

**Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia**



Farmacoterapia do Cancro Colorretal

Gabriela Cristina Ricardo Alves

Monografia orientada pela Professora Doutora Ana Paula Gameiro
Francisco, Professora Auxiliar

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

2023

**Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia**



Farmacoterapia do Cancro Colorretal

Gabriela Cristina Ricardo Alves

**Trabalho Final de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
apresentado à Universidade de Lisboa através da Faculdade de Farmácia**

Monografia orientada pela Professora Doutora Ana Paula Gameiro
Francisco, Professora Auxiliar

2023

Resumo

O cancro colorretal encontra-se entre as doenças mais letais e prevalentes a nível mundial, sendo a segunda causa mais frequente de morte por cancro. É uma doença complexa e heterogénea, na medida em que envolve a acumulação de alterações histológicas, morfológicas, genéticas e epigenéticas, bem como fatores de risco genéticos e ambientais. Estes aspetos contribuem para a evolução do epitélio colorretal de normal a adenoma e, por fim, a carcinoma. O desenvolvimento do cancro colorretal envolve as vias da instabilidade cromossómica, instabilidade microssatélite e instabilidade epigenética. A caracterização do perfil molecular do tumor é feita com o objetivo de orientar o prognóstico e o tratamento dos doentes e constitui também um aspeto importante na abordagem deste tipo de cancro.

Ao longo dos anos, têm sido utilizadas diversas abordagens no tratamento do cancro colorretal que incluem a quimioterapia, a cirurgia a radioterapia e as terapias dirigidas. A escolha da opção terapêutica mais adequada deve ser baseada nas características do tumor e nas características de cada doente. A quimioterapia visa induzir a morte de células e/ou impedir o seu crescimento e divisão através de fármacos citotóxicos, como o 5-fluorouracilo, a capecitabina, o irinotecano, a oxaliplatina e a associação trifluridina/tipiracilo. Por sua vez, a cirurgia visa remover o tumor principal e eventuais lesões metastáticas. Recentemente, o arsenal terapêutico expandiu-se com o desenvolvimento de terapias dirigidas capazes de interferir no normal desenvolvimento das células cancerígenas e na remodelação do microambiente tumoral. É o caso dos fármacos que atuam na via EGFR (*epidermal growth factor receptor*) e vias relacionadas, na via VEGF (*vascular endothelial growth factor*) e dos inibidores dos *checkpoint* imunológicos.

No presente trabalho faz-se uma revisão sobre as diferentes opções terapêuticas disponíveis para o tratamento dos doentes com cancro colorretal, assim como uma apresentação da referida patologia e das perspetivas futuras relativamente à sua abordagem, com o intuito de melhorar os cuidados prestados e a resposta à terapêutica.

Palavras-chave: Cancro Colorretal; Farmacoterapia; Fisiopatologia; Quimioterapia; Terapia Dirigida

Abstract

Colorectal cancer is among the most lethal and prevalent diseases worldwide, being the second most frequent cause of cancer death. It is a complex and heterogeneous disease, as it involves the accumulation of histological, morphological, genetic and epigenetic alterations, as well as genetic and environmental risk factors. These aspects contribute to the evolution of the normal colorectal epithelium to adenoma and, ultimately, to carcinoma. The development of colorectal cancer involves the pathways of chromosomal instability, microsatellite instability and epigenetic instability. The characterization of the molecular profile of the tumor is done with the aim of guiding the prognosis and treatment of patients, and also constitutes an important aspect in the approach to this type of cancer.

Over the years, several approaches have been used in the treatment of colorectal cancer, including chemotherapy, surgery, radiotherapy and targeted therapies. The choice of the most appropriate therapeutic option should be based on the characteristics of the tumor and the characteristics of each patient. Chemotherapy aims to induce cell death and/or prevent their growth and division through cytotoxic drugs, such as 5-fluorouracil, capecitabine, irinotecan, oxaliplatin and trifluridine/tipiracilo association. In turn, surgery aims to remove the main tumor and any metastatic lesions. Recently, the therapeutic arsenal has expanded with the development of targeted therapies capable of interfering with the normal development of cancer cells and the remodeling of the tumor microenvironment. This is the case with drugs that act on the EGFR (epidermal growth factor) and related pathways, the VEGF (vascular endothelial growth factor) pathway and immune checkpoint inhibitors.

In the present work, a review is made of the different therapeutic options available for the treatment of patients with colorectal cancer, as well as a presentation of the referred pathology and future perspectives regarding its approach, with the aim of improving the care provided and the response to therapy.

Keywords: Colorectal Cancer; Pharmacotherapy; Pathophysiology; Chemotherapy; Targeted Therapy

Agradecimentos

Findo este percurso de 5 anos na Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, desejo exprimir os meus agradecimentos a todas as pessoas abaixo mencionadas que, de uma forma ou de outra, me acompanharam e apoiaram em todos os momentos.

À Professora Doutora Ana Paula Francisco pela disponibilidade e atenção que demonstrou desde o primeiro dia, indispensáveis à realização desta monografia.

Aos meus pais, por me apoiarem incondicionalmente em todos os momentos, por acreditarem sempre em mim e darem força quando mais precisei. Ao meu irmão, por me encorajar a fazer mais e melhor.

Ao meu padrinho de curso, Henrique, por todos os conselhos, motivação e momentos de descontração. Sem ti teria sido tudo mais difícil.

Às minhas companheiras de curso e amigas, por terem tornado este caminho mais leve. A ti, Mariana, por seres a minha alma gémea e confortares mesmo no silêncio. A ti Diana, pela tua amizade e por todos os conselhos e momentos especiais ao longo destes 5 anos. Que seja sempre assim.

Às minhas amigas mais antigas, por continuarem presentes, mesmo que a vida nos tenha levado por caminhos diferentes.

Um agradecimento especial a ti, Henrique, por todo o amor e paciência nos últimos 4 anos. Obrigada por acreditares mais em mim do que eu própria e por seres o meu exemplo de coragem e perseverança.

A toda a equipa da Farmácia Oceano, por me terem feito sentir em casa e ensinarem tanto em tão pouco tempo. Que privilégio poder crescer enquanto profissional ao vosso lado.

