



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

2011/2012

Pedro Abílio Leite Falcão Correia Gonçalves
Cox-2 e Cancro do Cólon. Importância Profilática e Terapêutica.

março, 2012

FMUP



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

Pedro Abílio Leite Falcão Correia Gonçalves
Cox-2 e Cancro do Cólon. Importância Profilática e Terapêutica.

Mestrado Integrado em Medicina

Área: Cirurgia Geral

**Trabalho efetuado sob a Orientação de:
Mestre Laura Elisabete Ribeiro Barbosa**

**Trabalho organizado de acordo com as normas da revista:
Revista Portuguesa de Cirurgia**

março, 2012

FMUP

Nome: Pedro Abílio Leite Falcão Correia Gonçalves

Endereço eletrónico: pedrofalcaocg@gmail.com **Telefone ou Telemóvel:** 918900509

Número do Bilhete de Identidade: 13263099

Título da ~~Dissertação~~/Monografia (cortar o que não interessa):

Cox-2 e Cancro do Cólon. Importância Profilática e Terapêutica

Orientador:

Mestre Laura Elisabete Ribeiro Barbosa

Ano de conclusão: 2012

Designação da área do projeto:

Cirurgia Geral

É autorizada a reprodução integral desta Dissertação/Monografia (cortar o que não interessar) para efeitos de investigação e de divulgação pedagógica, em programas e projetos coordenados pela FMUP.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 19/03/2012

Assinatura: 

Eu, _____ Pedro Abílio Leite Falcão Correia Gonçalves _____, abaixo assinado, nº mecanográfico _____ 060801106 _____, estudante do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina, na Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, declaro ter atuado com absoluta integridade na elaboração deste projeto de opção.

Neste sentido, confirmo que **NÃO** incorri em plágio (ato pelo qual um indivíduo, mesmo por omissão, assume a autoria de um determinado trabalho intelectual, ou partes dele). Mais declaro que todas as frases que retirei de trabalhos anteriores pertencentes a outros autores, foram referenciadas, ou redigidas com novas palavras, tendo colocado, neste caso, a citação da fonte bibliográfica.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 19/03/2012

Assinatura: _____ Pedro Falcão _____

Agradecimentos

À Mestre Elisabete Barbosa pela disponibilidade e tempo dispendidos, bem como pelos conhecimentos transmitidos que foram fulcrais na realização do trabalho. À Elsevier que gentilmente e com toda a rapidez me concedeu autorização para a utilização das imagens presentes neste trabalho.

Cox-2 e Cancro do Cólon. Importância Profilática e Terapêutica.

Cox-2 and Colon Cancer. Prophylactic and Therapeutic Importance.

Pedro Abílio Leite Falcão Correia Gonçalves

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

Resumo

Introdução: Cerca de 1 em cada 20 indivíduos tem risco de desenvolver carcinoma colo-retal (CCR). Rastreamento e prevenção são fulcrais, em especial nas populações de maior risco, como indivíduos com Polipose Adenomatosa Familiar (PAF). O objetivo do trabalho reside em avaliar possibilidades de modulação pela via cicloxigenase-2 (Cox-2) com intuito profilático ou terapêutico.

Métodos: Foi realizada uma pesquisa bibliográfica na base de dados Pubmed, limitada a 5 anos e selecionados por título e abstract os artigos mais pertinentes.

Resultados: A Cox-2 é sobre-expressa na maioria dos CCR. Um silenciamento genético desta enzima *in vitro* conduz a uma redução em número e tamanho dos pólipos. A inibição farmacológica com ácido acetilsalicílico ou inibidores seletivos demonstra efeitos benéficos no risco de desenvolvimento de adenoma e carcinoma. Como limitação encontram-se os efeitos laterais adversos. Alguns estudos demonstram sinergismos com outros fármacos, ou nutrientes da dieta, que permitem diminuir as doses utilizadas. Novas vias de modulação mais inócuas encontram-se em estudo.

Conclusões: A inibição farmacológica parece ser benéfica na diminuição da progressão para CCR. O celecoxib, atualmente utilizado na PAF, parece superior a outros fármacos por demonstrar efeitos benéficos Cox-2 dependentes e independentes. Novas vias em estudo poderão ganhar importância no futuro.

Palavras-chave: carcinoma colo-retal; ácido acetilsalicílico; celecoxib, Polipose Adenomatosa Familiar;

Abstract

Introduction: About 1 in each 20 individuals is at risk of developing colorectal carcinoma (CRC). Screening and prevention are important, especially in high-risk populations such as individuals with Familial Adenomatous Polyposis (FAP). The aim of the study is to evaluate the modulation of cyclooxygenase-2 (COX-2) with prophylactic or therapeutic purpose.

Methods: I performed the research in Pubmed database, limited to five years and selected by title and abstract the most relevant articles.

Results: The Cox-2 is overexpressed in the majority of the CRC. Genetic silencing of this enzyme *in vitro* leads to a reduction in number and size of polyps. The pharmacological inhibition with acetylsalicylic acid or selective inhibitors shows beneficial effects on the risk of developing cancer and adenoma. As obstacle are the adverse side effects. Some studies show synergism with other drugs or diet nutrients, which lower the doses used. New approaches of Cox-2 modulation, more innocuous, are under study.

Conclusions: The pharmacological inhibition appears to be beneficial in reducing the progression of the CCR. Celecoxib, currently used in the PAF, seems superior to other drugs and shows beneficial effects by either Cox-2 dependent and independent pathways. New approaches under study may gain importance in the future.

Keywords: colorectal carcinoma; acetylsalicylic acid; celecoxib; Familial Adenomatous Polyposis;

Introdução

A idade média para o diagnóstico de carcinoma colo-retal (CCR) ronda os 70 anos de idade e a mortalidade, pela doença, os 75 anos. Cerca de 1 em cada 20 indivíduos terá CCR durante a sua vida, o que representa 5% de probabilidade de desenvolver esta patologia. Trata-se da quarta neoplasia responsável pelo aparecimento de novos casos oncológicos nos Estados Unidos e a segunda com maior taxa de mortalidade estimada, sendo a sobrevivência média aos 5 anos de apenas 64,3% (1).

A compreensão dos mecanismos subjacentes ao processo de carcinogénese é fulcral no desenvolvimento de novas estratégias preventivas (2).

A prevenção poder-se-á fazer a vários níveis, nomeadamente rastreio de indivíduos de risco elevado através de quimioprevenção baseada no conhecimento epidemiológico ou genético (3).

Indivíduos com alto risco de desenvolverem CCR estão bem definidos e os critérios incluem suscetibilidade para a formação de adenomas, portadores de doenças inflamatórias intestinais ou CCR prévio, familiares em primeiro grau com história da doença antes dos 60 anos ou história familiar de Carcinoma colo-rectal hereditário não polipóide (HNPCC) ou Polipose Adenomatosa Familiar (PAF) (4).

No CCR, tal como noutras patologias, medidas preventivas e programas de rastreio são pilares importantes no contorno da história natural da doença. Uma atuação eficaz a estes níveis pode permitir uma melhoria nas taxas de mortalidade por CCR, quer por tentativa da diminuição da sua incidência com

medidas preventivas, quer na detecção precoce por programas de rastreio que possibilitem o diagnóstico da doença em fases mais precoces ou ainda no desenvolvimento de novos métodos de tratamento que possam ultrapassar algumas das limitações atuais (4).

Atendendo às premissas anteriores, justifico a importância da revisão bibliográfica relativa ao papel da enzima cicloxigenase 2 (Cox-2) no cancro do cólon. Ainda que não esteja totalmente esclarecido, existe atualmente evidência da importância desta enzima na carcinogénese e também da vantagem da sua inibição na redução em número e tamanho de pólipos do cólon. Esta arma terapêutica já é usada na PAF. Indivíduos portadores desta patologia apresentam a formação de inúmeros pólipos no cólon e na ausência de colectomia preventiva, 100% desenvolvem patologia neoplásica sendo assim indivíduos de elevado risco para CCR (5).

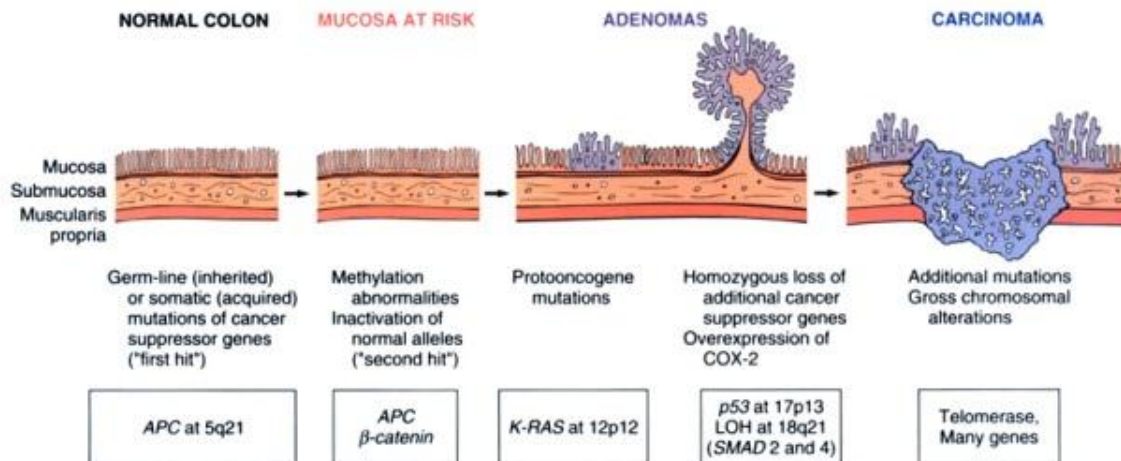
É objetivo principal deste trabalho fazer uma revisão sobre a possibilidade de modular esta via como medida profilática ou terapêutica na população em geral ou noutras populações de risco como doentes com PAF. A evidência da importância do papel da Cox-2 na patogénese do CCR, as controvérsias e limitações atuais desta via e os novos métodos em evolução que possam permitir usufruir deste conhecimento e ultrapassar os obstáculos que ainda se verificam principalmente no que concerne aos efeitos laterais indesejados, são os pontos a abordar neste trabalho.

Material e métodos

Com o objetivo de avaliar as evidências científicas acerca da possibilidade de modular a Cox-2 com efeito profilática ou terapêutica, quer para a população em geral ou em populações de risco como doentes com PAF, foi realizada uma pesquisa bibliográfica na base de dados Pubmed, limitada a 5 anos para, estudos em humanos e artigos escritos em inglês ou português. Combinando os termos cyclooxygenase 2, colorectal neoplasm, drug therapy, therapeutic e prevention and control, foram obtidos 102 resultados. Dos 72 disponíveis, 21 foram excluídos por título e abstract e 52 incluídos para leitura. Por se adequarem aos assuntos pretendidos nesta abordagem, após leitura integral foram selecionados 28 artigos. Dada a importância e pertinência 13 fontes de informação adicionais foram adicionadas através da bibliografia dos resultados obtidos na pesquisa inicial.

Resultados

1-Carcinogênese CCR:



Loss of Adenomatous Polyposis Coli (APC) Gene.

Figura 1: Schematic of the morphologic and molecular changes in the adenoma-carcinoma sequence.

Imagem retirada de Vinay Kumar, Nelson Fausto. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 7ª edição, p.863, Copyright Elsevier (2012).

Aceitam-se atualmente duas vias fisiopatológicas distintas no desenvolvimento do CCR, ambas envolvendo como passo fundamental a acumulação de mutações genéticas (5).

1.1-Via APC/ β -catenina envolvida nos casos esporádicos e PAF:

Inicialmente ocorre um aumento da proliferação celular, seguido da formação de adenomas que progressivamente aumentam de tamanho e se tornam displásicos, culminando na formação de carcinoma (5).

A mutação do gene adenomatous polyposis coli (APC) (5q21) é a base da PAF e acredita-se que também nos casos esporádicos seja um evento precoce, presente em 80%. Codifica uma proteína que se liga aos microtúbulos e promove a adesão celular que atua regulando os níveis de β -catenina. A β -catenina, mediadora da via Wnt/ β -catenina, desempenha um papel crítico no desenvolvimento do epitélio intestinal normal. Mais de 80% dos CCR apresentam inativação APC, e 50% dos que não apresentam, têm mutações da β -catenina que condicionam uma diminuição da sua afinidade para a enzima GSK-3 β (cínase responsável pela sua fosforilação e degradação) (5).

A β -catenina além de participar nos complexos de adesão celular, tem a capacidade de atuar como fator de transcrição caso seja translocada para o núcleo. Quando não se liga à E-caderina, para participar na adesão célula-a-célula, forma um complexo citoplasmático que leva à sua fosforilação e consequente degradação (5).

