *et alli.* 2009).

VII. Risco e benefícios da utilização da aspirina

Com base nas evidências atuais, pode-se supor que a aspirina administrada em doses baixas, ao longo de um período de 5 anos, em pacientes com risco de eventos cardiovasculares, irá, provavelmente, prevenir entre 12 e 40 enfartes do miocárdio por 1.000 pacientes tratados. Por outro lado, o tratamento está, provavelmente, associado a um risco de 2-4 hemorragias no trato gastrointestinal superior por 1.000 pacientes tratados (Hayden *et alli.* 2002).

Estudos de observação e ensaios clínicos randomizados em pacientes de alto risco associam a terapia a longo prazo com aspirina em baixas dose (75-325 mg por dia) a um aumento de quase duas vezes mais no risco de hemorragia no trato gastrointestinal superior comparado com a não utilização.

A interpretação mais plausível para estes resultados é que estas hemorragias associadas ao uso de aspirina em baixas doses ocorrem principalmente devido ao seu efeito inibitório sobre a função plaquetária; em doses mais elevadas, o seu efeito inibitório adicional na biossíntese de prostaglandinas citoprotetoras, no trato GI, contribui para um maior risco de hemorragia no trato gastrointestinal superior. Deve-se, no entanto, ter em conta que o risco de hemorragia (e também de eventos CV) varia de indivíduo para indivíduo em função da presença de fatores de risco, como idade do paciente, sexo e história de úlcera gastrointestinal pré-existente. Portanto, em pacientes específicos, os benefícios da aspirina superam o risco de eventos cardiovasculares e o risco de hemorragia gastrointestinal (McQuaid & Laine, 2006). Apesar do risco de hemorragia intracraniana ser menor do que o risco de hemorragia gastrointestinal, as consequências são geralmente mais graves na hemorragia intracraniana e, como tal, têm um maior peso nas considerações gerais de risco e benefício (Figura 11). Em 2007, dado o risco de hemorragia, diretrizes clínicas como a *United States Preventative Services Task Force* (USPSTF) desaconselharam o uso habitual da aspirina para a prevenção do CCR em indivíduos de risco médio (USPSTE, 2008). Contudo, tais cálculos de risco/benefício devem ter em reconsideração evidências recentes que suportam as vantagens da utilização diária de aspirina quer na prevenção de morte por vários tipos de cancro Rothwell *et alli.* 2011, incluindo cancro do trato gastrointestinal, quer na prevenção de metástases sem nenhum aumento do risco de toxicidade gastrointestinal da aspirina com a utilização prolongada (Huang *et alli.* 2012). Se o tratamento com baixas doses de

aspirina também provoca uma hipotética redução de 10% na incidência de câncers em geral, então o efeito da terapia torna-se claramente favorável para a maioria da população (Thun *et alli.* 2012). Portanto, os dados obtidos nos ensaios clínicos randomizados proporcionam uma excelente oportunidade para reconsiderar o papel potencial da aspirina. Para além da sua recomendação na prevenção primária da doença vascular em indivíduos de risco médio, as orientações práticas futuras da profilaxia com a aspirina podem também considerar a prevenção do cancro.

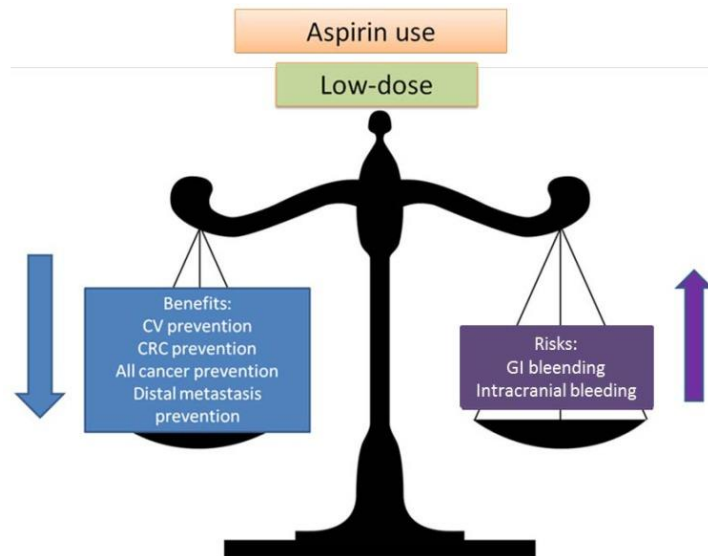


Figura 11 – Ilustração do balanço entre os riscos/benefícios da aspirina

Adaptada de Dovizio et alli. (2012)