Abreviaturas

5'-DFCR – *5'-deoxy-5-fluorocytidine*

5'-DFUR – *5'-deoxy-5-fluorouridine*

5-FU – *5-fluorouracilo*

ABCB1, C1, C2, G2 – *ATP-binding cassette B1, C1, C2, G2*

ADCC – *antibody-dependent cellular cytotoxicity*

ADN – *ácido desoxirribonucleico*

AICR – *American Institute of Cancer Research*

AKT – *protein kinase B*

APC – *Adenomatous polyposis coli*

ARN – *ácido ribonucleico*

ARNnp – *ácido ribonucleico nucleolar pequeno*

ARNr – *ácido ribonucleico ribossomal*

ARNt – *ácido ribonucleico de transferência*

BRAF – *v-RAF murine sarcoma viral oncogene homolog B*

CAPEOX – *capecitabine, oxaliplatin*

CD16 – *cluster of differentiation 16*

CTLA-4 – *cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4*

dATP – *deoxyadenosine triphosphate*

DHFU – *dihydrofluorouracil*

DPD – *dihydropyrimidine dehydrogenase*

dTMP/ dTTP – *deoxythymidine monophosphate and deoxythymidine triphosphate*

dUMP/ dUTP – *deoxyuridine monophosphate and deoxyuridine triphosphate*

EGF – *epidermal growth factor*

EGFR – *epidermal growth factor receptor*

EMT – *epithelial-mesenchymal transition*

ErbB – *erythroblastic leukemia viral oncogene homolog*

ERK – *extracellular signal-regulated kinase*

ESMO – *European Society for Medical Oncology*

FAK – *focal adhesion kinase*

FBAL – *α -fluoro- β -alanine*

FdUM(D, T)P – *fluorodeoxyuridine mono, di or tri phosphate*

FOLFIRI – *5-fluorouracil, leucovorin, irinotecan*

FOLFIRINOX – *oxaliplatina, leucovorina, irinotecano, 5-fluorouracil*

FOLFOX – *5-fluorouracil, leucovorin, oxaliplatin*

FUDR – *fluorodeoxyuridine*

FUM(D, T)P – *fluorouridine mono, di or tri phosphate*

FUPA – *α -fluoro- β -ureido-propionic acid*

FUR – *fluorouridine*

HER-2 – *human Epidermal Growth Factor Receptor 2*

IGF1 – *insulin-like growth factor 1*

IL-6 – *interleukin-6*

IROX – *oxaliplatina, irinotecan*

JAK – *janus kinase*

KRAS – *kirsten rat sarcoma viral oncogene homologue*

LNR – *lymph nodeRatio*

MAPK – *mitogen-activated protein kinase*

MEK – *mitogen-activated protein kinase*

MHC – *major histocompatibility complex*

MLH1 – *mutL homolog 1*

MMR – *mismatch repair*

MSH2 – *mutS homolog 2*

MSH6 – *mutS homolog 6*

mTOR – *mechanistic target of rapamycin*

NER – *nucleotide excision repair*

NF- κ B – *nuclear factor- κ B*

NK – *natural killer*

NPC – *7-ethyl-10-(4-amino-1-piperidino] carbonyloxycamptothecin*

Nrf2 – *nuclear factor erythroid 2- related factor 2*

OATP – *organic anion transporting polypeptides*

OCT – *organic cation transporter*

OPRT – *orotate phosphoribosyltransferase*

PD1 – *programmed cell death protein 1*

PIGF – *placental growth factor*

PIK3CA – *phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha*

PMS2 – *postmeiotic segregation increased 2*

PRPP – *phosphoribosyl pyrophosphate*

RAF – *rapidly accelerated fibrosarcoma*

RAS – *rat sarcoma viral oncogene homolog*

RR – *ribonucleotide reductase*

SN-38 – *7-ethyl-10-hydroxycamptothecin*

SN-38G – *SN-38 glucuronide*

STAT – *signal transducer and activator of transcription*

TGFB β 2 – *transforming growth factor beta receptor 2*

TGF- α – *transforming growth factor-alpha*

TK – *thymidine kinase*

TP – *thymidine phosphorylase*

TP53 – *tumor protein p53*

TS – *thymidylate synthase*

UGT – *uridine diphosphate glucuronosyltransferase*

UK – *uridine kinase*

UP – *uridine phosphorylase*

VEGF – *vascular endothelial growth factor*

VEGFR – *vascular endothelial growth factor receptor*

WCRF – *world cancer research fund*

WNT – *wingless + integrated*

Índice:

Resumo	IV
Abstract	V
Agradecimentos	VI
Abreviaturas	VII
Índice de Figuras:.....	XII
1 Introdução	1
1.1 Câncer Colorretal e sua Fisiopatologia.....	1
1.2 Epidemiologia	4
1.3 Etiologia e Fatores de Risco	5
1.4 Manifestações Clínicas	7
1.5 Estadiamento Clínico	8
1.6 Perfilamento Molecular	10
2 Objetivos	12
3 Materiais e Métodos.....	13
4 Terapêutica do Câncer Colorretal	14
4.1 Quimioterapia	14
4.1.1 5- Fluorouracilo	15
4.1.2 Capecitabina.....	22
4.1.3 Irinotecano	23
4.1.4 Oxaliplatina.....	27
4.1.5 Trifluridina e Tipiracilo	30
4.2 Cirurgia	31
4.3 Radioterapia	32
4.4 Terapêutica Dirigida	32
4.4.1 Via EGFR e Vias Relacionadas	33
4.4.2 Via VEGF/VEGFR	36
4.4.3 Inibidores dos <i>Checkpoint</i> Imunológicos.....	39
5 Perspectivas Futuras	41
6 Conclusões	43
Referências Bibliográficas	45

Índice de Figuras:

Figura 1 Estádios e evolução do cancro colorretal	1
Figura 2 Taxa de incidência do cancro colorretal nos homens	5
Figura 3 Significado do T, N, M.....	8
Figura 4 Estadiamento dos doentes.....	9
Figura 5 Estrutura química do 5- FU	16
Figura 6 Metabolismo do 5- FU.....	17
Figura 7 Mecanismo através do qual o 5-FU inibe a enzima timidilato sintetase	19
Figura 8 Estrutura química da leucovorina	19
Figura 9 Estrutura química da capecitabina	22
Figura 10 Metabolismo da capecitabina	23
Figura 11 Estrutura química do irinotecano.....	24
Figura 12 Complexo ternário irinotecano - ADN com quebras - topoisomerase I.....	25
Figura 13 Metabolismo e excreção do irinotecano	26
Figura 14 Estrutura química do SN-38	26
Figura 15 Estrutura química da oxaliplatina (a) e da cisplatina (b)	28
Figura 16 Metabolitos da oxaliplatina	29
Figura 17 Via EGFR	34
Figura 18 Estrutura química do encorafenib.....	36
Figura 19 Estrutura química do regorafenib	38
Figura 20 Inibidores dos <i>checkpoint</i> imunológicos	40
Figura 21 Estrutura química do LGK974	42

1 Introdução

1.1 Cancro Colorretal e sua Fisiopatologia

O cancro colorretal é uma doença heterogénea do cólon e/ou do reto, cujo desenvolvimento envolve alterações histológicas, morfológicas, genéticas e epigenéticas que se acumulam ao longo do tempo. Assim, compreender os mecanismos subjacentes à iniciação e manutenção do tumor maligno representa uma mais-valia no desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas e de diagnóstico que permitam melhorar a qualidade de vida e o tempo de sobrevida dos doentes (1–4).

A evolução do cancro colorretal (figura 1) pode ser dividida em quatro fases principais: iniciação, promoção, progressão e metastização. A iniciação diz respeito a alterações genéticas irreversíveis que ocorrem nas células do cólon e do reto. Na promoção, as células afetadas proliferam descontroladamente. De seguida, durante a progressão, as células benignas tornam-se malignas e adquirem a capacidade de invadir outros órgãos e tecidos (metastização). As metástases mais comuns são as hepáticas, seguidas das pulmonares e ósseas. Apesar de não se encontrar concretamente estabelecido o tempo de duração de cada fase, são necessárias décadas para que um adenoma evolua até um carcinoma. Todavia, dependendo da via envolvida e da condição do doente, este processo pode ocorrer mais rapidamente. É o caso dos tumores com elevada instabilidade microsatélite que apresentam tempos de progressão menores (1-3 anos).