Com a mutação do gene APC, a β -catenina acumula-se no citoplasma e é translocada para o núcleo onde se liga a uma família de fatores de transcrição designados por factors T-cell ou lymphoid enhancer fator (TCF or LEF). Os genes ativados pelo complexo β -catenina-TCF interferem na regulação da proliferação celular e apoptose (c-Myc e Ciclina D1) (5).

Outros eventos desta via consistem na mutação K-RAS (oncogene), perda de SMADs, perda da p53 e ativação da Telomerase, como mostra a Figura 1. (5).

A PAF é uma doença genética que resulta de uma mutação autossômica dominante no gene APC e que se caracteriza pelo desenvolvimento de inúmeros pólipos adenomatosos no cólon e reto (forma atenuada até 100, moderada entre 100 e 1000 e severa para números superiores). Sem cirurgia, os indivíduos portadores de PAF evoluem invariavelmente para CCR (6).

Em consequência dos resultados positivos de um estudo randomizado prospectivo que estudou o papel do celecoxib na supressão dos pólipos em indivíduos com PAF, a Food and drug Administration (FDA) e a European Medicines Agency (EMA) aprovaram o uso do celecoxib nestes doentes, como opção terapêutica a considerar juntamente com os procedimentos habituais (vigilância endoscópica e cirurgia) (6).

O estudo de Huang, K. *et al* tinha como objetivo avaliar o efeito a longo prazo do tratamento com celecoxib no prolongamento do tempo até aparecimento da doença e o perfil de segurança do seu uso prolongado. O estudo carece de dados que permitam avaliar de forma significativa a eficácia a longo prazo do uso do celecoxib, no entanto a segurança do seu uso a longo prazo mostrou que poderá ser uma terapêutica aceitável em doentes com elevado risco de CCR e baixo de complicações cardiovasculares (CV) (6).

Indivíduos tratados com 400 mg de celecoxib mostraram uma redução de 28% do número médio de pólipos e de 31% no somatório dos diâmetros dos mesmos quando comparado com placebo. Doses mais baixas que 100 mg mostraram também resultados positivos, mas em menor escala, tendo sido a

redução do número médio de pólipos de 12% e do somatório dos diâmetros de 14%. A incidência de efeitos adversos foi semelhante entre os grupos, sendo que ambas as doses foram bem toleradas. A dose de 400mg diários de celecoxib associa-se à regressão significativa dos adenomas colorettais em pacientes PAF (6, 7).

1.2-Via da instabilidade de microssatélites envolvida nos casos esporádicos e HNPCC:

A instabilidade de microssatélites característica do HNPCC aparece em cerca de 10-15% dos carcinomas esporádicos, enquanto indivíduos com HNPCC têm uma mutação germinativa dos genes da reparação do DNA. Nos casos esporádicos esta alteração é somática e resulta da não transcrição dos genes por metilação do promotor. É uma via importante de cancerização, pois no caso de estes doentes necessitarem de quimioterapia adjuvante, respondem mal aos citotostáticos mais utilizados, como é o caso da 5-fluorouracil (5).

2-Cox2:

O papel da Cox-2 tem sido extensamente descrito, existindo atualmente múltiplas evidências quer *in vitro* quer *in vivo* de que a inibição desta enzima permite uma diminuição no risco de desenvolver CCR (2).

Oshima *et al* descrevem as primeiras evidências genéticas diretas de um papel da Cox-2 na formação de pólipos. Mostram que a indução da Cox-2 é um

evento precoce no processo tumoral e sugerem um papel dependente da expressão genética do gene Prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (Ptgs2), responsável por expressar a Cox-2, na formação de pólipos (8).

Para determinar o efeito da ausência de Cox-2 em modelos animais, mutações knockout do gene Ptgs2, foram introduzidas em modelos animais com Knockout do gene APC. O grupo Apc (delta716) (+/-) Ptgs2 (+/+) foi usado como controle positivo. Num período de 10 semanas, os modelos animais Apc (delta716) Ptgs2 (+/-) mostraram a formação de 34% do número de pólipos e o grupo com duplo knockout, Apc (delta716) Ptgs2 (-/-), mostrou a formação de apenas 14% do número de pólipos quando comparados com o grupo controle. Mostram também uma redução do tamanho dos pólipos com a diminuição da expressão de Cox-2 (9).

A perda de função APC cursa com aumento da atividade Cox-2 e secundariamente da prostaglandina E2 (PGE-2) que tem ações ao nível da mucosa gástrica, reação inflamatória, proliferação celular e contração de músculo liso, Figura 2 (3).

Grande parte da literatura referente à quimioprevenção do CCR dedica especial atenção ao papel desta enzima e aos seus inibidores seletivos e não seletivos. A Cox-2 não se expressa no epitélio cólico normal, mas é induzida por estímulos inflamatórios e mitóticos, expressando-se marcadamente em 85% dos CCR (10).

Existem duas isoformas da cicloxigenase, a cicloxigenase 1 (Cox-1), forma constitutiva e a Cox-2, forma induzida. São as responsáveis pela produção de prostaglandinas e tromboxanos, cujo balanço participa ativamente na reação

inflamatória, secreção da mucosa gástrica, homeostasia ou processos trombóticos, bem como hemodinâmica renal (2).

A atividade peroxidativa da Cox-2 promove a formação de carcinogêneos capazes de provocar danos em genes envolvidos na proliferação (11) e associa-se à promoção tumoral, inibição da apoptose, angiogênese e processo metastático (2, 9). Evidências em modelos animais mostram que o "knockout" do seu gene resulta na atenuação da polipose intestinal (9).

Os vários mecanismos que promovem a sobre-expressão de Cox-2 além de resultarem no crescimento tumoral, aumentam ainda a atividade de matrix metalloproteinases (MMP) que aumentam a invasividade (11). A proteólise de componentes extracelulares da matriz (colagénio IV e laminina) e a atividade proteólica das gelatinases MMP2 e MMP9 relacionam-se com a progressão e grau de malignidade do tumor (11).

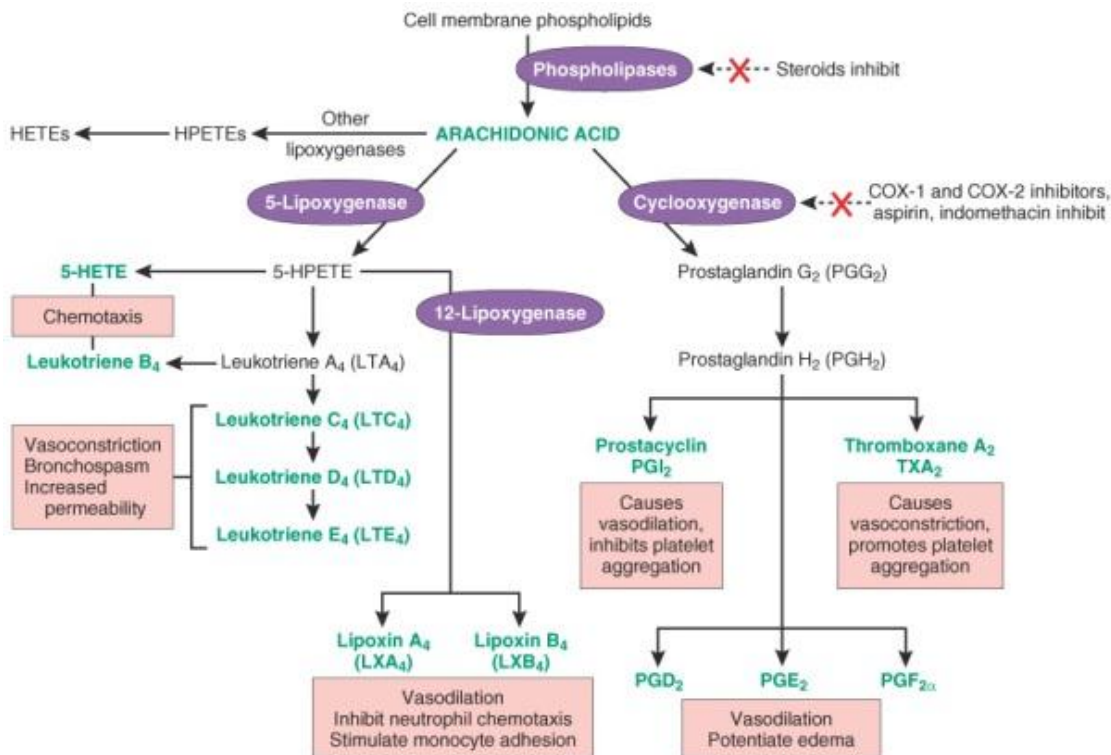


Figura 2: Generation of arachidonic metabolites and their roles in inflammation.

Imagem retirada de Vinay Kumar, Nelson Fausto. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 7ª edição, p.69, Copyright Elsevier (2012).

3-Anti-inflamatórios não esteroides (AINE):

Vários estudos sugerem que o risco de desenvolver adenoma e carcinoma pode ser reduzido em cerca de 40-50% em indivíduos medicados com ácido acetilsalicílico (AAS) ou outros AINE quando comparado com os controles (9).

3.1-Acido acetilsalicílico:

Pela análise de ensaios clínicos que estudam o uso do AAS diária na prevenção primária e secundária de acidentes vasculares e em grupos de elevado risco sem doença prévia, Rothwell, P. M. *et al* mostram uma redução do risco de morte por cancro em cerca de 20% com o uso do AAS a longo prazo (20 anos). O efeito protetor do AAS para CCR não se mostrou evidente antes dos 10 anos de follow-up. A proteção a longo prazo parece ser tanto maior, quanto maior o tempo de tratamento na altura do ensaio (12).

Ainda que modesto, existe evidência significativa do efeito benéfico do AAS em baixa dose, 81 mg, na recorrência de adenomas em aproximadamente 18% (9). Verifica-se também uma redução de 45% do risco de recorrência de adenomas num grupo de indivíduos com história prévia de CCR, quando tratado com 325 mg de AAS. Concluem ainda que a proteção verificada varia com a magnitude do risco da população em estudo (9).

O uso em dias alternados de uma dose de 100 mg de AAS durante 10 anos não mostrou potenciar uma redução do risco de CCR (13).

O uso de doses iguais ou superiores a 300 mg durante 5 anos mostrou-se eficaz na prevenção primária de CCR, com um período de latência de cerca de 10 anos (14).

Doses elevadas de AAS (superiores a 500 mg) estão associadas a uma redução a longo prazo da incidência de CCR, no entanto os efeitos adversos associados limitam esta prevenção (15).

Rothwell, P. M. *et al* concluíram que o AAS em doses diárias de 75 mg tomada durante alguns anos tem a capacidade de reduzir a longo prazo quer a incidência, quer a mortalidade devida a CCR (15).

Existem evidências de que o AAS é eficaz na prevenção secundária de adenomas por inibir a Cox-2. No entanto para que esta inibição ocorra, são necessárias doses superiores às usadas na inibição Cox-1 e o risco de hemorragia grave provocada pelo AAS é dose-dependente (15).

A redução aproximada de 1 a 5% do risco absoluto de desenvolver CCR com o tratamento com AAS de pelo menos 5 anos pode ter implicações práticas na clínica. Em jeito de conclusão, indivíduos com indicação para prevenção de doenças vasculares e indicados para realizarem antiagregantes plaquetários a longo prazo, estes resultados podem ser um argumento a favor do uso do AAS em detrimento de outro fármaco (15).

Apesar de não haver uma concordância entre estudos no que respeita a doses e tempo de follow-up, de modo geral o efeito benéfico do AAS parece ser tanto maior quanto maior o tempo de tratamento e a dose utilizada (efeito dose-dependente). O grau de benefício parece também ser maior quanto maior o risco da população em estudo. Em contrapartida a associação a efeitos adversos também parece ser dose-dependente (9, 12-15).

3.2-Inibidores seletivos da Cox-2 (Coxib):

Bresalier, R. S. refere três importantes estudos que fundamentam um efeito de proteção da inibição seletiva da Cox-2. The Adenoma Prevention with

Celecoxib (APC) conclui um efeito dose-dependente na redução de novos adenomas por um período de 3 anos em cerca de 33-45% e de 57-66% no risco de desenvolvimento de adenomas avançados (maior ou igual a 1cm, histologia vilosa ou tubulovilosa e alto grau de displasia) com o uso de celecoxib (200 mg ou 400 mg duas vezes ao dia). Revela, no entanto, um risco de complicações CV dose-dependente quando comparado com placebo, sendo 2,3 vezes superior para dose de 200 mg e 3,4 vezes superior para 400 mg (9, 16, 17).