VIII. Conclusão

Com bases nos estudos anteriormente descritos, verifica-se que há várias evidências clínicas que apoiam a hipótese de que a aspirina exerce uma ação protetora para os diferentes tipos de cancro, nomeadamente cancro colorretal. Pensa-se que o seu efeito antiplaquetário é um mecanismo central para o seu efeito antitumoral.

A descoberta de uma eficácia máxima aparente da aspirina como agente quimiopreventivo contra o cancro e aterotrombose é bastante convincente. Em baixas doses, administradas a cada 24h, a aspirina atua por uma inibição completa e persistente da COX.

A função das plaquetas tem sido reconhecida, desde há muito tempo, na doença metastática, ou seja, no processo de disseminação de células neoplásicas para outros órgãos ou nódulos linfáticos distantes do tumor primário. No entanto, as recentes descobertas clínicas com a aspirina sugerem que as plaquetas desempenham um papel nas fases iniciais da tumorigénese; são ativadas na tumorigénese intestinal nos humanos de modo a contribuir para o desenvolvimento do tumor através da libertação de diferentes constituintes, tais como fatores de crescimento e mediadores lipídicos angiogénicos. Estes podem desencadear a libertação de altos níveis de fatores de crescimento de células do estroma, possivelmente como consequência da superexpressão da COX-2. A ativação do estroma pode levar, em seguida, à transformação de células epiteliais, ou pelo menos em parte, através da indução de uma expressão anormal da COX-2 nas células epiteliais. Aqui as prostaglandinas estimulam a proliferação celular ocorrendo a acumulação de mutações, como consequência da inibição da apoptose.

Serão, no entanto, necessárias novas investigações científicas extensivas, nos próximos anos, para confirmar a hipótese da tumorigénese do cólon mediada por plaquetas. Novos estudos deverão incidir sobre a atual incerteza acerca da dose ideal da aspirina e o regime posológico para a prevenção do cancro e da possível contribuição de suscetibilidade individual à aspirina para a resposta ao cancro genético. Isto levará a identificar novos mecanismos da doença, novas abordagens terapêuticas na quimioprevenção e no desenvolvimento de biomarcadores para o diagnóstico precoce e prevenção individualizada.

VIV. Referências bibliográficas

- Baigent C. (2002). Antithrombotic Trialists' Collaboration. *Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high-risk patients*. *BMJ*. 324, pp. 71–86
- Benamouzig R. et alli. (2012). *Prevention by daily soluble aspirin of colorectal adenoma recurrence*. *Gut*. 61, pp. 255–261
- Bos C.L. et alli. (2006). *Effect of aspirin on the Wnt/beta-catenin pathway is mediated via protein phosphatase 2A*. *Oncogene*. 25, pp. 6447–6456
- Burn J. et alli. (2011). International CAPP consortium. *A randomized placebo-controlled prevention trial of aspirin and/or resistant starch in young people with familial adenomatous polyposis*. *Cancer Prev. Res.* 4, pp. 655–665
- Burns S.B. (2002) *Arabic medicine: preservation and promotion: a millennium of achievement published*. *J. Alternative Complementary Med.* 8, pp. 407–410
- Carvalho W. A., Lemônica L. (1998). *Mecanismos Celulares E Moleculares Da Dor Inflamatória. Modulação Periférica E Avanços Terapêuticos*. *REV. BRAS. ANESTESIOL.* 48(2), pp. 137-158
- Chan A.T. (2011). *Aspirin and familial adenomatous polyposis*. *Cancer Prev. Res.* 4, pp. 623–627
- Charman W.N. et alli. (1993). *Biopharmaceutical characterisation of a low-dose (75 mg) controlled-release aspirin formulation*. *Br. J. Clin. Pharmac.* 36, pp. 470–473
- Chen Z. et alli. (1995). *Signal-induced site-specific phosphorylation targets I kappa B alpha to the ubiquitin-proteasome pathway*. *Genes Dev.* 9, pp. 1586–1597
- Childs P.E. (2006). *The century of Aspirin: wonder drug of the twentieth century*
- Cole B.F. et alli. (2009). *Aspirin for the chemoprevention of colorectal adenomas: meta-analysis of the randomized trials*. *J. Natl. Cancer Inst.* 101, pp. 256–266
- Cook N.R. et alli. (2005). *Low-dose aspirin in the primary prevention of cancer: the Women's Health Study: a randomized controlled trial*. *JAMA*. 294, pp. 47–55
- Couper A.S. (1858). *On a new chemical theory and resonance on salicylic acid*. Alembic Club Reprints No.21, Edinburg: E.S. Livingstone
- Cuzick J. et alli. (2009). *Aspirin and non-steroidal anti-inflammatory drugs for cancer prevention: an international consensus statement*. *Lancet Oncol.* 10, pp. 501–507
- Din F.V. (2004). *Evidence for colorectal cancer cell specificity of aspirin effects on NF Kappa B signaling and apoptosis*. *Br. J. Cancer*. 91(2), p. 381