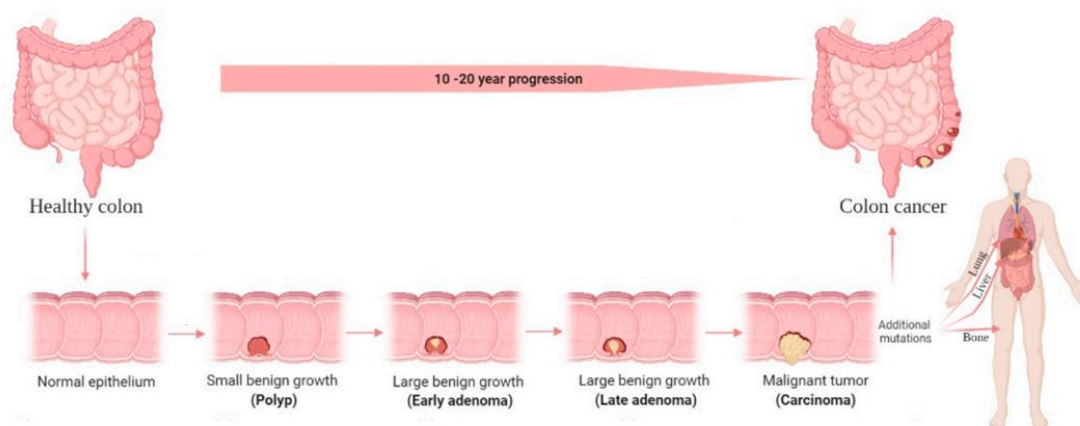


Figura 1 Estádios e evolução do cancro colorretal. Adaptado de (5).

A carcinogénese colorretal é um processo complexo e heterogéneo do ponto de vista genético. Dentro deste contexto, a perda de estabilidade genética e epigenética promove a ocorrência de mutações somáticas e/ou germinativas favoráveis à evolução do epitélio colorretal: de normal a adenoma, e de adenoma a carcinoma. Tais mutações podem, não só, ativar oncogenes, como também desativar genes supressores de tumores, que promovem a progressão celular descontrolada e inibem a apoptose (6). Desta forma, é possível que células mutadas progridam e originem adenomas e, posteriormente, carcinomas. De notar que os pólipos colorretais, ou seja, lesões que se projetam da superfície da mucosa para o lúmen do intestino grosso, desempenham um papel relevante nesta progressão: são considerados os precursores da maioria dos casos de cancro colorretal. Os dois subtipos principais são os pólipos adenomatosos/adenomas e os pólipos serreados (7). Os adenomas são os mais prevalentes, contudo, nem todos se tornam malignos: o tamanho, o grau de displasia e a histologia do adenoma influenciam a probabilidade de progressão para cancro. Esta será tanto maior quanto maior for o tamanho e o grau de displasia, associados a histologia do tipo viloso ou tubuloviloso (8,9).

Atualmente, encontram-se descritas diferentes vias carcinogénicas, designadamente a via da instabilidade cromossómica, a via da instabilidade microssatélite e a via da instabilidade epigenética (*CpG island methylator phenotype*). Do ponto de vista molecular, os pólipos adenomatosos encontram-se associados, principalmente, à via da instabilidade cromossómica e os pólipos serreados à via da instabilidade epigenética. A via da instabilidade microssatélite pode estar envolvida no desenvolvimento de ambos os tipos de pólipos (10). Segue-se a caracterização de cada uma das vias carcinogénicas.

A via da instabilidade cromossómica é a mais frequente, estando envolvida em cerca de 80% dos casos de cancro colorretal (6). Caracteriza-se por alterações cromossómicas, bem como por mutações em genes supressores de tumores e oncogenes. No que concerne às alterações cromossómicas, verifica-se um desequilíbrio no número e estrutura dos cromossomas, que conduzem à aneuploidia e perda de heterozigosidade. Além disso, podem ocorrer defeitos na segregação dos cromossomas, na senescência celular, e na resposta a danos no ADN. Relativamente às mutações em genes supressores de tumor e oncogenes, nomeadamente *APC*, *KRAS*,

PIK3CA e *TP53*, encontra-se descrito que são responsáveis pela ativação de vias que promovem a iniciação e progressão do cancro colorretal. Neste sentido, a perda de atividade do gene supressor de tumor *APC* promove a translocação da beta-catenina para o núcleo e a ativação da via de sinalização Wnt. Considerando que esta via regula a proliferação celular do epitélio intestinal, a sua ativação resulta na transcrição de genes que promovem a carcinogénese (11). Em aproximadamente 40% dos cancros, a inativação do gene *APC* é seguida de mutações que ativam o oncogene *KRAS*, promovendo, assim, a progressão do ciclo celular. Paralelamente, podem-se verificar mutações que ativam o *PIK3CA*. Este oncogene favorece a proliferação e sobrevivência celulares, uma vez que inativa proteínas que promovem a apoptose. Por fim, a inativação do *TP53* também interfere no curso do ciclo celular. Este gene supressor de tumor codifica a proteína *p53*, o principal *checkpoint* do ciclo celular. É responsável por regular a transcrição de genes que, por sua vez, regulam processos como a reparação do ADN, paragem do ciclo celular, respostas celulares ao *stress* oxidativo e a morte celular. Notavelmente, encontram-se mutações na *p53* em 43% dos casos de cancro colorretal, o que favorece a progressão adenoma-carcinoma e confere resistência à quimioterapia; por outro lado, representa novas oportunidades para a imunoterapia (12,13).

A segunda via supramencionada, a via da instabilidade microssatélite, ocorre em, aproximadamente, 15% dos casos de cancro colorretal. Microssatélites são pequenas sequências de ADN (1 a 6 pares de bases) que se encontram em todo o genoma (representam cerca de 3% do genoma humano). Dada a sua natureza (sequências que se vão repetindo) e o facto do sistema de reparação do ADN se encontrar defeituoso, a capacidade de reparação dos microssatélites em tumores com instabilidade microssatélite é diminuída. Assim, células de tumores caracterizados pela instabilidade microssatélite não detetam nem reparam os erros de emparelhamento das bases do ADN ao nível dos microssatélites. Por esse motivo, a estabilidade genómica fica comprometida e acumulam-se mutações que originam um fenótipo hipermutado. Tais mutações ocorrem precisamente nos genes que codificam proteínas que regulam a proliferação celular, a apoptose e a reparação do ADN. Especificamente, é o caso do gene *TGFBR2*: codifica uma proteína que previne a proliferação do epitélio intestinal e encontra-se mutado em 90% dos cancros que se desenvolvem pela via da instabilidade microssatélite (14). Neste contexto, doentes com Síndrome de *Lynch*

apresentam maior predisposição para desenvolver cancro colorretal, uma vez que apresentam alterações nos genes responsáveis pela reparação do emparelhamento incorreto das bases do ADN, incluindo *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* e *PMS2* (15).

A terceira e última via referida, a via da instabilidade epigenética, caracteriza-se pela hipermetilação das ilhas CpG (16). As ilhas CpG são pequenas sequências do genoma que se encontram nas regiões adjacentes à região promotora de diversos genes e cuja frequência de dinucleótidos de CpG é superior a outras regiões do ADN. Estas zonas podem encontrar-se hipermetiladas, através da transferência de um grupo metilo (CH₃) para o nucleótido citosina, por ação da enzima ADN metiltransferase. Consequentemente, pode ocorrer o silenciamento dos genes supressores de tumor, o que favorece o início e progressão do cancro colorretal. Em muitos casos, as modificações epigenéticas ocorrem simultaneamente com modificações genéticas, por isso tumores caracterizados pela hipermetilação das ilhas CpG também apresentam mutações no gene *BRAF* e instabilidade microssatélite (17).

1.2 Epidemiologia

O cancro colorretal representa um problema de saúde significativo, sendo o terceiro cancro mais frequente a nível mundial e a segunda causa mais frequente de morte por cancro (3). Segundo a Agência Internacional para a Pesquisa sobre Cancro, foram diagnosticados, aproximadamente, 2 milhões de casos de cancro colorretal e ocorreram, sensivelmente, 1 milhão de mortes durante o ano de 2020. Desta forma, contabiliza cerca de 10% de todos os novos casos e mortes por cancro, a nível mundial (18). Em Portugal, durante o ano de 2020, foram registados 10501 novos casos de cancro colorretal e 4275 mortes (19).