O estudo The prevention of Sporadic Adenomatous Polyps (PreSAP), que também estuda o papel do celecoxib na dose de 400 mg apresenta resultados sobreponíveis aos do estudo anterior, mas com um risco CV relativamente menor de 1,3 quando comparado com placebo (9, 16).

The Adenomatous Polyp Preventios on Vioxx (APPROVe) conclui, pela administração oral e diária de 25 mg de rofecoxib, uma redução de 24% na recorrência de adenomas e de 30% de adenomas avançados. No entanto o risco de eventos trombo-embólicos de 1,92 quando comparado com indivíduos tratados com placebo levou à retirada do mercado em 2004 (9).

Estes estudos mostram uma redução significativa na recorrência de adenomas com a inibição seletiva da Cox-2 em indivíduos com história de adenoma prévio. No entanto, verifica-se um aumento global de cerca de duas vezes sobre o risco de complicações CV, analisando em conjunto os estudos APC e PreSAP. O aumento do risco e dos perfis tensionais nestes pacientes parece ser dose-dependente (9, 16, 17).

3.2.1-Celecoxib:

São propostos para o celecoxib mecanismos de atuação alternativos ao habitual papel na inibição de prostaglandinas, que possam ser responsáveis pelo efeito preventivo que este fármaco pode desempenhar no CCR (18, 19).

Num estudo com o objetivo de avaliar até que ponto os efeitos verificados com o uso do celecoxib são uma característica apenas sua ou inerente a toda a classe coxib, apenas o celecoxib e o metilcelecoxib (um análogo estrutural do celecoxib sem a capacidade de inibir a Cox-2) demonstraram a capacidade de induzir apoptose e diminuir o crescimento celular. Nenhum dos restantes coxibs: rofecoxif, etoricoxib, valdecoxib e lumirocoxib, demonstrou efeitos antiproliferativos, sugerindo uma ausência de efeito da classe e do papel da Cox-2 (18).

O celecoxib tem a capacidade de afetar seletivamente os enterócitos transformados por ter como alvo genes e vias patológicas envolvidas na transformação, nomeadamente a ciclina D1. O processo de “down-regulation” da ciclina D1 pelo celecoxib mostra-se como um mecanismo significativo pelo qual inibe o crescimento celular de células cancerígenas sem afetar as normais (19).

Ainda que os mecanismos moleculares responsáveis pelo efeito antiproliferativo do celecoxib não estejam totalmente esclarecidos, S. Schiffmann *et al* sugerem a possibilidade de se tratar de uma combinação sinérgica de vários efeitos Cox-2 independentes dadas as múltiplas proteínas que se encontram reguladas após o tratamento com o fármaco (18, 20). Foi

sugerida uma correlação entre a eficácia dos fármacos celecoxib e metilcelecoxib, um análogo estrutural do celecoxib desprovido de efeito sobre a enzima Cox-2, em inibir a Akt cínase. O mesmo estudo conclui que o mesmo efeito não se verifica noutros fármacos inibidores seletivos Cox-2, assumindo não se tratar de um mecanismo Cox-2 dependente, mas sim de uma característica própria do celecoxib (18).

O celecoxib tem a capacidade de induzir apoptose e autofagia em células cancerígenas em oposição à proteína Bcl-2, que regula negativamente ambos. A sobre-expressão da proteína antiapoptótica Bcl-2 atenua a citotoxicidade e clivagem da caspase-3 induzidas pelo celecoxib. O ABT-737, capaz de antagonizar a proteína Bcl-2, mostrou potenciar os efeitos do celecoxib. Esta via pode constituir um novo potencial alvo de estudo, individualmente e/ou em combinação com o celecoxib (21).

A mutação do gene APC ou da β -catenina (menor afinidade para a cínase GSK-3 β) condicionam uma diminuição da formação do complexo de degradação e culminam num processo semelhante à ativação inapropriada da via Wnt, como mostra a Figura 3 (5). A acumulação de β -catenina nuclear associa-se à transcrição de genes envolvidos na diferenciação, proliferação e sobrevivência (C-myc) (5, 22, 23).

Mutações de recetores tirosina cínase associam-se à sobrevivência e progressão do CCR, sendo que o c-Met (recetor tirosina cinase) encontra-se sobre-expresso em CCR avançados (pior prognóstico). Um dos efeitos major do celecoxib parece recair na correpressão c-Met e β -catenina. O c-Met como alvo por inibidores c-Met ou análogos do celecoxib permite uma sinalização

negativa da via Wnt em pacientes com CCR, que se acompanha pelo aumento da GSK-3 β e consequente fosforilação da β -catenina e sua sinalização para a degradação (23).

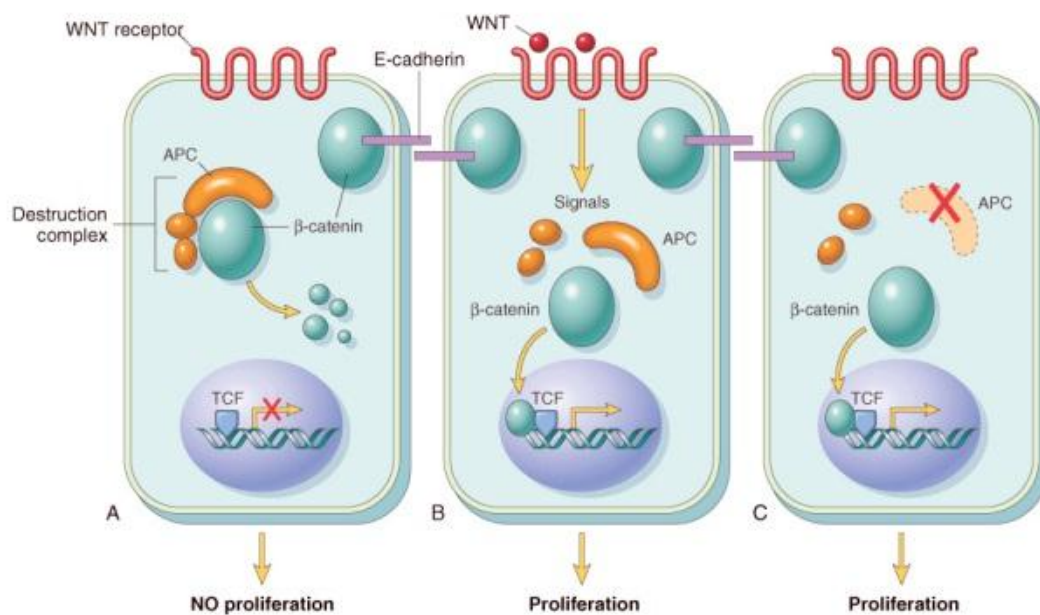


Figura 3: A-The role of APC in regulating the stability and function of β -catenina. B-When cells are stimulated by secreted WNT molecules. C-When APS is mutated or absent.

Imagem retirada de Vinay Kumar, Nelson Fausto. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 7^a edição, p.317, Copyright Elsevier (2012).

F. Bozzo *et al* num estudo onde pretende analisar a eficácia de derivados dadores de oxido nítrico do celecoxib (potencialmente com menores efeitos CV adversos), associa ao celecoxib a capacidade de redistribuir a β -catenina na

célula. A expressão de beta-catenina nuclear em tumores malignos associa-se com frequência a um comportamento mais agressivo das células tumorais, atuando como fator de transcrição, de genes que promovem a carcinogénese como referido anteriormente. O tratamento com celecoxib e seus derivados dadores de óxido nítrico demonstraram a capacidade de aumentar a fração membranosa de β -catenina e promover um aumento na expressão de E-caderina na membrana capaz de formar complexos, contribuindo para a diminuição da migração celular e invasividade tumoral, aumentando a adesão célula a célula (22).

3.3-Efeitos adversos:

O AAS associa-se pela inibição Cox-1 ao aumento de complicações gastro-intestinais (GI) adversas. Mesmo em baixas doses, o risco de hemorragia em indivíduos tratados com AAS é 2,5 vezes superior ao risco de indivíduos tratados com placebo. Outros estudos concluem existir um risco de complicações hemorrágicas por parte dos inibidores seletivos, inferior ao dos AINE capazes de inibir ambas as isoformas da Cox, ainda que apresentem um risco superior aos grupos de controlo tratados com placebo (9).

Alguns ensaios adiantam a hipótese da inibição crónica da Cox-2, através da diminuição da síntese de prostaciclina (PGI₂), exercer efeitos deletérios no processo de aterogénese, pressão sanguínea e remodelação cardíaca, aumentando o risco de eventos cardiovasculares nos doentes submetidos a estes tratamentos (9, 16, 17, 22).

O rofecoxib associou-se a um aumento na frequência de reações cardiovasculares adversas em pacientes com um tempo de tratamento médio de 7,4 meses (24), apesar de alguns ensaios terem verificado a capacidade em diminuir a recorrência de adenomas (25, 26).

Ensaio clínicos e estudos observacionais demonstraram um risco aumentado de enfarte agudo do miocárdio, acidente vascular cerebral, hipertensão e paragem cardíaca e conduziram à retirada do rofecoxib e valdecoxib do mercado em 2004 e 2005 respetivamente. Também a toxicidade hepática levou à descontinuação da aprovação do lumirocoxib nos EUA em 2007 (20).

O celecoxib parece ser mais seguro que outros inibidores Cox-2 seletivos, no entanto, alguns cuidados adicionais poderão ser tidos em conta no caso de pacientes com risco prévio de patologia CV (20).

Bresalier, R. S. conclui que a prevenção de doenças não deve passar apenas pela preocupação de uma em particular, e vê o indivíduo como um todo. Atribui importância à ponderação de risco e benefícios individualmente (9).

O aperfeiçoamento de mecanismos farmacológicos que permitam a chegada do fármaco diretamente à mucosa do colon poderá permitir uma redução considerável da dose necessária e dos efeitos sistémicos colaterais. Estes mecanismos poderão passar por pró-farmacos, formulações tempo dependentes, sistemas dependentes de pH ou sistemas de ativação pela flora colónica, mas ainda carecem de mais evidências *in vivo* (27).

4-Novas vias em estudo:

4.1-Combinações entre AINE e outras substâncias que potenciem os seus efeitos benéficos ou conduzem a um “down-regulation” da Cox-2:

Os efeitos sinérgicos conseguidos com uso de inibidores seletivos e não seletivos da Cox-2, em combinação com outros fármacos, assumem especial importância pelo facto de permitirem diminuir as doses usadas e concomitantemente os efeitos adversos associados ao seu uso.

Esquemas de 5-fluorouracil combinados com inibidor seletivo Cox-2 na inibição de metástases hepáticas do CCR:

O fígado é um local importante de metastização do CCR envolvido em 15-25% dos tumores primários na altura do diagnóstico e que mais 35 a 45% dos doentes desenvolvem no decurso da doença. O tratamento consiste, sempre que possível, na ressecção hepática adequada. A sobrevida aos 5 anos é de apenas 20-50%, apresentando uma taxa de recorrência de 50% (28). O tratamento citostático evolui nos últimos anos, utilizando-se atualmente associados aos esquemas com 5-fluorouracil anticorpos monoclonais: cetuximab no caso do gene k-ras wild-type e bevacizumab no caso de k-ras mutado. Pelos estudos mostrados em linhagens celulares com elevada capacidade de metastização (LM-H3), a combinação de esquemas com 5-fluorouracil com um inibidor Cox-2 pode ser útil no tratamento da quimioprevenção de metástases hepáticas do CCR após ressecção primária do

tumor ou de uma metástase hepática (28). Os inibidores Cox-2 demonstram uma inibição significativa, dose-dependente, da capacidade de invasibilidade das células cancerígenas em parte pela diminuição da expressão de MMP (28).

Regulação da expressão genética por nutrientes da dieta:

No processo de carcinogénese também participam fatores ambientais e uma dieta personalizada pode ajudar na prevenção da doença. O butirato e a carnitina, nutrientes presentes na dieta diária, possuem a capacidade de regulação de alguns genes e diminuição da expressão de Cox-2. O butirato, ácido gordo de cadeia curta, é capaz de inibir a proliferação e induzir apoptose pela sua capacidade de inibição de proteínas reguladoras. A carnitina possui propriedades antioxidantes e anticarcinogénicas, além de aumentar a semivida do butirato. Apesar dos benefícios demonstrados *in vitro* com o uso quer do butirato, quer da carnitina isoladamente, a combinação de ambos foi mais potente que cada um isoladamente, demonstrando uma redução da proliferação até 40% comparando com controlos, e uma inibição da síntese de PGE-2 até 40%. Apenas no que respeita ao aumento da taxa de apoptose, a combinação demonstrou um aumento de 63% e não superou o butirato per se, que foi capaz de incrementar a taxa de apoptose em 85% (29).