Dixon D.A. (2013). *Mechanistic aspects of COX-2 expression in colorectal neoplasia*. Recent Results Cancer Res.191, pp. 7–37

Dovizio M. et alli. (2012). *Mechanistic an Pharmacological Issues of Aspirin as an Anticancer Agent*. Pharmaceuticals (Basel). 5(12), pp. 1346-1371

Dovizio M. et alli. (2013). *Mode of action of aspirin as a chemopreventive agent*. Recent Results Cancer Res. 191, pp. 39–65

Evangelista V. et alli. (2006). *Synthesis of cyclooxygenase-1 counteracts the suppression of platelet thromboxane biosynthesis by aspirin*. Circ. Res. 98, pp. 593–595

Faculdade de Farmácia do Porto: *Ácido acetilsalicílico* disponível em: http://www.ff.up.pt/monografias_toxicologia/monografias/ano0607/aspirina/index.html (consultado em 17/09/2014)

Ferlay J. et alli. (2010). *Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN2008*. Int. J. Cancer. 127, pp. 2893–917

Grilli M. et alli. (1996). *Neuroprotection by aspirin and sodium salicylate through blockade of NF-kB activation*. Science. 274, pp. 1383–1385

Han Z. et alli. (2001). *A fas-associated death domain protein-dependent mechanism mediates the apoptotic action of non-steroidal anti-inflammatory drugs in the human leukemic jurkat cell line*. J.Biol. Chem. 276, pp. 38748-38754

Hanif R. et alli. (1996). *Effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on proliferation and on induction of apoptosis in colon cancer cells by a prostaglandin-independent pathway*. Biochem. Pharmacol.52, pp. 237–425

Harper K.A. et alli. (2008). *Complexity of COX-2 gene regulation*. Biochem. Soc. Trans. 36, pp. 543–545

Hayden M, et alli. (2002). *Aspirin for the primary prevention of cardiovascular events: a summary of the evidence for the U.S. Preventive Services Task Force*. Ann Intern Med. 136(2), pp. 161-72

Huang E.S. et alli. (2011). *Long-term use of aspirin and the risk of gastrointestinal bleeding*. Am. J. Med. 124, pp. 426–433

Infarmed: *Resumo das características do medicamento* disponível em: [http:// www.infarmed .pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=639&tipo_doc=rcm](http://www.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=639&tipo_doc=rcm) (consultado em 16/08/2014)

Ishikawa H. et alli. (2009). *Chemoprevention of colorectal cancer in Japan: a brief introduction to current clinical trials*. J. Gastroenterol. 44, pp. 77–81

Jack D.B. (1997). *One hundred years of aspirin*. Lancet 350 (9075), pp. 437–439.