Relativamente à taxa de incidência, registam-se variações regionais (20). Neste contexto, a Europa, a América do Norte e a Austrália apresentam as maiores taxas de incidência. Pelo contrário, África e o centro e sul asiáticos apresentam taxas de incidência menores (figura 2) (21). Esta distribuição é associada à exposição a diferentes ambientes, estilos de vida e dieta, que influenciam o desenvolvimento do cancro colorretal. Além da suscetibilidade genética, da presença de doenças inflamatórias intestinais e da idade, sabe-se que a obesidade, o consumo de álcool e tabaco, a diabetes, o consumo de carne processada e o sedentarismo representam fatores de risco tendencialmente associados aos países desenvolvidos (22,23). A nível

mundial, estima-se que a taxa de incidência continue a aumentar. Contudo, tal não se traduz num aumento do número de mortes na mesma proporção. É verdade que se prevê um aumento da mortalidade associada ao aumento do número de casos de cancro colorretal nos países menos desenvolvidos. Todavia, no caso dos países desenvolvidos, a deteção precoce e melhoria dos tratamentos disponíveis permite aumentar a taxa de sobrevivência. Relativamente à taxa de incidência, esta é superior no género masculino: os homens são mais suscetíveis aos fatores ambientais, considera-se que estão mais expostos a fatores de risco como gordura visceral, álcool, tabaco e dieta inadequada, e não beneficiam do efeito protetor dos estrogénios contra o cancro colorretal (23).

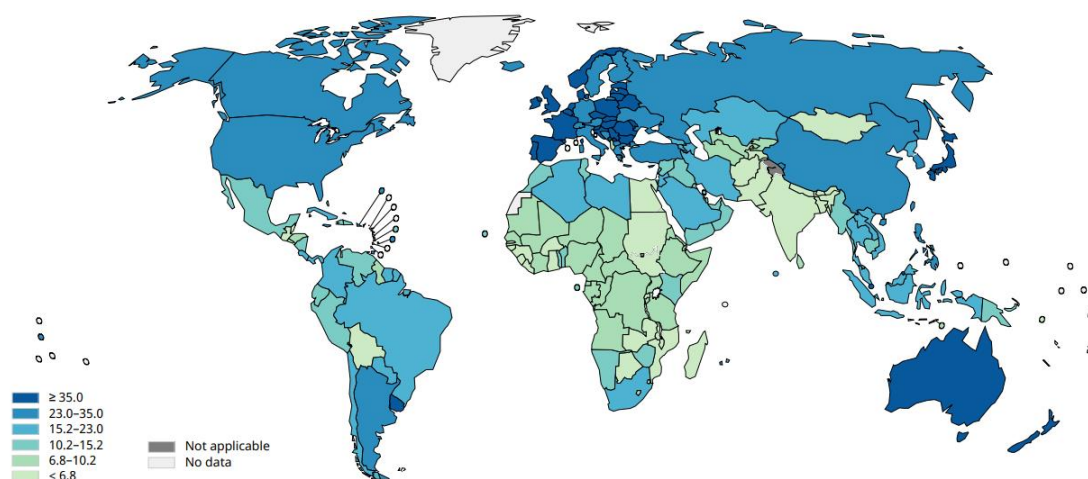


Figura 2 Taxa de incidência do cancro colorretal nos homens. Retirado de (18).

1.3 Etiologia e Fatores de Risco

O aparecimento do cancro colorretal depende de diferentes fatores que se podem classificar em modificáveis ou não modificáveis. Dentro dos fatores modificáveis incluem-se hábitos e estilos de vida, e dentro dos fatores não modificáveis incluem-se histórico individual e familiar de pólipos adenomatosos ou casos de cancro colorretal, polipose adenomatosa familiar, síndrome de *Lynch*, doenças inflamatórias do intestino, género, idade e raça. Cada um deles será detalhado em seguida.

Mousavi *et. al.*, fizeram um estudo acerca da incidência de cancro colorretal em imigrantes na Suécia, no qual verificaram que os imigrantes com menos de 30 anos atingiram o nível de risco de desenvolver cancro colorretal igual ao dos naturais do país, independentemente do seu país de origem. Desta forma, demonstraram não só a

influência dos fatores ambientais, hábitos e estilo de vida no desenvolvimento de cancro colorretal, como também qual é a faixa etária mais crítica neste contexto (24). Concretamente, segundo o *World Cancer Research Fund* (WCRF) e o *American Institute of Cancer Research* (AICR), a obesidade, a dieta pobre (que inclui elevado consumo de carnes vermelhas e processadas, e baixo consumo de fibra, frutas, vegetais e cálcio), a escassa atividade física, o álcool e o tabaco aumentam o risco de desenvolvimento de cancro colorretal (23). Foi demonstrado que o tecido adiposo visceral secreta mais adipocinas pró-inflamatórias do que adiponectina (hormona sensibilizadora da insulina). Assim, a obesidade (principalmente a presença de gordura abdominal) e a carência de atividade física promovem a inflamação crónica e a resistência à insulina que, por sua vez, aumenta os níveis de IGF1 (*insulin-like growth factor 1*). Esta sequência promove a carcinogénese colorretal, através do aumento da proliferação celular e supressão da apoptose, pela sinalização da via insulina-IGF1. Relativamente à dieta, a confeção de carne vermelha processada a temperaturas elevadas encontra-se associada à formação de substâncias carcinogénicas. Pelo contrário, a fibra reduz a exposição do epitélio intestinal a substâncias cancerígenas e a probabilidade de desenvolvimento de cancro associado à bactéria *Fusobacterium nucleatum*, visto que esta bactéria contribui para a formação do microambiente tumoral imunossupressor. O álcool também é um fator de risco, uma vez que os seus metabolitos, como o acetaldeído, afetam a estabilidade do ADN, formando aductos. Além disso, inibem a atividade de enzimas essenciais à metilação, que desregulam o padrão epigenético e interferem com o metabolismo do folato, essencial à síntese e metilação do ADN (25). Por fim, o tabaco também aumenta o risco de desenvolver cancro colorretal, principalmente através da via da instabilidade microssatélite ou da instabilidade epigenética (26).

Dentro dos fatores não modificáveis anteriormente apresentados, a síndrome de *Lynch* é a mais frequente, contabilizando cerca de 3% de todos os casos de cancro colorretal. Esta síndrome, também conhecida por cancro colorretal hereditário sem polipose, resulta de mutações germinativas nos genes que reparam os erros de emparelhamento das bases de ADN. Esta situação aumenta em mais de 60% o risco de desenvolver cancro colorretal (27). A polipose adenomatosa familiar é a segunda mais comum, sendo responsável por menos de 1% de todos os casos de cancro colorretal. Resulta de mutações no gene supressor de tumor *APC* e caracteriza-se pelo desenvolvimento de

inúmeros adenomas, principalmente no cólon distal, com início na adolescência. Com o intuito de avaliar o risco dos indivíduos com história familiar de cancro colorretal, Butterworth *et. al.* desenvolveram uma meta-análise, na qual demonstraram que o risco aumenta 2,24 vezes, caso, pelo menos, um familiar direto (pais, irmãos ou filhos) tenha desenvolvido cancro colorretal. Se forem dois ou mais familiares, o risco será 3,97 vezes superior (28). Além disso, a presença de um histórico individual ou familiar de pólipos, nomeadamente pólipos adenomatosos de tamanho superior a 1 cm, pólipos do tipo vilosos ou tubulovilosos do ponto de vista histológico e pólipos cujo grau de displasia é elevado, aumenta o risco de desenvolvimento de cancro colorretal. Esta associação torna-se ainda mais evidente quanto mais precoce for o diagnóstico (29). Paralelamente, doenças inflamatórias do intestino, nomeadamente a doença de *Crohn* e a colite ulcerosa, também têm impacto no desenvolvimento de cancro colorretal. A inflamação aumenta o risco de progressão maligna através do aumento da produção de espécies reativas de oxigénio, e consequente *stress* oxidativo e peroxidação lipídica, associados à diminuição da capacidade dos antioxidantes endógenos (30,31).