A circunina, outro nutriente da dieta, mostrou promover a redução da proliferação celular, induzir a apoptose e inibir a Cox-2 (30). Mostrou potenciar os efeitos do celecoxib permitindo uma indução da apoptose com doses 10 vezes inferiores à habitualmente usada. Esta atuação sinérgica com os AINE e inibidores seletivos permite um uso de doses menores, o que possibilita

contornar as principais limitações do seu uso, os efeitos laterais deletérios (31). Tratando-se de um mecanismo dependente ou independente da Cox-2, a combinação circumina com celecoxib permitiu uma frenagem de PGE-2 superior à verificada com uso isolado do celecoxib (31).

Efeitos antimetastáticos da inibição Cox-2 e do “epidermal growth receptor” (EGFR):

A inibição seletiva da Cox-2 promove redução do potencial metastático (28, 32). A PGE-2 tem a capacidade de atuar na motilidade celular por atuação nos recetores EP4 e também por transativação EGFR. A combinação entre Sulindac, um AINE e EKB-569, um inibidor EGFR, mostrou em experiências animais que 50% dos ratos com mutação APC+/min não desenvolveram pólipos ao contrário do que seria de esperar (33). Estes resultados sugerem que a inibição das vias Cox-2 e EGFR simultaneamente podem ser úteis no tratamento e prevenção do CCR (33).

“Down-regulation” da Cox-2 pela somatostatina:

Tem como alvo fatores endógenos envolvidos no controlo da via e não a inibição direta da Cox-2. Pensa-se que a ação antiproliferativa da somatostatina advém da sua capacidade de neutralizar a promoção da proliferação de que a gastrina é capaz no CCR. A hipergastrinemia é um fator associado a maior risco de CCR segundo Colucci, R *et al*, e além disso a maioria dos pacientes apresenta-se com aumento da expressão de gastrina e Cox-2. Esta ação é mediada por recetores sst5 (maior expressão nas células

tumorais do que na mucosa normal) e culmina na diminuição da produção de PGE₂. Outros recetores como sst3 estão também envolvidos (34).

4.2-Vias relacionadas com a Cox2 por explorar:

Inibição da enzima 11 β HSD2 (11 β -Hydroxysteroid dehydrogenase type II) e aumento da atividade glicocorticoide na supressão Cox-2:

Os níveis séricos da enzima 11 β HSD2 encontram-se aumentados em adenomas do cólon quando comparados com o tecido normal (35, 36). A inativação do cortisol via 11 β HSD2 pode ser um importante processo oncogénico envolvido na proliferação celular (36). A inibição desta enzima leva ao aumento da concentração do cortisol, promovendo a atividade glicocorticoide intracelular, condicionando uma supressão da atividade da Cox-2 e conseqüente diminuição da PGE-2 (Figura 2) (5, 35). No que concerne aos efeitos laterais desta via, a seletividade Cox-2 permite isenção dos efeitos GI condicionados pelos AINE clássicos (35). Como esta enzima é expressada de forma quase restrita no cólon e nos rins, a inibição da sua atividade não pressupõe os riscos CV subjacentes aos inibidores seletivos que são capazes de suprimir a produção de PGI₂ nas células endoteliais (35).

Apesar de alguns estudos evidenciarem um efeito da administração sistémica de glicocorticoides na inibição do crescimento de algumas linhagens celulares, este método não constitui um bom meio de quimioprevenção/quimioterapia pelos vastos efeitos laterais e risco de imunossupressão (35). Por outro lado, o aumento da atividade glicocorticoide conseguido com a inibição da 11 β HSD2 é

de esperar apenas nos locais onde a enzima se expresse, evitando como tal os efeitos sistêmicos indesejáveis antes referidos (35). O ácido glicirrízico, um composto existente na raiz de alcaçuz, uma planta da família das leguminosas com propriedades anti-inflamatórias e capacidade de inibição da 11 β HSD2, constitui um excelente protótipo para estudo desta via (35). Para que possa ser tida em consideração como via alternativa à inibição da Cox-2, a inibição pela 11 β HSD2 deverá ser tão ou mais eficaz e um perfil de segurança a longo prazo mais favorável (36). Em relação ao primeiro aspeto os estudos parecem mostrar resultados favoráveis, quanto à questão do perfil de segurança a longo prazo existe a possibilidade de surgirem complicações como hipocalémia e aumento das pressões arteriais por efeitos a nível renal (35). A necessidade de monitorização dos níveis de potássio e das pressões sanguíneas arteriais não deverá ser critério de exclusão automática do uso da inibição da enzima 11 β HSD2 como estratégia de inibição da expressão Cox-2 tumoral. Além disso, a possibilidade do uso da via entérica e atuação local poderá constituir um mecanismo de fuga a estes efeitos laterais e permitir dar um passo em frente no tratamento do CCR (35).

Ativadores PPAR γ (peroxisome proliferator activated-receptor γ), como a pioglitazona, promovem “down-regulation” da Cox-2:

O recetor nuclear PPAR γ ativado forma um heterodímero com um recetor nuclear dos retinóides, o RXR γ , capaz de se ligar à região promotora do gene da Cox-2, promovendo um processo do down-regulation da expressão da enzima (11). Ciclina D1, C-myc, β -catenina e Cox-2 são alvos do PPAR γ (37).

Agonistas PPAR γ mostram um efeito inibitório na proliferação e no desenvolvimento de metástases hepáticas de modo dose e tempo dependente (37).

A eficácia dos agonistas PPAR γ , tiazolinedionas, e dos agonistas RXR γ , rexinoides, é aumentada pela combinação de ambos. A combinação atua de forma sinérgica no estímulo da apoptose (verificou-se um aumento da proteína Bax e diminuição Bcl-2), diminuição da sobre expressão Cox-2 e diminuição da capacidade de invasão (diminui os níveis de MMP2 e MMP9 e a capacidade de migração e por modulação no sistema E-caderina/ β -catenina). A pioglitazona, agonista PPAR γ , pode ser um candidato para prevenção e/ou tratamento de metástases hepáticas (principal local de metastização) em doentes com CCR (11, 37).

Indução de via da apoptose, COX-2 dependente:

Um dos principais problemas no tratamento do CCR reside na resistência à quimioterapia e promoção da apoptose, devido à acumulação de diversas mutações, nomeadamente na proteína pró-apoptótica Bax. A resistência à apoptose resulta na falha do tratamento.(38)

Alguns autores sugerem um aproveitamento da expressão aberrante da Cox-2 verificada no CCR. A anandamida, um canabinóide endógeno, mostrou-se capaz de promover a apoptose em linhagens celulares previamente resistentes (HCT116 Bax $^{-/-}$). Verificou-se o aumento da sensibilidade à apoptose pela anandamida quando a Cox-2 foi induzida em linhagens com baixa expressão (SW480) e pelo contrário, diminuição da sensibilidade à apoptose quando a

expressão de Cox-2 foi suprimida em linhagens que a expressam abundantemente (HCA7). Esta capacidade de indução da apoptose pela anandamida em células previamente resistentes, mostrou-se dependente da expressão da Cox-2, favorecendo uma potencial manipulação da sua expressão aberrante a favor do tratamento (38).

Engenharia genética e manipulação do genoma:

Poderá no futuro ser uma alternativa inovadora às abordagens farmacológicas, através da inibição seletiva da enzima Cox-2 pela interferência com o RNA. Este tipo de tecnologia usa-se com sucesso no silenciamento da proteína Cox-2 em modelos *in vitro*, e alguns estudos recaem sobre a possibilidade de extrapolar este tipo de manipulação para novas possibilidades terapêuticas. O objetivo consiste num silenciamento forte e específico em determinados tecidos, que permita uma inibição da Cox-2 desprovida de efeitos laterais indesejados. Um dos principais aspetos a ser alvo de estudo e pesquisa consiste no vetor que permita este tipo de manipulação genómica na clínica (39).

Discussão

O CCR trata-se de uma patologia neoplásica de elevada incidência (1 em cada 20 indivíduos receberá o diagnóstico de CCR durante a sua vida) reiterando a importância do desenvolvimento de novas estratégias profiláticas e terapêuticas (1).

Existem evidências *in vitro* e *in vivo* de um papel da Cox-2 no processo tumoral e de que a inibição da enzima reduz o risco de desenvolver CCR (2).

Vários estudos demonstraram uma redução do risco de desenvolver adenomas ou carcinomas em indivíduos medicados com AAS ou AINE comparado com controlos (9).

Alguns autores afirmam a existência de um claro papel da Cox-2 no processo tumoral, corroborado por estudos que mostram a eficácia dos seus inibidores seletivos e não seletivos (9), bem como por estudos em que a supressão do gene responsável pela Cox-2 conduz, em experiências animais, a uma redução drástica do risco de CCR (8). Em menor proporção, alguns autores, através dos resultados dos seus estudos colocam em causa o papel da Cox-2 (18). Mesmo sem um total esclarecimento das vias de patogénese, nem concordância entre todos os estudos, o aprofundamento de conhecimentos no papel da enzima tem permitido abrir novas janelas de oportunidade para a investigação. Seja por mecanismos dependentes ou independentes da Cox-2, alguns fármacos como o celecoxib, têm demonstrado resultados positivos. Schiffmann *et al*, negam um papel Cox-2 dependente, concluindo que apenas o metilcelecoxib (um análogo estrutural do celecoxib sem a capacidade de inibir a Cox-2) e o

celecoxib demonstraram a capacidade de induzir apoptose e diminuir o crescimento celular num estudo realizado com mais fármacos da mesma classe. Estes resultados remetem para um papel inerente ao próprio celecoxib e não a toda a classe dos coxib (18).

Vários agentes orais têm sido testados no combate ao CCR e os fármacos quimiopreventivos que se mostraram mais eficazes foram o AAS e outros AINE, por apresentarem capacidade de suprimir a proliferação celular dada a sua capacidade de inibir a síntese de prostaglandinas (40). O uso regular de AAS reduz o risco de adenomas, CCR e morte pela doença de uma maneira dose e tempo dependente, sendo o efeito mais benéfico quanto maior o risco da população em estudo (12-15).

O tratamento com AAS associou-se a uma redução aproximada de 1 a 5% do risco absoluto de desenvolver CCR, que pode ter implicações práticas na clínica. Em indivíduos com indicação para prevenção de doenças vasculares pode ser um argumento a favor do uso do AAS em detrimento de outro fármaco (12-15).

O indivíduo deve ser visto como um todo, sendo importante a ponderação de riscos e benefícios de uma intervenção, especialmente se profilática.

Os inibidores seletivos da Cox-2, associam-se em alguns estudos a um risco aumentado de enfarte agudo do miocárdio, acidente vascular cerebral, hipertensão e paragem cardíaca, o que conduziu à retirada do rofecoxib e valdecoxib do mercado em 2004 e 2005 respetivamente (20, 26). O celecoxib aparenta ser mais seguro que outros inibidores Cox-2 seletivos, no entanto

alguns cuidados adicionais poderão ser tidos em conta no caso de pacientes com risco prévio de patologia CV (20).

Após resultados positivos de um estudo randomizado prospetivo que estudou o papel do celecoxib na supressão dos pólipos em indivíduos com PAF a Food and drug Administration (FDA) aprovou o uso do celecoxib nestes doentes (6).

Algumas questões acerca do uso prolongado do celecoxib com o intuito preventivo em indivíduos com PAF carecem ainda de resposta, nomeadamente até que ponto estas ações poderão ser capazes de substituir, atrasar ou limitar a extensão anatómica de ressecções do cólon e mesmo se serão capazes de inibir a progressão para cancro (7).

Um agente ideal de prevenção deve ser eficaz, seguro e de custos reduzidos. O incumprimento de alguns destes pressupostos pode ser aceitável no caso do risco de cancro ou das morbilidades associadas à condição subjacente serem elevados, como é o caso de indivíduos com PAF (30).

Com o objetivo de controlar os efeitos indesejados da inibição Cox-2, inúmeros estudos sugerem combinações sinérgicas ou uso de vias que potenciam a ação dos inibidores Cox-2 e permitam a utilização de doses menores (29, 30).

Nas novas possibilidades terapêuticas e profiláticas em estudo, a inibição da enzima 11 β HSD2 e aumento da atividade glicocorticoide na supressão Cox-2 mostraram resultados positivos (35, 36), bem como ativadores PPAR γ (pioglitazona) na promoção de “down-regulation” da Cox-2 (11, 37). Outros estudos particularmente interessantes no contexto sugerem um aproveitamento da expressão aberrante da Cox-2 verificada no CCR para colmatar um dos principais problemas no tratamento desta patologia, que consiste na resistência

à quimioterapia na promoção da apoptose. Este facto deve-se ao acúmulo de diversas mutações na proteína pró-apoptótica Bax e a resistência à apoptose resulta na falha do tratamento. A anadamida (canabinóide endógeno) mostrou ser capaz de induzir apoptose em células previamente resistentes, por uma via dependente da Cox-2 (38).