- Kang Y.J. et alli. (2007). *Regulation of intracellular cyclooxygenase levels by gene transcription and protein degradation*. Prog. Lipid Res. 46, pp. 108–125
- Kawamori T. et alli. (2009). *Role for sphingosine kinase 1 in colon carcinogenesis*. FASEB J. 23, pp. 405–414
- Kutuk O., Basaga H. (2003). *Aspirin prevents apoptosis and NF-kappaB activation induced by H₂O₂ in hela cells*. Free Radic. Res. 37, pp. 1267-1276
- Leroux H. (1830). *Discovery of salicine historique*. Rev. Med. Interne 21 (Suppl. 1), 8s–17s.. J. Chim. Med. 6, pp. 340–432
- Lévesque H., Lafont O. (2000). *Aspirin throughout the ages: an historical review*. Rev Med. Interne. 1, pp. 8-17
- Lewis D. et alli. (2003). *Aspirin*. Royal Society of Chemistry. 2, p. 11
- Logan R.F. et alli. (2008). *Aspirin and folic acid for the prevention of recurrent colorectal adenomas*. Gastroenterology. 134, pp. 29–38
- Luo Z. et alli. (2010). *AMPK as a metabolic tumor suppressor: control of metabolism and cell growth*. Future Oncol. 6, pp. 457–470
- McQuaid K.R., Laine L. (2006). *Systematic review and meta-analysis of adverse events of low-dose aspirin and clopidogrel in randomized controlled trials*. Am. J. Med. 119, pp. 624–638
- Mahdi J. G. et alli. (2006). *The historical analysis of aspirin discovery, its relation to the willow tree and antiproliferative and anticancer potencial*. Cell Prolif. Apr; 39(2), pp. 147-55.
- Mahdi J. G. (2010). *Medicinal potential of willow: A chemical perspective of aspirin discovery*. Journal of Saudi Chemical Society. 14(3), pp. 317-322
- Marimuthu S. et alli. (2011). *Aspirin acetylates multiple cellular proteins in HCT-116 colon cancer cells: Identification of novel targets*. Int. J. Oncol. 39, pp. 1273–1283
- Masmoudi C. et alli. (2004). *Cyclooxygenase inhibitors and cancer chemoprevention*. Bull. Cancer. 91 (2), pp. 77-84
- McLagan T.J. (1876). *The treatment of rheumatism by salicin and salicylic acid*. Lancet I, p. 342
- Nunn J.F. (1996). *Ancient Egyptian Medicine*. London: British Museum Press, p. 158
- Orellana C. (2003). *Aspirin protects against cancer of the upper aerodigestive tract*. Lancet Oncol. 4, p. 200

- Pan M.R. et alli. (2008). *Non-steroidal anti-inflammatory drugs suppress the ERK signaling pathway via block of Ras/c-Raf interaction and activation of MAP kinase phosphatases*. *Cell. Signal.* 20, pp. 1134–1141
- Patrignani P. et alli. (1982). *Selective cumulative inhibition of platelet thromboxane production by low-dose aspirin in healthy subjects*. *J. Clin. Invest.* 69, pp.1366–1372
- Patrignani P. et alli. (2000). *Non-steroidal anti-inflammatory drugs, COX-2 and colorectal cancer*. *Toxicol. Lett.* 112/113, pp. 493–498
- Patrono C. et alli. (2001). *Cyclooxygenase-selective inhibition of prostanoid formation: transducing biochemical selectivity into clinical read-outs*. *J. Clin. Invest.* 108(1), pp. 7–13
- Patrono C. et alli. (2005). *Low-dose aspirin for the prevention of atherothrombosis*. *N. Engl. J. Med.* 353, pp. 2373–2383
- Patrono C. et alli. (2008). *Antiplatelet drugs: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines* (8th Edition) *Chest.* 133, pp. 199–233
- Pedersen A.K. et alli. (1984). *Dose-related kinetics of aspirin: presystemic acetylation of platelet cyclo-oxygenase*. *N. Engl. J. Med.* 311, pp. 1206–1211
- Person T. A. et alli. (2012). *Aspirina: Passado, presente e benefícios futuros*. Lisboa: Heartbrain
- Rainford K.D. (1944). *Aspirin and the salicylates*. London: Butterworths
- Riddle J.M. (1999). *Historical data as an aid in pharmaceutical prospecting and drug safety determination*. *J. Altern. Complement. Med.* 5(2), pp. 195-201
- Rimon G. et alli. (2010). *Coxibs interfere with the action of aspirin by binding tightly to one monomer of cyclooxygenase-1*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 107, pp. 28–33
- Roche: *O cancro colorretal*, disponível em: <http://www.roche.pt/sites-tematicos/infocancro/index.cfm/tipos/cancro-do-colon-recto/> (consultado em 20/09/2014)
- Rothwell P.M. et alli. (2011). *Effect of daily aspirin on long-term risk of death due to cancer: analysis of individual patient data from randomised trials*. *Lancet.* 377, pp. 31–41
- Rothwell P.M. et alli. (2012). *Short-term effects of daily aspirin on cancer incidence, mortality, and non-vascular death: analysis of the time course of risks and benefits in 51 randomised controlled trials*. *Lancet.* 379, pp. 1602–1612
- Sample D. et alli. (2002). *A dose-finding study of aspirin for chemoprevention utilizing rectal mucosal prostaglandin E (2) levels as a biomarker*. *Cancer Epidemiol. Biomarkers. Prev.* 11, pp. 275–279