1.4 Manifestações Clínicas

Os sinais e sintomas do cancro colorretal não são exclusivos e, por esse motivo, não indicam necessariamente a presença de cancro colorretal. Contudo, representam um complemento útil aos exames de diagnóstico.

Um dos sintomas mais frequentes é a perda de sangue nas fezes. Considerando a população em geral, 1 em cada 700 casos de sangue nas fezes coincide com cancro colorretal. Também podem ocorrer alterações intestinais, como alterações na frequência de defecação e na consistência das fezes (obstipação e diarreia), e dificuldade de defecação. Além disso, pode ser observada perda de peso, fraqueza, vômitos e dor ou desconforto abdominal (meteorismo e cólicas). Relativamente aos sinais, em 36% dos casos de cancro retal, considerando doentes com mais de 34 anos e que apresentam sangue nas fezes, é possível detetar uma massa palpável no exame retal. Em 11-57% dos casos de cancro, os doentes podem ter deficiência em ferro, devido a hemorragia no trato gastrointestinal. Esta situação interfere no correto funcionamento das células do sistema imunitário e também compromete a sua formação, uma vez que o ferro é necessário à hematopoiese (32,33).

1.5 Estadiamento Clínico

Com o intuito de determinar o prognóstico dos doentes e tomar uma decisão acertada relativamente ao tratamento, é fundamental efetuar o estadiamento clínico. Para esse efeito, é utilizado o sistema de classificação TNM (*tumor, node, metastasis*). O tamanho do tumor e invasão dos tecidos adjacentes (T, *tumor*), o envolvimento dos gânglios linfáticos (N, *node*) e a presença de metástases ou disseminação do cancro para outro órgão (M, *metastasis*) são os fatores envolvidos na classificação do cancro em determinado estadio. Na figura 3 é apresentado o significado do T, N, M, do sistema de classificação TNM e, na figura 4, são caracterizados os estadios nos quais os doentes se podem inserir, segundo o *American Joint Committee on Cancer (AJCC)* (34). A revisão mais recente do sistema de classificação TNM (oitava edição, 2017) refere ainda fatores complementares, nomeadamente o grau do tumor, avaliação das margens, invasão linfovascular e perineural, instabilidade microssatélite e mutações nos genes *KRAS*, *NRAS* e *BRAF*.

T	Primary Tumor	N	Regional Lymph Nodes
TX	Primary tumor cannot be assessed	NX	Regional lymph nodes cannot be assessed
T0	No evidence of primary tumor	N0	No regional lymph node metastasis
Tis	Carcinoma <i>in situ</i> : intramucosal carcinoma (involvement of lamina propria with no extension through muscularis mucosae)	N1	One to three regional lymph nodes are positive (tumor in lymph nodes measuring ≥ 0.2 mm), or any number of tumor deposits are present and all identifiable lymph nodes are negative
T1	Tumor invades the submucosa (through the muscularis mucosa but not into the muscularis propria)	N1a	One regional lymph node is positive
T2	Tumor invades the muscularis propria	N1b	Two or three regional lymph nodes are positive
T3	Tumor invades through the muscularis propria into pericolorectal tissues	N1c	No regional lymph nodes are positive, but there are tumor deposits in the subserosa, mesentery, or nonperitonealized pericolic, or perirectal/mesorectal tissues
T4	Tumor invades* the visceral peritoneum or invades or adheres** to adjacent organ or structure	N2	Four or more regional lymph nodes are positive
T4a	Tumor invades* through the visceral peritoneum (including gross perforation of the bowel through tumor and continuous invasion of tumor through areas of inflammation to the surface of the visceral peritoneum)	N2a	Four to six regional lymph nodes are positive
T4b	Tumor directly invades* or adheres** to adjacent organs or structures	N2b	Seven or more regional lymph nodes are positive
		M	Distant Metastasis
		M0	No distant metastasis by imaging, etc.; no evidence of tumor in distant sites or organs. (This category is not assigned by pathologists)
		M1	Metastasis to one or more distant sites or organs or peritoneal metastasis is identified
		M1a	Metastasis to one site or organ is identified without peritoneal metastasis
		M1b	Metastasis to two or more sites or organs is identified without peritoneal metastasis
		M1c	Metastasis to the peritoneal surface is identified alone or with other site or organ metastases

Figura 3 Significado do T, N, M. Retirado de (8).

	T	N	M
Stage 0	Tis	N0	M0
Stage I	T1, T2	N0	M0
Stage IIA	T3	N0	M0
Stage IIB	T4a	N0	M0
Stage IIC	T4b	N0	M0
Stage IIIA	T1-T2	N1/N1c	M0
	T1	N2a	M0
Stage IIIB	T3-T4a	N1/N1c	M0
	T2-T3	N2a	M0
	T1-T2	N2b	M0
Stage IIIC	T4a	N2a	M0
	T3-T4a	N2b	M0
	T4b	N1-N2	M0
Stage IVA	Any T	Any N	M1a
Stage IVB	Any T	Any N	M1b
Stage IVC	Any T	Any N	M1c

Figura 4 Estadiamento dos doentes. Retirado de (8).

O estadio 0 (*carcinoma in situ*) diz respeito a tumores malignos confinados à mucosa e que não invadem a submucosa, por isso, o principal objetivo do tratamento é remover o tumor local através da cirurgia, não sendo necessário tratamento adicional. No estadio I, o tumor invade a submucosa ou a *muscularis propria*. Assim, o tratamento inclui ressecção cirúrgica mais alargada do tecido intestinal. Dentro do estadio II, o tumor pode invadir a *muscularis propria* até aos tecidos *peri* colorretais, invadir o peritoneu visceral, ou invadir diretamente órgãos ou estruturas adjacentes. Por este motivo, o tratamento passa por remover o tumor e os órgãos adjacentes que foram invadidos, através de cirurgia. Além disso, com o intuito de diminuir o risco de recidiva do tumor, também se pode optar pela quimioterapia e radioterapia. Quando o tumor já tem metástases nos gânglios linfáticos regionais, é classificado no estadio III e o plano de tratamento é semelhante ao do estadio II. No estadio IV, o tumor encontra-se disseminado, prosuindo metástases peritoneais, ou em órgãos distantes. Assim, o tratamento tem como finalidade remover o tumor através de cirurgia, e atingir as células tumorais de forma sistémica, através de quimioterapia em combinação com terapias dirigidas (8).