Foi demonstrada a capacidade de regulação da expressão genética por nutrientes da dieta como o butirato e a carnitina. A circumina, por exemplo, demonstrou também a capacidade de diminuir a dose de AINE e de inibidores seletivos da Cox-2 (29, 30).

Com um correto programa de rastreio, será pouco aceitável um risco CV acrescido, por fármacos inibidores seletivos da Cox-2, ainda que diminuto, em indivíduos previamente saudáveis. Pelo contrário em indivíduos com baixo risco de patologia CV, e um risco moderado ou elevado de CCR, os benefícios da Cox-2 podem compensar os riscos. Efeitos tóxicos poderão ser aceitáveis em tratamentos inevitáveis, como tratamento de neoplasias avançadas, mas o limiar de tolerância de efeitos adversos diminui quando se fala em quimioprevenção de indivíduos previamente saudáveis (41).

Mesmo que as terapêuticas quimiopreventivas não alcancem a capacidade de substituir programas de rastreio, poderão eventualmente permitir reduzir a sua periodicidade e risco de morte pela doença, especialmente em indivíduos de alto risco (41).

Conclui-se que existem múltiplas evidências de um papel da Cox-2 no processo tumoral e de que a sua inibição farmacológica é capaz de reduzir o risco de desenvolver adenomas e CCR. Seja por mecanismos dependentes ou

independentes da Cox-2 o celecoxib tem demonstrado resultados positivos, sendo uma das armas já utilizadas na PAF. O tratamento com AAS associa-se a uma redução aproximada de 1 a 5% do risco absoluto de desenvolver CCR e o seu efeito mostra-se dose e tempo dependentes. Combinações que potenciam a inibição Cox-2 ou permitam a utilização de doses menores e consequentemente menores efeitos laterais poderão ser alternativas futuras.

Bibliografia

1. Howlader N, Noone AM, Krapcho M, Neyman N, Aminou R, Waldron W, Altekruse SF, Kosary CL, Ruhl J, Tatalovich Z, Cho H, Mariotto A, Eisner MP, Lewis DR, Chen HS, Feuer EJ, Cronin KA, Edwards BK (eds). SEER Cancer Statistics Review, 1975-2008, National Cancer Institute. Bethesda, MD, http://seer.cancer.gov/csr/1975_2008/, based on November 2010 SEER data submission, posted to the SEER web site, 2011.
2. Ghosh N, Chaki R, Mandal V, Mandal SC. COX-2 as a target for cancer chemotherapy. *Pharmacol Rep.* 2010;62(2):233-44.
3. Iwama T. NSAIDs and colorectal cancer prevention. *J Gastroenterol.* 2009;44 Suppl 19:72-6.
4. Spychalski M, Dziki L, Dziki A. Chemoprevention of colorectal cancer - a new target needed? *Colorectal Dis.* 2007;9(5):397-401.
5. Vinay Kumar AKA, Nelson Fausto. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 7th ed, Elsevier Saunders, 2004.
6. Huang K, Gutierrez LP, Bulow S, Gallinger S, Castells A, Eagle CJ, et al. Clinical characteristics and outcomes in familial adenomatous polyposis patients with a long-term treatment of celecoxib: a matched cohort study. *Fam Cancer.* 2011;10(2):303-8.
7. Steinbach G, Lynch PM, Phillips RK, Wallace MH, Hawk E, Gordon GB, et al. The effect of celecoxib, a cyclooxygenase-2 inhibitor, in familial adenomatous polyposis. *N Engl J Med.* 2000;342(26):1946-52.
8. Oshima M, Dinchuk JE, Kargman SL, Oshima H, Hancock B, Kwong E, et al. Suppression of intestinal polyposis in Apc delta716 knockout mice by inhibition of cyclooxygenase 2 (COX-2). *Cell.* 1996;87(5):803-9.
9. Bresalier RS. Chemoprevention of colorectal neoplasia: advances and controversies (the COX-2 story). *Curr Opin Gastroenterol.* 2007;23(1):44-7.
10. Williams CS, Mann M, DuBois RN. The role of cyclooxygenases in inflammation, cancer, and development. *Oncogene.* 1999;18(55):7908-16.

11. Papi A, Rocchi P, Ferreri AM, Orlandi M. RXRgamma and PPARgamma ligands in combination to inhibit proliferation and invasiveness in colon cancer cells. *Cancer Lett.* 2010;297(1):65-74.
12. Rothwell PM, Fowkes FG, Belch JF, Ogawa H, Warlow CP, Meade TW. Effect of daily aspirin on long-term risk of death due to cancer: analysis of individual patient data from randomised trials. *Lancet.* 2011;377(9759):31-41.
13. Cook NR, Lee IM, Gaziano JM, Gordon D, Ridker PM, Manson JE, et al. Low-dose aspirin in the primary prevention of cancer: the Women's Health Study: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2005;294(1):47-55.
14. Flossmann E, Rothwell PM. Effect of aspirin on long-term risk of colorectal cancer: consistent evidence from randomised and observational studies. *Lancet.* 2007;369(9573):1603-13.
15. Rothwell PM, Wilson M, Elwin CE, Norrving B, Algra A, Warlow CP, et al. Long-term effect of aspirin on colorectal cancer incidence and mortality: 20-year follow-up of five randomised trials. *Lancet.* 2010;376(9754):1741-50.
16. Scott D. Solomon, Marc A. Pfeffer, John J.V. McMurray, Rob Fowler, Peter Finn, Bernard Levin, et al. Effect of Celecoxib on Cardiovascular Events and Blood Pressure in Two Trials for the Prevention of Colorectal Adenomas. *Journal of the American Heart Association* August 30, 2006; 114:1028-1035
17. Scott D. Solomon, M.D., John J.V. McMurray, M.D., Marc A. Pfeffer, M.D., Ph.D., Janet Wittes, Ph.D., Robert Fowler, M.S., Peter Finn, et al. Cardiovascular Risk Associated with Celecoxib in a Clinical Trial for Colorectal Adenoma Prevention. *The new England journal of medicine* march 17, 2005; 352:1071-80.
18. Schiffmann S, Maier TJ, Wobst I, Janssen A, Corban-Wilhelm H, Angioni C, et al. The antiproliferative potency of celecoxib is not a class effect of coxibs. *Biochem Pharmacol.* 2008;76(2):179-87.
19. Sagiv E, Rozovski U, Kazanov D, Liberman E, Arber N. Gene expression analysis proposes alternative pathways for the mechanism by which celecoxib selectively inhibits the growth of transformed but not normal enterocytes. *Clin Cancer Res.* 2007;13(22 Pt 1):6807-15.

20. Auman JT, Church R, Lee SY, Watson MA, Fleshman JW, McLeod HL. Celecoxib pretreatment in human colorectal adenocarcinoma patients is associated with gene expression alterations suggestive of diminished cellular proliferation. *Eur J Cancer*. 2008;44(12):1754-60.
21. Huang S, Sinicrope FA. Celecoxib-induced apoptosis is enhanced by ABT-737 and by inhibition of autophagy in human colorectal cancer cells. *Autophagy*. 2010;6(2):256-69.
22. Bozzo F, Bassignana A, Lazzarato L, Boschi D, Gasco A, Bocca C, et al. Novel nitro-oxy derivatives of celecoxib for the regulation of colon cancer cell growth. *Chem Biol Interact*. 2009;182(2-3):183-90.
23. Tuynman JB, Vermeulen L, Boon EM, Kemper K, Zwinderman AH, Peppelenbosch MP, et al. Cyclooxygenase-2 inhibition inhibits c-Met kinase activity and Wnt activity in colon cancer. *Cancer Res*. 2008;68(4):1213-20.
24. Kerr DJ, Dunn JA, Langman MJ, Smith JL, Midgley RS, Stanley A, et al. Rofecoxib and cardiovascular adverse events in adjuvant treatment of colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2007;357(4):360-9.
25. Baron JA, Sandler RS, Bresalier RS, Quan H, Riddell R, Lanus A, et al. A randomized trial of rofecoxib for the chemoprevention of colorectal adenomas. *Gastroenterology*. 2006;131(6):1674-82.
26. Robert S. Bresalier, M.D., Robert S. Sandler, M.D., Hui Quan, Ph.D., James A. Bolognese, M.Stat., Bettina Oxenius, M.D., Kevin Horgan, M.D., et al. Cardiovascular Events Associated with Rofecoxib in a Colorectal Adenoma Chemoprevention Trial. *The new England journal of medicine* 2005;352:1092-102.
27. Thakral NK, Ray AR, Majumdar DK. Eudragit S-100 entrapped chitosan microspheres of valdecoxib for colon cancer. *J Mater Sci Mater Med*. 2010;21(9):2691-9.
28. Tachimori A, Yamada N, Amano R, Ohira M, Hirakawa K. Combination therapy of S-1 with selective cyclooxygenase-2 inhibitor for liver metastasis of colorectal carcinoma. *Anticancer Res*. 2008;28(2A):629-38.
29. Roy MJ, Dionne S, Marx G, Qureshi I, Sarma D, Levy E, et al. In vitro studies on the inhibition of colon cancer by butyrate and carnitine. *Nutrition*. 2009;25(11-12):1193-201.

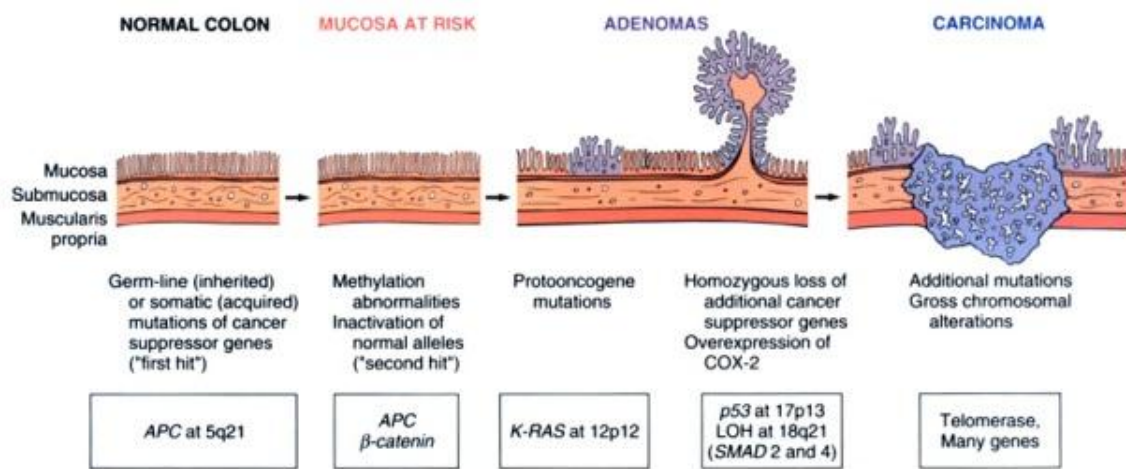
30. Lynch PM. Chemoprevention with special reference to inherited colorectal cancer. *Fam Cancer*. 2008;7(1):59-64.
31. Lev-Ari S, Lichtenberg D, Arber N. Compositions for treatment of cancer and inflammation. *Recent Pat Anticancer Drug Discov*. 2008;3(1):55-62.
32. Buchanan FG, Holla V, Katkuri S, Matta P, DuBois RN. Targeting cyclooxygenase-2 and the epidermal growth factor receptor for the prevention and treatment of intestinal cancer. *Cancer Res*. 2007;67(19):9380-8.
33. Banu N, Buda A, Chell S, Elder D, Moorghen M, Paraskeva C, et al. Inhibition of COX-2 with NS-398 decreases colon cancer cell motility through blocking epidermal growth factor receptor transactivation: possibilities for combination therapy. *Cell Prolif*. 2007;40(5):768-79.
34. Colucci R, Blandizzi C, Ghisu N, Florio T, Del Tacca M. Somatostatin inhibits colon cancer cell growth through cyclooxygenase-2 downregulation. *Br J Pharmacol*. 2008;155(2):198-209.
35. Zhang MZ, Xu J, Yao B, Yin H, Cai Q, Shrubsole MJ, et al. Inhibition of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type II selectively blocks the tumor COX-2 pathway and suppresses colon carcinogenesis in mice and humans. *J Clin Invest*. 2009;119(4):876-85.
36. Stewart PM, Prescott SM. Can licorice lick colon cancer? *J Clin Invest*. 2009;119(4):760-3.
37. Takano S, Kubota T, Nishibori H, Hasegawa H, Ishii Y, Nitori N, et al. Pioglitazone, a ligand for peroxisome proliferator-activated receptor-gamma acts as an inhibitor of colon cancer liver metastasis. *Anticancer Res*. 2008;28(6A):3593-9.
38. Patsos HA, Greenhough A, Hicks DJ, Al Kharusi M, Collard TJ, Lane JD, et al. The endogenous cannabinoid, anandamide, induces COX-2-dependent cell death in apoptosis-resistant colon cancer cells. *Int J Oncol*. 2010;37(1):187-93.
39. Strillacci A, Griffoni C, Valerii MC, Lazzarini G, Tomasi V, Spisni E. RNAi-based strategies for cyclooxygenase-2 inhibition in cancer. *J Biomed Biotechnol*. 2010;2010:828045.
40. Dan Longo AF, Dennis Kasper, Stephen Hauser, J. Jameson, Joseph Loscalzo. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 18th Ed. McGraw Hill, 2011.