- Seeger R. et alii. (1995). *The MAPK signaling cascade*. FASEB J. 9, pp. 726–735
- Sharma N.P. et alii. (2010). *Asymmetric acetylation of the cyclooxygenase-2 homodimer by aspirin and its effects on the oxygenation of arachidonic, eicosapentaenoic, and docosahexaenoic acids*. Mol. Pharmacol. 77, pp. 979–986
- Shapiro J.A. et alii. (2008). *Colorectal cancer test use from the 2005 National Health Interview Survey*. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 17, pp. 1623–30
- Sidhu R.S. et alii. (2010). *Comparison of cyclooxygenase-1 crystal structures: cross-talk between monomers comprising cyclooxygenase-1 homodimers*. Biochemistry. 49, pp. 7069–7079
- Sivak-Sears N.R. et alii. (2004). *Case-control study of use of non steroidal anti-inflammatory drugs and glioblastoma multiforme*. Am. J. Epidemiol. 159, pp. 1131–1139
- Smyth E.M. et alii. (2009). *Prostanoids in health and disease*. J. Lipid Res. 50, pp. 423–428
- Sneider W. (2000). *The discovery of aspirin: a reappraisal*. BMJ. 321(7276): 1591–1594
- Stone E. (1763). *An account of the success of the bark of the willow in the cure of agues*. Philos. Trans. 53, p. 195
- Takada Y. et alii. (2004). *Identification of a p65 peptide that selectively inhibits NF- κ B activation induced by various inflammatory stimuli and its role in down-regulation of NF- κ B-mediated gene expression and upregulation of apoptosis*. J. Biol. Chem. 279, pp. 15096–15104
- Tani M. et alii. (2005). *Mechanisms of sphingosine and sphingosine 1-phosphate generation in human platelets*. J. Lipid Res. 46, pp. 2458–2467
- Thun M.J. et alii. (2012). *The role of aspirin in cancer prevention*. Nat. Rev. Clin. Oncol. 9:259–267
- Ulrych T. et alii. (2011). *Release of sphingosine-1-phosphate from human platelets is dependent on thromboxane formation*. J. Thromb. Haemost. 9, pp. 790–798
- US Preventive Services Task Force. (2008). *Screening for colorectal cancer: U.S. Preventive Services Task Force recommendation statement*. Ann. Intern. Med. 149
- Valentin F. et alii. (2011). *Aspirin - A Historical and Contemporary Therapeutic Overview*. Circulation. 123, p. 1
- Wang D. et alii. (2008). *Pro-inflammatory prostaglandins and progression of colorectal cancer*. Cancer Lett. 267, pp. 197–203

Wells J.C.D. (2003). *Poppy juice and willow bark: advances in their use for the 21st century*.

Wood L. D. (2014). *Upper GI Tract Lesions in Familial Adenomatous Polyposis (FAP) Enrichment of Pyloric Gland Adenomas and Other Gastric and Duodenal Neoplasms*. Am J Surg Pathol. 38(3), pp. 389–393

Yatomi Y. (2006). *Sphingosine 1-phosphate in vascular biology: possible therapeutic strategies to control vascular diseases*. Curr. Pharm. Des. 12, pp. 575–587

Yin M.J. (1998). *The anti-inflammatory agents aspirin and salicylate inhibit the activity of I(kappa)B kinase-beta*. Nature. 396, pp. 77–80

Yuan C. (2006). *Partnering between monomers of cyclooxygenase-2 homodimers*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 103, pp. 6142–6147