De notar que, para além do sistema de classificação TNM supramencionado, existem características patológicas com impacto no prognóstico e na escolha da terapêutica dos doentes. Em particular, tem sido discutido o papel da taxa de gânglios linfáticos (LNR), dos depósitos tumorais e da extensão extranodal do tumor. A taxa de gânglios linfáticos (LNR) diz respeito à relação entre os gânglios linfáticos metastizados,

relativamente à totalidade de gânglios linfáticos examinados. É utilizada como indicador de prognóstico para diversos cancros, como o da mama, esofágico, gástrico, da orofaringe e do pulmão de células não pequenas, e tem sido demonstrado o seu potencial para o cancro colorretal (35). Os depósitos tumorais anteriormente listados referem-se a nódulos discretos de células tumorais na gordura pericólica e periretal, dentro da área de drenagem linfática do tumor, mas sem tecido linfonodal associado. Apesar de já serem descritos no sistema de classificação TNM, a sua avaliação não deve ser limitada aos casos de ausência de gânglios linfáticos metastizados (36). São relevantes ao nível do prognóstico e da terapêutica, e representam um risco adicional para os doentes. Relativamente à extensão extranodal do tumor, Verinese *et. al*, demonstraram que se relaciona significativamente com estadio e grau mais elevados da doença e risco superior de recidiva e morte (37). Além disso, encontra-se presente em cerca de 40% dos doentes em estadio III, relacionando-se com a agressividade do tumor. Assim sendo, a inclusão da extensão extranodal do tumor nos atuais sistemas de classificação é uma mais valia e deve ser considerada (38).

Infelizmente, mais de 50% dos doentes são diagnosticados num estadio avançado da doença, desenvolvem metástases e apresentam alta taxa de mortalidade (39). No estadio IV, a taxa de mortalidade atinge os 89%, no estadio III varia entre 11 e 47%, e no estadio I estima-se que seja 8 a 13%. Estes valores corroboram a importância da deteção e tratamento precoces do tumor (40).

1.6 Perfilamento Molecular

O cancro colorretal é uma doença heterogénea e apresenta diversos perfis moleculares, assim como alterações genéticas e epigenéticas. O estadiamento clínico efetuado através do sistema de classificação TNM continua a ser relevante ao nível do prognóstico e tomada de decisões terapêuticas. Contudo, dentro do mesmo estadio, os doentes apresentam variabilidade entre si, atribuída à heterogeneidade molecular. Por este motivo, o perfilamento molecular assume um papel relevante, no que concerne à patogénese do cancro colorretal e ao prognóstico e tratamento (41). Dentro deste contexto, os biomarcadores surgem como entidades biológicas utilizadas para medir a presença ou progressão cancerígena, e os efeitos do tratamento.

Como referido anteriormente, na maioria dos casos, o desenvolvimento do cancro colorretal ocorre pela via da instabilidade cromossómica. Todavia, cerca de 15%

ocorre pela via da instabilidade microssatélite. Esta via resulta de mutações num dos genes do sistema de reparação de erros de emparelhamento do ADN, nomeadamente *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* e *PMS2*. As mutações podem ser hereditárias (geralmente associadas à Síndrome de *Lynch*), ou esporádicas (associadas à inativação epigenética do gene *MLH1* e hipermetilação das ilhas CpG). No último caso, as mutações no gene *BRAF* são mais frequentes. Este gene codifica uma proteína relevante ao nível da sinalização MAPK, que consiste na cascata de sinalização Ras/Raf/MEK/ERK, ativada pelo EGF. Quando o gene *BRAF* se encontra mutado, a cascata de sinalização é continuamente ativada, o que explica a ineficácia da terapia anti-EGFR. Adicionalmente, a mutação v600E no *BRAF* possui um valor de prognóstico negativo e, nestes casos, a terapia dirigida combinada tem demonstrado maior eficácia (42,43).

Por outro lado, na via da instabilidade cromossómica são frequentes as mutações no oncogene *KRAS*. Como mencionado anteriormente, a via de sinalização MAPK é ativada através do recetor EGF. Ao inibi-lo através de terapias anti-EGFR, a cascata de sinalização Ras/Raf/MEK/ERK é suprimida e a progressão adenoma-carcinoma é perturbada. Contudo, nos doentes que apresentam mutações no oncogene *KRAS*, a ativação constitutiva promove o crescimento celular e metastização. Por este motivo, é pouco provável que estes doentes beneficiem de terapêutica anti-EGFR (44).

Além dos genes *BRAF* e *KRAS*, utilizados atualmente como biomarcadores na prática clínica, têm sido identificadas outras alterações genómicas relativas ao perfil molecular dos doentes. Dentro deste contexto, a sobre-expressão/amplificação e mutação do HER-2 é a mais comum. O HER-2 é considerado um biomarcador negativo de resposta à terapêutica anti-EGFR, o que significa que a sua sobre-expressão ou mutação implica resistência à terapêutica anti-EGFR. Neste sentido, compreende-se a mais-valia de integrar agentes anti-HER-2 nos algoritmos terapêuticos (45).

Por fim, é importante notar que as orientações das *guidelines* internacionais, como é o caso das *guidelines* da ESMO (*European Society for Medical Oncology*), espelham a relevância do perfilamento molecular. É recomendado que a instabilidade microssatélite e a deficiência de reparação dos erros de emparelhamento sejam avaliadas em todos os doentes e, naqueles que apresentam metástases, também deve ser avaliada a presença de mutações nos genes *KRAS* e *BRAF*.

2 Objetivos

A presente monografia tem como principal objetivo desenvolver as diversas abordagens farmacológicas utilizadas no cancro colorretal, através da revisão da literatura científica de forma crítica, reflexiva e ponderada.

Em primeiro lugar, é apresentado o cancro colorretal e diferentes aspetos subjacentes a esta patologia que justificam a pertinência do seu estudo. Segue-se a discussão das múltiplas opções terapêuticas disponíveis, com foco no modo como irão atuar no contexto do tratamento do cancro colorretal. Por fim, são apresentadas considerações relativamente às perspetivas futuras do referido cancro.

3 Materiais e Métodos

Considerando os objetivos desta monografia, foi efetuada uma extensa pesquisa bibliográfica, entre janeiro e junho de 2023. Para tal foram consultadas plataformas de pesquisa científica, como *PubMed*, *ScienceDirect* e *GoogleScholar*, complementadas com capítulos de manuais e *websites* de referência, nomeadamente *Infarmed*, *European Medicines Agency* (EMA), *ClinicalTrials.gov* e *PubChem*. As palavras-chave utilizadas durante a pesquisa eletrónica que permitiu a redação deste trabalho foram, fundamentalmente: *colorectal cancer*, associado a *carcinogenesis*, *pathophysiology*, *epidemiology*, *etiology*, *clinical manifestations*, *molecular profiling*, *chemotherapy*, *surgery*, *radiotherapy* e *target therapy*.

Inicialmente, realizou-se uma análise abrangente, com foco no estado da arte do tema a abordar e, numa segunda fase, direcionou-se a pesquisa a conteúdos mais específicos acerca de cada matéria alvo de análise. Desta forma, foi possível esclarecer primeiro o tema e compreendê-lo de forma geral e, em seguida, explorar as particularidades de cada tópico mais aprofundadamente, sendo a pesquisa dirigida nesse sentido.

4 Terapêutica do Cancro Colorretal

A escolha do tratamento mais adequado envolve uma abordagem multifatorial, baseada, não só nas características do tumor, como também nas características do doente. Assim, o número e localização das metástases, a progressão do cancro e a presença ou ausência de biomarcadores são aspetos cruciais na seleção do tratamento de primeira linha, além das comorbilidades e do prognóstico do doente (46).

As opções terapêuticas incluem cirurgia, quimioterapia, radioterapia e terapias dirigidas. Visto que o ideal é remover completamente o tumor e eventuais metástases, a maioria dos doentes é sujeita a recessão cirúrgica. Adicionalmente, conforme o estadio em que se encontram, também pode ser administrada quimioterapia e/ou radioterapia, antes ou depois da cirurgia, enquanto tratamento neoadjuvante ou adjuvante, respetivamente. De notar que a quimioterapia é ainda passível de ser combinada com terapia dirigida, com o intuito de melhorar o prognóstico dos doentes (5,6).