41. Arber N. Cyclooxygenase-2 inhibitors in colorectal cancer prevention: point. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008;17(8):1852-7.

Anexos

Figura 1: Schematic of the morphologic and molecular changes in the adenoma-carcinoma sequence.

Imagem retirada de Vinay Kumar, Nelson Fausto. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 7ª edição, p.863, Copyright Elsevier (2012).



Loss of Adenomatous Polyposis Coli (APC) Gene.

Figura 2: Generation of arachidonic metabolites and their roles in inflammation.

Imagem retirada de Vinay Kumar, Nelson Fausto. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 7ª edição, p.69, Copyright Elsevier (2012).

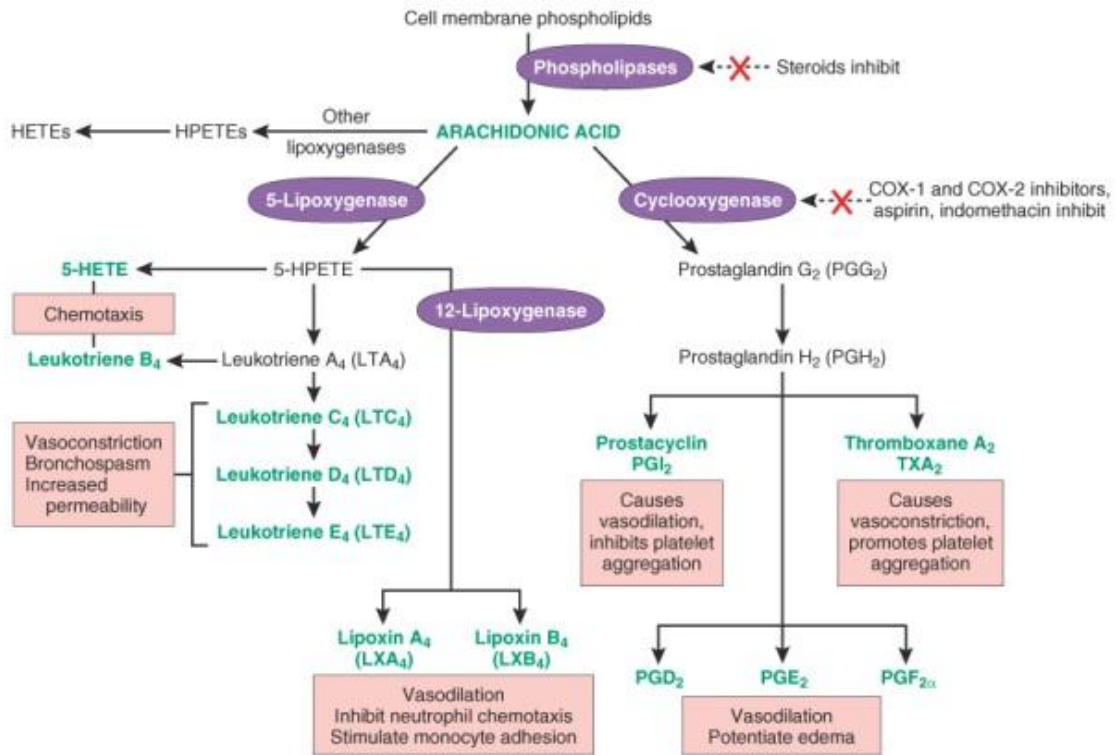
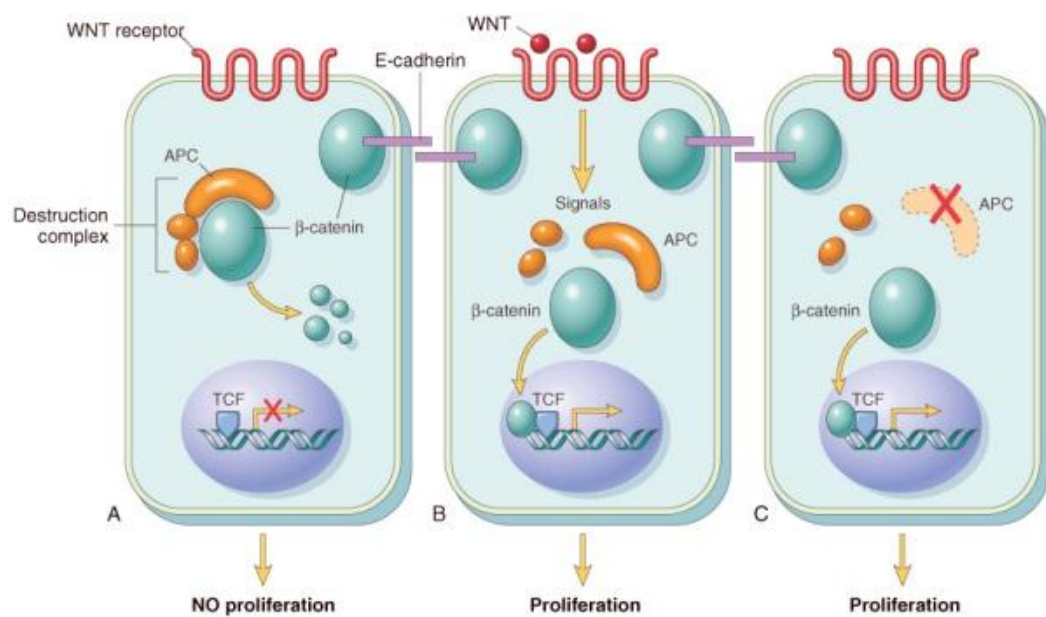


Figura 3: A-The role of APC in regulating the stability and function of β -catenina. B-When cells are stimulated by secreted WNT molecules. C-When APC is mutated or absent.

Imagem retirada de Vinay Kumar, Nelson Fausto. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 7^a edição, p.317, Copyright Elsevier (2012).



Normas da Revista Portuguesa de Cirurgia

Instruções aos Autores

A Revista Portuguesa de Cirurgia é o órgão oficial da Sociedade Portuguesa de Cirurgia.

É uma revista científica de periodicidade trimestral que tem por objectivo a promoção científica da Cirurgia Portuguesa, através da divulgação de trabalhos que tenham esse propósito.

A sua política editorial rege-se pelos valores éticos, deontológicos e científicos da prática, educação e investigação em Cirurgia.

Todos os textos publicados são de autoria conhecida. A Revista compromete-se a respeitar todas as afirmações produzidas em discurso directo, procurando quando seja necessário editá-las, por razão de espaço, manter todo o seu sentido.

A Revista Portuguesa de Cirurgia compromete-se a respeitar e reproduzir todos e quaisquer resultados que sejam obtidos em trabalhos apresentados e que cumpram os critérios de publicação. Todas as fotografias de pessoas e produtos que sejam publicados serão, salvo quando indicado em contrário, de produção própria. Em relação a imagens de produção externa todas as autorizações deverão ser obtidas antes da publicação, sendo a obtenção dessas autorizações da responsabilidade do(s) autor(es).

Publica artigos originais, de revisão, casos clínicos, editoriais, artigos de opinião, cartas ao Editor, notas prévias, controvérsias, passos técnicos, recomendações, colectâneas de imagens, informações várias e outros trabalhos desde que relacionados com quaisquer dos temas que respeitam ao exercício da cirurgia geral, seja sob a forma básica, avançada, teórica ou aplicada.

Os trabalhos para publicação poderão ser escritos em Português, Inglês, Francês ou Espanhol.

Todos os artigos enviados para publicação, serão submetidos a revisão científica prévia por revisores que serão pares profissionais. Os artigos realizados a convite dos Editores não serão sujeitos a revisão por editores devendo, no entanto cumprir as normas de publicação da revista.

O parecer dos revisores levará a que os artigos submetidos sejam:

- Aceites sem modificações;
- Aceites após correcções ou alterações sugeridas pelos revisores ou pelo Conselho Editorial e aceites e efectuadas pelos autores;
- Recusados.

Os casos de tentativa de publicação dupla levam a rejeição automática. Junto com o manuscrito deverão ser enviadas cópias de outros artigos (publicados, aceites para serem publicados ou apresentados para publicação) relacionados com o mesmo tema ou que façam uso dos mesmos elementos e da autoria de qualquer dos co-autores.

Deve ser indicado na página de título se o artigo é baseado em qualquer apresentação prévia, em comunicação oral ou poster.

Os artigos publicados ficarão da inteira propriedade da revista, não podendo ser reproduzidos, em parte ou no todo, sem a autorização dos editores. A responsabilidade das afirmações feitas nos trabalhos cabe inteiramente aos autores.

- **Estilo**

Os trabalhos deverão, tanto quanto possível, ter um estilo directo, conciso e preciso, evitando abreviaturas pouco

conhecidas ou em excesso, bem como o uso de termos crípticos ou de uso muito restrito. Devem permitir uma leitura agradável e rápida e não devem usar sub-entendidos nem fazer alusão a noções que não estejam claramente definidas no próprio trabalho. Os capítulos devem estar bem definidos, seguindo a narração uma progressão lógica. Os elementos de imagem usados devem fazer sentido informativo e estar bem relacionados com o trabalho.

- **Apresentação Inicial de Manuscrito**

Devem ser enviadas pelos Autores aos Editores:

- 1) Quatro cópias** do artigo original (incluindo cópias das tabelas, quadros e ilustrações);
- 2) Uma cópia electrónica** da versão final (ver abaixo a parte relativa à apresentação em formato electrónico)
- 3) Uma carta de pedido de publicação**, assinada por todos os autores. Essa carta deve indicar qual a secção onde os autores entendem que mais se enquadre a publicação, bem como a indicação da originalidade do trabalho (ou não, consoante o seu tipo); deve também indicar se algum *abstract* do trabalho foi ou não publicado (por favor, juntar todas as referências apropriadas). Deve ser também referido se há algum interesse potencial, actual, pessoal, político ou financeiro relacionado com o material, informação ou técnicas descritas no trabalho. Deve ser incluído o(s) nome(s) de patrocinador(es) de qualquer parte do conteúdo do trabalho, bem como o(s) número(s) de referência de eventual(ais) bolsa(s).
- 4) Um acordo de transferência de Direito de Propriedade**, com a(s) assinatura(s) original(ais); sem este documento, não será possível aceitar a submissão do trabalho. Será fornecido um modelo deste acordo, mediante pedido ao Secretariado. (ver abaixo e em anexo mais informação sobre este assunto)
- 5) Cartas de Autorização** – é de responsabilidade do(s) autor(es) a obtenção de autorização escrita para reprodução (sob qualquer forma, incluindo electrónica) de material para publicação. O secretariado editorial poderá fornecer, a pedido, uma carta modelo para o fim em causa. Deve constar da informação fornecida, o nome e contactos (morada, mail e telefone) do autor responsável pela correspondência.

A Revista Portuguesa de Cirurgia segue os critérios de autoria propostos no *British Medical Journal* (BMJ 1994; 308: 39-41) e as linhas gerais COPE relativas às boas práticas de publicação (www.publicationethics.org.uk)

Os trabalhos não devem ter mais de seis autores. A inclusão de mais nomes depende da aprovação pelos Editores considerada a justificação apresentada.

O resultados de estudos multicêntricos devem ser apresentados, em relação à autoria, sob o nome do grupo de estudo organizador primário. Os Editores seguem os métodos de reconhecimento de contribuições para trabalhos publicados no *Lancet* 1995; 345: 668. Os Editores entendem que todos os autores que tenham uma associação periférica com o trabalho devem apenas ser mencionados como tal (BJS - 2000; 87: 1284-1286).

Todo o material apresentado não será devolvido ao autor a menos que especificamente pedido e justificado.