4.1 Quimioterapia

A quimioterapia diz respeito à utilização de fármacos citotóxicos, ou seja, fármacos com capacidade de induzir a morte de células e/ou de impedir o seu crescimento e divisão. É considerada um tratamento sistémico e não seletivo, uma vez que circula na corrente sanguínea e pode induzir a morte de células saudáveis, principalmente daquelas cuja taxa de divisão é mais elevada e mais próxima da taxa de divisão das células cancerígenas. De forma concisa, a quimioterapia consiste na administração de um único fármaco citotóxico, ou combinação de dois ou mais, realizada por ciclos, com o intuito de diminuir a probabilidade de resistência e os efeitos secundários. Estas associações de fármacos originam os regimes/esquemas de quimioterapia aprovados para o tratamento do cancro colorretal. A administração ocorre maioritariamente por via endovenosa ou oral e o número de doses, a frequência e a duração dos ciclos dependem das necessidades e do estado geral do doente (47,48).

Os esquemas de quimioterapia contemplam diferentes fármacos citotóxicos, pertencentes a diferentes classes, conforme o seu mecanismo de ação. Relativamente ao cancro colorretal, são utilizados o 5-fluorouracilo (5-FU), a capecitabina, o irinotecano, a oxaliplatina e a associação trifluridina/tipiracilo. O 5-fluorouracilo,

(análogo do uracilo), a capecitabina (pró-fármaco do 5-FU) e a trifluridina (análogo da timidina) pertencem à classe dos antimetabolitos. Esta classe interfere com a síntese do ADN e ARN, ou seja, atua ao nível da fase S do ciclo celular, e consequentemente, acaba por impedir a fase mitótica/divisão celular e induzir a morte das células (49,50). O irinotecano é um inibidor da topoisomerase I, uma enzima que desempenha um papel relevante ao nível da transcrição e replicação do ADN. A inibição da topoisomerase I induz lesões na cadeia simples de ADN que bloqueiam a forquilha de replicação e culminam em citotoxicidade (51,52). Por fim, a oxaliplatina pertence à classe de compostos à base de platina, inespecíficos do ciclo. Esta classe interage com o ADN, formando ligações que inibem a sua replicação e função, o que culmina na paragem da proliferação celular. Além disso, liga-se a proteínas nucleares e citoplasmáticas, o que contribui para os seus efeitos citotóxicos e antitumorais (53,54).

As associações dos fármacos descritos são escolhidas de forma a originar esquemas terapêuticos eficazes no tratamento do cancro colorretal. Regra geral, são selecionados fármacos que demonstraram ser eficazes quando utilizados individualmente e cuja toxicidade, quando associados, não é sobreponível. Simultaneamente, deve ser possível estabelecer intervalos de administração adequados ao sucesso do tratamento, assim como utilizar doses eficazes de cada um dos fármacos que constam na associação. Por último, devem ser conhecidos os mecanismos bioquímicos, moleculares e farmacocinéticos de interação entre os fármacos. Deste modo, foram definidos os esquemas de quimioterapia, que incluem FOLFOX (oxaliplatina/leucovorina/5-fluorouracilo), CAPEOX (oxaliplatina/capecitabina), FOLFIRI (irinotecano/leucovorina/5-fluorouracilo), FOLFIRINOX (oxaliplatina/leucovorina/irinotecano/5-fluorouracilo) e IROX (oxaliplatina/irinotecano). De notar que a eficácia do esquema FOLFOX, no tratamento de primeira linha do tratamento do cancro colorretal metastático, demonstrou ser comparável à do esquema FOLFIRI, aumentando o tempo de sobrevivência dos doentes em dois anos (55).

4.1.1 5- Fluorouracilo

O 5-fluorouracilo (5-FU) é um fármaco antineoplásico, sintetizado pela primeira vez em 1957 por Dushinsky *et. al.* (56). Este composto orgânico aromático atua como

antimetabolito, interferindo no metabolismo dos nucleósidos e induzindo, consequentemente, a morte celular. Por esse motivo, encontra-se indicado no tratamento do cancro colorretal, bem como do cancro gástrico, pancreático, do esófago, da mama, e da cabeça e pescoço. É administrado por injeção intravenosa em bólus, perfusão, ou perfusão contínua, concomitantemente com o ácido folínico, podendo ser associados outros agentes citotóxicos ao regime de tratamento.

A estrutura química do 5-fluorouracilo (figura 5) é semelhante à das pirimidinas, uma das duas principais classes de bases heterocíclicas azotadas na estrutura do ADN e do ARN. São estruturalmente semelhantes ao benzeno, mas apresentam dois átomos de azoto: um na posição 1 e outro na posição 3 do anel aromático. No ADN, as pirimidinas são a citosina e a timina, e no ARN são a citosina e o uracilo. A outra classe de bases heterocíclicas azotadas é a das purinas, da qual fazem parte a adenina e a guanina (57). Ora, o 5-FU ($C_4H_3FN_2O_2$) é considerado um análogo das pirimidinas, mais concretamente do uracilo ($C_4H_4N_2O_2$). Tal deve-se ao facto de resultar da substituição do átomo de hidrogénio do uracilo, em C5, por um átomo de flúor (58). O uracilo é a base azotada mais propensa a ser incorporada pelas células tumorais e a escolha do átomo de fluor é justificada pela proximidade do seu peso molecular ao peso molecular do átomo de hidrogénio e pela estabilidade da ligação carbono-flúor (59).

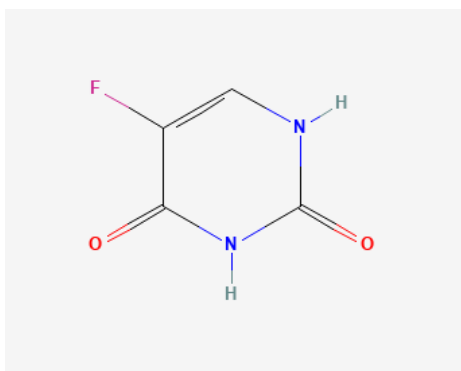


Figura 5 Estrutura química do 5- FU.

O metabolismo do 5-FU seguidamente descrito encontra-se representado na figura 6. O principal mecanismo de ativação do 5-FU é através da sua conversão em fluorouridina monofosfato (FUMP). Tal pode ocorrer através da ação da enzima orotato fosforibosiltransferase (OPRT), cujo cofator é o fosforribosil pirofosfato (PRPP); ou através da via fluorouridina (FUR), na qual intervém a uridina fosforilase

(UP) e, posteriormente, a uridina cinase (UK). Dada a conversão do 5-FU em FUMP, a FUMP é fosforilada a fluorouridina difosfato (FUDP) que, por sua vez, é fosforilada a fluorouridina trifosfato (FUTP) ou convertida em fluorodesoxiuridina difosfato (FdUDP), por ação da enzima ribonucleotídeo redutase (RR). Seguidamente, a FdUDP pode ser fosforilada, originando a fluorodesoxiuridina trifosfato (FdUTP); ou desfosforilada, originando a fluorodesoxiuridina monofosfato (FdUMP). Em alternativa ao mecanismo descrito, o 5-FU pode ser convertido a fluorodesoxiuridina (FUDR) numa reação catalisada pela timidina fosforilase (TP). A FUDR é, em seguida, fosforilada a FdUMP pela timidina cinase (TK). Desta forma, após entrar nas células, o 5-FU é convertido em diferentes metabolitos ativos (FUTP, FdUTP e FdUMP) que fazem parte da via anabólica de metabolização do 5-FU. Estes metabolitos interferem na síntese do ADN/ARN e na ação da enzima timidilato sintetase (TS). Assim sendo, o 5-FU exerce a sua ação citotóxica através de dois mecanismos: incorporando incorretamente os seus metabolitos no ADN/ARN, ou inibindo a enzima timidilato sintetase (60,61).