Todos os documentos acima referidos devem ser enviados para:

Sociedade Portuguesa de Cirurgia

a/c Editores da Revista Portuguesa de Cirurgia

R. Xavier Cordeiro, 30

1000-296 Lisboa

Categorias e Tipos de Trabalhos

a) Editoriais

Serão solicitados pelos Editores. Relacionar-se-ão com temas de actualidade e com temas importantes publicados nesse número da Revista. Não deverão exceder 1800 palavras.

b) e c) Artigos de Opinião e de Revisão

Os Editores solicitarão directamente Artigos de Opinião e de Revisão que deverão focar tópicos de interesse corrente.

Os Artigos de Opinião serão, preferencialmente, artigos de reflexão sobre educação médica, ética e deontologia médicas.

Os Artigos de Revisão constituirão monografias sobre temas actuais, avanços recentes, conceitos em evolução rápida e novas tecnologias.

Os Editores encorajam a apresentação de artigos de revisão ou meta-análises sobre tópicos de interesse. Os trabalhos enviados e que não tenham sido solicitados aos seus autores serão submetidas a revisão externa pelo Corpo Editorial antes de serem aceites, reservando os Editores o direito de modificar o estilo e extensão dos textos para publicação. Estes artigos não deverão exceder, respectivamente as 5400 e as 6300 palavras; por cada imagem, tabela ou quadro incluído, devem ser retiradas 80 palavras a este valor máximo.

d) Artigos Originais

São artigos inéditos referentes a trabalhos de investigação, casuística ou que, a propósito de casos clínicos, tenham pesquisa sobre causas, mecanismos, diagnóstico, evolução, prognóstico, tratamento ou prevenção de doenças. O texto não poderá exceder as 6300 palavras; por cada imagem, tabela ou quadro incluído, devem ser retiradas 80 palavras a este valor máximo. Não se inclui para este efeitos o título e o resumo.

e) Controvérsias

São trabalhos elaborados a convite dos Editores. Relacionar-se-ão com temas em que não haja consensos e em que haja posições opostas ou marcadamente diferentes quanto ao seu manuseamento. Serão sempre pedidos 2 pontos de vista, defendendo opiniões opostas. O texto de cada um dos autores não deverá exceder as 3600 palavras; por cada imagem, tabela ou quadro incluído, devem ser retiradas 80 palavras a este valor máximo.

Esta secção poderá ser complementada por um comentário editorial e receberemos comentários de leitores no "Forum de Controvérsias" que será publicado nos dois números seguintes. Haverá um limite de 4 páginas da Revista para este Forum, pelo que os comentários enviados poderão ter de ser editados.

f) Casos Clínicos

São relatos de Casos, de preferência raros, didácticos ou que constituam formas pouco usuais de apresentação. Não deverão exceder as 1800 palavras, duas ilustrações e cinco referências.

g) Nota Prévia

São comunicações breves, pequenos trabalhos de investigação, casuística ou observações clínicas originais, ou descrição de inovações técnicas em que se pretenda realçar alguns elementos específicos, como associações clínicas, resultados preliminares apontando as tendências importantes, relatórios de efeitos adversos ou outras associações relevantes. Apresentadas de maneira breve, não deverão exceder as 1500 palavras, três ilustrações e cinco referências.

h) Cartas ao Editor

O seu envio é fortemente estimulado pelos Editores.

Devem conter exclusivamente comentários científicos ou reflexão crítica relacionados com artigos publicados na Revista. Para manter a actualidade, devem ser recebidas até um mês após a data da publicação do artigo em questão. São limitadas a 900 palavras, um quadro/figura e seis referências bibliográficas. Os Editores reservam-se o direito de publicação, bem como de a editar para melhor inserção no espaço disponível. Aos autores dos artigos, que tenham sido objecto de carta ou cartas aos editores, será dado o direito de resposta em moldes idênticos.

i) Imagens para Cirurgias

Esta secção do destina-se à publicação de imagens (clínicas, radiológicas, histológicas, cirúrgicas) relacionadas com casos cirúrgicos. O número máximo de figuras e quadros será de 5. As imagens deverão ser de muito boa qualidade técnica e de valor didático. Deverão cumprir os critérios apresentados abaixo referentes à aceitação de imagens para publicação (ver 9. Figuras). O texto que poderá acompanhar as imagens deverá ser limitado a 300 palavras.

Preparação dos Manuscritos

A Revista Portuguesa de Cirurgia segue as regras dos «Requisitos Uniformes para Apresentação de Manuscritos a Revistas Biomédicas» elaborados pela Comissão Internacional de Editores de Revistas Médicas também conhecidos por “Normas de Vancouver”, na sua 5ª Edição.

Os pontos mais importantes destas normas estão sumariados a seguir:

Todas as submissões têm de ter um título, ser impressas apenas de um lado da folha, em folhas separadas de formato A4, espaçadas a duas linhas e ter uma margem de 3cm em todos os contornos e escritas em fonte Arial e corpo 12.

Os trabalhos devem ser preparados, segundo a seguinte ordem, iniciando-se cada item numa página separada:

- | | |
|---------------------------------------|------------------------|
| 1 . Página do título | 6. Discussão |
| 2. Resumo (Sumário, <i>Abstract</i>) | 7. Bibliografia |
| 3. Introdução | 8. Legendas |
| 4. Material e Métodos | 9. Figuras |
| 5. Resultados | 10. Quadros ou Tabelas |

Todas as páginas devem ser numeradas no canto superior direito. A numeração das referências, tabelas e imagens deve ser feita pela ordem de aparecimento no texto.

1. Página do Título

Tem de apresentar o **título completo**, título abreviado e nomes e Instituições de origem de todos os autores. Quer o título completo (máximo de 120 caracteres) quer o título abreviado (máximo de 40 caracteres) deverão ser apresentados em português e em inglês. Deve conter o máximo de informações e o mínimo de palavras. Não deve conter formulas, abreviaturas e interrogações.

Autores - Deve ser acompanhado do(s) nome(s) completo(s) do(s) autore(es), com indicação das iniciais do(s) primeiro(s) nome(s) e do apelido, na forma como será publicado, seguido dos títulos profissionais e do nome da instituição onde o trabalho foi realizado.

Autoria – conforme notado nos “Requisitos Uniformes”, “Todas as pessoas designadas como autores, devem ter-se qualificado para a Autoria e todos os que se qualificaram devem ser mencionados. A ordem de alinhamento dos autores

deve ser uma decisão conjunta de todos os co-autores. Cada autor deve ter participado suficientemente no trabalho para poder assumir responsabilidade pública pelo conteúdo. Os créditos de autoria devem-se basear somente em contribuições substanciais para: (a) Concepção e desenho do estudo ou análise e interpretação dos dados; (b) escrita do artigo ou a sua revisão crítica para o seu conteúdo intelectual e (c) aprovação final da versão a ser enviada para publicação. As condições (a) (b) e (c) têm de existir. Cada parte do trabalho que seja crítica para as suas conclusões principais deve ser, pelo menos, da responsabilidade de um dos autores.

Além disso, e cada vez mais, os ensaios multicêntricos são atribuídos a um autor institucional (ver referência feita atrás). Todos os membros do grupo que são nomeados como autores, quer numa posição de autoria junto ao título, quer como nota, devem cumprir por inteiro os critérios de autoria definidos nos Requisitos Uniformes. Membros ou grupos que não cumpram estes critérios devem ser mencionados, com a sua licença, nos agradecimentos ou no apêndice". (*JAMA* 1993;269:2282-6).

Em todos os trabalhos com mais de um autor, deverá haver referência à participação dos autores em cada uma das seguintes rubricas de concepção e elaboração (podendo cada um ser referido em mais de uma rubrica e sendo o número de rubricas a assinalar dependente da estrutura de cada trabalho): 1 – Concepção e desenho do trabalho; 2 – Aquisição de dados; 3 – Análise e Interpretação dos dados; 4 – Elaboração do Manuscrito; 5 – Revisão Científica; 6 – Revisão Crítica; 7 – Análise e Revisão dos dados Estatísticos; 8 – Pesquisas Bibliográficas; 9 – Estudos Clínicos; 10 – Obtenção de Fundos e Bolsas; 11 – Supervisão do Trabalho

Patrocínios e apoios – deverão ser referidas todas as entidades que patrocinaram o trabalho, as fontes de suporte financeiro (apoios directos e/ou Bolsas) e eventuais conflitos de interesses.

Autor responsável pelos contactos – deve estar referido o nome, endereço, telefone e e-mail do autor a quem deve ser enviada a correspondência.

2. Resumo

Os resumos são redigidos em Português e Inglês não devendo ultrapassar as 200 palavras no caso de trabalhos originais e as 120 se se tratar de caso clínico. Os resumos (abstracts) não devem conter abreviaturas, referências ou notas em rodapé e devem ser organizados segundo os seguintes itens:

Introdução, explicando porque foi efectuado o corrente trabalho e (Objectivos) qual o seu propósito principal e as suas bases de concepção.

Métodos, descrevendo os doentes, material de laboratório e outros métodos usados. Deve-se aqui identificar claramente a natureza do estudo, por exemplo: ensaio clínico randomizado, revisão retrospectiva, estudo experimental.

Resultados, apresentando os achados principais, incluindo valores numéricos importantes.

Conclusões, apresentando as conclusões principais mas podendo ser mencionadas observações controversas ou inesperadas.

Deve ser um sumário conciso de todo o trabalho e não somente das suas conclusões permitindo a sua compreensão sem ser necessário ler todo o trabalho.

Serão seguidos de 3 a 7 **palavras-chave**, seguindo o MeSH (Medical Subject Headings) do Index Medicus, em português e em inglês, para descrição do trabalho para indexação.

3. Introdução, 4. Material e Métodos, 5. Resultados e 6. Discussão

O texto deve ser preciso e conciso, evitando-se repetições desnecessárias. Deve incluir referência a aprovação da Comissão de Ética da Instituição e aos métodos estatísticos utilizados. Quando sejam mencionados materiais específicos, equipamentos ou medicamentos comerciais, deve ser mencionado entre parêntesis o seu nome curto e o nome do fabricante. Todos os fármacos devem ser referidos pelo seu nome genérico, sendo eventuais referências a nomes comerciais, acompanhadas do nome, cidade e país do fabricante, feitas em rodapé.

As abreviaturas, que são desaconselhadas, devem ser especificadas na sua primeira utilização e usadas depois

consistentemente. Os parâmetros utilizados devem ser expressos em Unidades Internacionais, com indicação dos valores normais. A identificação das figuras deverá ser feita em numeração árabe e a dos quadros em numeração romana.

O texto principal do trabalho deve ter secções separadas de **Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão**.

Um curto parágrafo de **Agradecimentos** também pode ser incluído, antes da Bibliografia; só deve ser mencionado quem contribui directamente, de forma científica ou técnica, para o artigo.

7. Bibliografia

Deve ser referenciada em numeração árabe, por ordem de aparecimento no texto. Nos artigos originais ou de revisão não há limite pré-estabelecido de referências. Nos casos clínicos não devem ultrapassar as 5. As referências de comunicações pessoais e de dados não publicados serão feitas directamente no texto, não sendo numeradas. Deverão ser feitas utilizando as abreviaturas do Index Medicus.

Escreva as referências a duplo espaço no estilo Vancouver (usando números em *superscript* e apresentando uma lista completa das referências no final do trabalho, pela ordem em que aparecem no texto). Citações *online* devem incluir a data de acesso. Use o *Index Medicus* para os nomes dos jornais científicos. Comunicações pessoais e Dados não publicados não serão incluídos como referências; esta informação é para ser incluída no próprio texto com a indicação apropriada: (A. autor, dados não publicados) ou (B. Autor, comunicação pessoal); estes elementos só devem ser usados se houver autorização.

As Referências devem ser apresentadas de acordo com o estabelecido no "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals"

8. Legendas

Devem ser dactilografadas a dois espaços em folhas separadas e numeradas em sequência (uma página para cada legenda). As legendas devem ser numeradas em algarismos árabes pela sequência da citação no texto, e fornecerem a informação suficiente para permitir a interpretação da figura sem necessidade de consulta do texto. Todos os símbolos (setas, letras, etc.) e abreviaturas existentes devem ser claramente explicadas na legenda. A numeração tem de corresponder à das figuras a que se referem.

9. Figuras

Se não forem em suporte digital, todas as figuras, imagens e fotografias devem ser enviadas em quadruplicado em fotografia a preto e branco – ou a cores considerando a nota abaixo – (10x14 ou 12x18), não montadas e em papel brilhante, ou em impressão a impressora laser. Para a secção Imagens para Cirurgias as imagens poderão ir até 18x24 cm.

Têm de ser bem desenhadas, com boa impressão ou como fotografia de elevada qualidade, numeradas segundo a ordem de apresentação no texto em algarismos árabes. As ilustrações desenhadas profissional ou semi-profissionalmente devem ser enviadas sob a sua forma original de desenho a tinta da China, não se aceitando fotocópias.

Radiografias, microfotografias e imagens similares devem ser apresentadas não montadas na forma de imagens impressas brilhantes, transparências originais ou negativos e, nas microfotografias, indique o valor do aumento bem como as colorações usadas.

A sua identificação será feita através do número e do título da figura e das iniciais e nome do primeiro autor escritos num autocolante colocado no verso, que deverá ainda conter sinalização clara indicando qual a sua parte superior.

As letras e símbolos que apareçam nas figuras não poderão ser manuscritas (utilizar de preferência símbolos/letras

desenhadas a escantilhão, decalcadas ou mecanicamente impressas), devendo ser legíveis após eventual diminuição das dimensões da figura em 50%.

As figuras deverão ser brancas em fundos escuros e/ou negras em fundos claros. As fotografias a cores devem ser enviadas impressas em papel; em alternativa, poderão ser enviadas em suporte electrónico, desde que digitalizadas em alta definição (ver em baixo).

As fotografias que mostrem doentes ou indivíduos que possam ser identificados pela imagem original devem ser objecto de tratamento informático que cubra de forma eficaz as partes que permitam a identificação, mantendo a visão da zona de imagem com interesse científico. Se for necessária a imagem identificando o doente é preciso que seja enviado em conjunto com a(s) imagem(ns) uma autorização, por escrito, do próprio doente ou do seu representante, autorizando a publicação.

Qualquer tabela ou ilustração reproduzida de um trabalho publicado deve indicar por completo qual a fonte original e os autores devem fornecer o documento apropriado de autorização de uso (ver abaixo)

Gráficos a preto e branco gerados em computador e impressos em impressoras laser de alta qualidade podem ser usados para publicação. A decisão técnica da sua possível utilização será feita pelos Editores ouvida a Empresa Gráfica. Todas as figuras inapropriadas para publicação ou não seguindo estas regras serão devolvidas para revisão e re-envio em tempo útil de 2 semanas, no caso de o artigo ter sido aceite para publicação.

O material enviado em suporte digital deve ser acompanhado da informação necessária (como acima mencionado) para a sua total compreensão.

10. Quadros e Tabelas

Devem ser enviados e devidamente assinalados no texto os locais onde os quadros devem ser inseridos. Se não for enviado em formato digital, cada quadro constará numa folha separada e deve ser enviado na dimensão original. Serão dactilografados a espaço duplo. Terão um título informativo na parte superior e serão numerados com algarismos romanos pela ordem de aparição no texto. Na parte inferior colocar-se-á a explicação das abreviaturas utilizadas e informativas (abreviaturas, significado estatístico, etc). Todas as abreviaturas devem ser explicitadas e as notas de rodapé às tabelas indicadas com letras minúsculas em *superscript*. A nota de rodapé deverá ter indicação de publicação prévia da tabela.

Deve evitar-se as linhas de separação verticais e limitar a utilização das horizontais aos títulos e subtítulos. Os quadros devem sublinhar e melhorar a informação e não duplicá-la; os dados apresentados em tabelas não devem ser repetidos em gráficos.

O material enviado em suporte digital deve ser acompanhado da informação necessária (como acima mencionado) para a sua total compreensão.

Estatística

Os autores são responsáveis pela exactidão das suas afirmações, incluindo todos os cálculos estatísticos e doses de medicamentos.

Ao avaliar um manuscrito, os Editores e os revisores irão considerar o desenho do estudo, a apresentação e a análise dos dados e a interpretação dos resultados.

Todas as **curvas de sobrevida** devem ser acompanhadas por uma tabela indicando o número actual de doentes em risco em cada ponto temporal.

Desenho: os objectivos e tipo (prospectivo, retrospectivo, aleatório, ...) do estudo devem ser claros, as hipóteses primárias e secundárias identificadas, os pontos de avaliação (*end-points*) escolhidos e a dimensão da amostra justificada.

Apresentação: sempre que possível, deve ser usada representação gráfica para ilustrar os principais resultados do estudo. O uso do desvio padrão e do erro padrão deve ser claramente demonstrado e apresentado entre parêntesis depois dos valores médios.

Análise: os métodos usados para cada análise devem ser descritos. Métodos que não sejam de uso comum devem ser referenciados. Os resultados de testes estatísticos mostrando o valor desse teste, o número de graus de liberdade e o valor P até à terceira casa decimal devem ser relatados. Os resultados das análises primárias deve ser apresentados usando intervalos de confiança em vez de, ou além de, valores de P.

Ética

Todos os trabalhos apresentados devem estar conformes com as recomendações éticas da declaração de Helsinquia e as normas internacionais de protecção ao animal. Material que esteja relacionado com investigação humana e experimentação animal deve estar também de acordo com os padrões do país de origem e ter sido aprovado pelas comissões locais de ética, se fôr esse o caso de aplicação. Consentimentos informados por escrito devem ser obtidos, dos doentes, responsáveis legais ou executores, para publicação de quaisquer detalhes escritos ou fotografias que possam identificar o indivíduo. Este consentimento deve ser apresentado juntamente com o manuscrito.

Revisão e Análise dos Trabalhos

As cópias dos trabalhos enviados com o pedido de publicação serão enviadas, de forma anónima, a 3 revisores, que se manterão também anónimos, escolhidos pelos Editores e que receberão os artigos sob a forma de “informação confidencial”, sendo, na medida do possível, “apagadas” electronicamente do texto referências que possam identificar os autores do trabalho, não alterando o sentido do mesmo. Somente os trabalhos que cumpram todas as regras editoriais serão considerados para revisão. Todos os trabalhos que não cumpram as regras serão devolvidos aos autores com indicação da(s) omissão(ões). A apreciação dos trabalhos é feita segundo regras idênticas para todos e dentro de prazos claramente estipulados. O autor responsável pelos contactos será notificado da decisão dos Editores. Somente serão aceites para publicação os trabalhos que cumpram os critérios mencionados, seja inicialmente, por aceitação dos Revisores, seja após a introdução das eventuais modificações propostas (os autores dispõe de um prazo de 6 semanas para estas alterações). Caso estas modificações não sejam aceites o trabalho não será aceite para publicação.

Antes da publicação, as provas tipográficas finais serão – sempre que possível – enviadas ao autor responsável pelos contactos que disporá de 1 semana para as enviar com revisão e correcção (de forma tipográfica e não de conteúdo). Correcções não tipográficas implicarão um atraso na publicação e uma eventual re-avaliação do trabalho. Se o trabalho não for enviado dentro do prazo estabelecido, será publicado conforme as Provas, sob a responsabilidade dos autores, implicando a aceitação pelos autores da revisão das provas efectuada pelos serviços da Revista.

Direitos de Propriedade do Artigo (Copyright)

Para permitir ao editor a disseminação do trabalho do(s) autor(es) na sua máxima extensão, o(s) autor(es) terá(ão) de assinar uma Declaração de Cedência dos Direitos de Propriedade (Copyright). O acordo de transferência, (Transfer Agreement), transfere a propriedade do artigo do(s) autor(es) para a Sociedade Portuguesa de Cirurgia e devem entregar esse acordo original assinado, juntamente com o artigo apresentado para publicação. Uma cópia-modelo deste acordo para ser preenchido e assinado ser-lhe-á enviado por e-mail quando fôr recebido o manuscrito.

Se o artigo contiver extractos (incluindo ilustrações) de, ou for baseado no todo ou em parte em outros trabalhos com copyright (incluindo, para evitar dúvidas, material de fontes online ou de intranet), o(s) autor(es) tem(êm) de obter dos proprietários dos respectivos copyrights autorização escrita para reprodução desses extractos do(s) artigo(s) em todos os territórios e edições e em todos os meios de expressão e línguas. Todas os formulários de autorização devem ser fornecidos aos editores quando da entrega do artigo.

Pedido de Publicação por E-mail

O manuscrito completo pode ser enviado, por e-mail como um ficheiro único Word, acompanhado por uma carta de pedido de publicação para o Editor em <http://revista.spcir.com>. Se o manuscrito for aceite para revisão será necessário, o posterior envio de toda a documentação e texto sob forma física.

Apresentação Electrónica

A cópia electrónica do manuscrito final, revisto, deve ser enviada ao Editor, em conjunto com a cópia final em papel.

Deve ser mencionado o tipo de programa de software utilizado, a sua versão, o título do trabalho, o nome do autor e o nome da Revista. Podem ser utilizados os programas de processamento de texto mais comuns mas é recomendado o uso do programa Microsoft Word. O suporte deve ter a seguinte informação bem visível: Revista Portuguesa de Cirurgia / Título abreviado do Trabalho / Nome do primeiro Autor / Sistema Operativo/ Programa de processamento de texto e versão / Programa de desenho das gravuras e esquemas, e sua versão / Programa de Processamento de Imagem e sua versão / Formato de compressão (se for necessário – ainda que não recomendado – zip, rar, ...)

A extensão do ficheiro dada pelo programa de software não deve ser alterada.

No suporte electrónico, não devem vir mais ficheiros do que os relacionados com o trabalho. O ficheiro electrónico de texto não deve conter formatação especial, e deve ser escrito sem tabulações, quebra de páginas, notas de cabeçalho ou de rodapé ou fonte especial (usar Arial 12). A função de paginação automática para colocar a numeração nas páginas deve ser usada. É necessária atenção ao uso de 1(um) e l(letra L) bem como de 0(zero) e O(letra O). O sinal - (menos) deverá ser representado como um hífen precedido de espaço. Se houver no texto caracteres não convencionais (letras gregas ou símbolos matemáticos) é necessária atenção ao seu uso consistente e é necessário enviar separadamente a lista desses caracteres.

Só em caso excepcional deverá o ficheiro vir sob forma comprimida (zip, rar, winzip) e deverá ser feita menção específica a essa situação.

Se for usado o Microsoft Word deve ser utilizada a função própria de tabelas para construir as tabelas que sejam necessárias.

Cada **imagem** deve ser guardada como um **ficheiro separado** nos formatos TIFF ou EPS e incluir também o ficheiro de origem. Deve ser mencionado o nome do programa de software, e sua versão, usado para criar estes ficheiros; a preferência vai para programas de ilustração e não para ferramentas como o Microsoft Excel ou o Microsoft PowerPoint. As imagens devem também ser enviadas em forma física que será considerada como a final.

a) Imagens/Ilustrações em Meios Tons

Estas imagens devem ser guardadas como RGB (8 bits por canal) em formato TIFF. O modo cor não deve ser utilizado se as ilustrações vão ser reproduzidas em preto e branco uma vez que a definição de perde com a conversão da cor em tons de cinzento.

Programas adequados: Adobe Photoshop, Picture Publisher, Photo Paint, Paint Shop Pro.

b) Gráficos Vectoriais

Estes gráficos quando exportados de um programa de desenho devem ser guardados no formato EPS. As fontes usadas nos gráficos devem ser incluídas (com o comando: "Convert text objects [fonts] to path outlines").

Não devem ser realizados desenhos com linhas muito finas. A espessura mínima de linha é de 0.2 mm (i.e., 0.567 pt) quando medida na escala final.

Programas adequados: Freehand, Illustrator, Corel Draw, Designer.

c) Gráficos elaborados por folhas de cálculo: Podem ser aceites, por vezes, gráficos exportados para EPS por programas como o Microsoft Excel, o Microsoft PowerPoint ou o Freelance. Devem ser usados padrões e não cores para o preenchimento dos gráficos já que as cores se mesclam com os tons de cinzento.

As legendas das figuras e das tabelas devem ser colocadas no fim do manuscrito.

Digitalização

Original	Modo de Digitalização	Resolução Final	Formato
Ilustração a cores (foto ou diapositivo)	RGB (24 bit)	300 dpi	TIFF
Ilustração a uma cor (foto ou diapositivo)	Escala de cinzento (8 bit)	300 dpi	TIFF
Figura com linhas A preto e branco	Linhas	800-1200 dpi	EPS

O original deve ser verificado, após ajuste de dimensão (redução ou ampliação), se tem, pelo menos, os valores de resolução da tabela acima. Só se assim for é que a qualidade de impressão da imagem digitalizada será suficiente.

Outra informação

Será enviado, ao autor indicado, um ficheiro .pdf, com a cópia exacta do artigo, na forma final em que foi aceite para publicação, bem como um exemplar da Revista em que o artigo foi publicado, salvo informação contrária. Mais exemplares da Revista podem ser encomendados a custo que será definido conforme o número pretendido. Caso o número pretendido seja superior a 10 exemplares, esta informação deverá ser indicada antes da publicação.

Nota: Os modelos de cartas, critérios de autoria, declaração de Helsínquia, os “Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals” e outros textos acima mencionados estarão disponíveis para consulta e descarregamento no site da Revista Portuguesa de Cirurgia, <http://revista.spcir.com>.