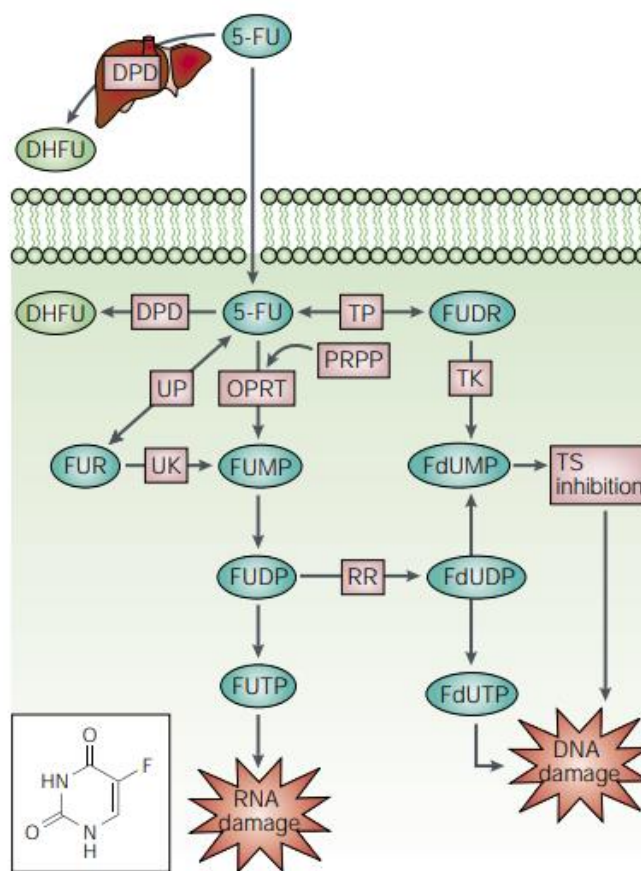


Figura 6 Metabolismo do 5- FU. Retirado de (60).

No que diz respeito ao mecanismo através do qual ocorre incorporação incorreta dos metabolitos do 5-FU no ADN/ARN, o metabolito FUTP é relevante, na medida em que é amplamente incorporado no ARN, perturbando o seu processamento e função. Assim sendo, o 5-FU inibe a formação de um ARN funcional/maduro, uma vez que perturba a atividade do complexo ARNnp-proteína, responsável pelo *splicing* (remoção dos intrões) do pré-ARNm. Além disso, destabiliza as modificações pós-transcricionais no ARNt e a conversão de uridina a pseudouridina, que ocorre em condições normais no ARNr, ARNt e ARNnp. Todas estas situações alteram o funcionamento do ARN, com consequências no metabolismo e viabilidade celulares.

No que concerne ao mecanismo através do qual o 5-FU inibe a enzima timidilato sintetase (TS) (figura 7), verifica-se a formação de danos no ADN ao nível da replicação e reparação. Tal situação é justificada pela importância da enzima TS na síntese *de novo* de timidilato, necessário para a replicação e reparação do ADN. A TS catalisa a conversão de desoxiuridina monofosfato (dUMP) em desoxitimidina monofosfato (dTMP), utilizando o 5,10-metileno tetrahydrofolato (CH_2THF) como dador do grupo metilo. Contudo, quando o metabolito ativo FdUMP do 5-FU se encontra presente, irá ocupar o sítio de ligação da dUMP na enzima TS, formando um complexo ternário estável (FdUMP-TS- CH_2THF). Desta forma, o acesso da dUMP ao sítio de ligação na enzima é bloqueado e, por isso, a dTMP não é sintetizada. Isto resulta em desequilíbrios nos desoxinucleótidos, principalmente na relação dATP/dTTP, e em níveis aumentados de dUMP e, por conseguinte, de dUTP (desoxiuridina trifosfato). Além disso, tanto a dUTP como a FdUTP podem ser incorretamente incorporadas no ADN e a tentativa de reparação pela enzima uracil-ADN glicosilase não é eficaz. Todas estas situações culminam em danos na síntese e reparação do ADN e conduzem à morte celular (60,61).

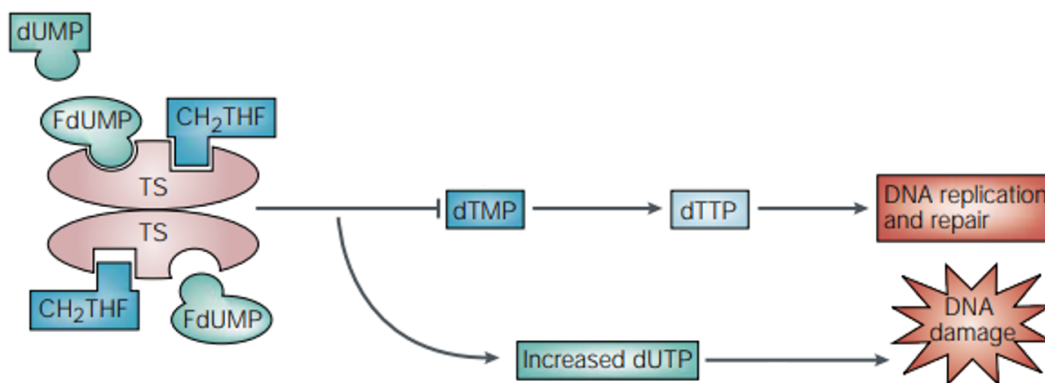


Figura 7 Mecanismo através do qual o 5-FU inibe a enzima timidilato sintetase.
Adaptado de (60).

Apesar de o 5-FU ser amplamente utilizado nos regimes de quimioterapia, a taxa de resposta ao tratamento com 5-FU, em monoterapia nos doentes com cancro colorretal avançado é de apenas 10-15%. Esta situação motivou o aparecimento de estratégias de modulação da atividade do 5-FU, nomeadamente através da incorporação da leucovorina/ácido folínico (figura 8) nos esquemas de quimioterapia que incluem o 5-FU. A leucovorina é utilizada com o intuito de aumentar a concentração intracelular de CH₂THF e melhorar a atividade citotóxica do 5-FU: a associação 5-FU/leucovorina apresenta melhores taxas de resposta quando comparada com o 5-FU em monoterapia. Após entrar nas células, a leucovorina é metabolizada a CH₂THF. A retenção intracelular de CH₂THF e a estabilidade do complexo ternário, culmina na danificação da síntese e reparação do ADN (62).

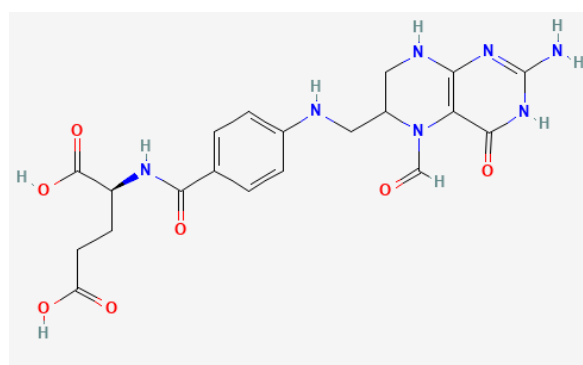


Figura 8 Estrutura química da leucovorina.

O 5-FU é o fármaco mais utilizado nos esquemas de quimioterapia recomendados no cancro colorretal. Todavia, o desenvolvimento de resistência pelas células cancerígenas é responsável pela falta de eficácia da quimioterapia nestes doentes.

Dentro deste contexto, as células tumorais conseguem modular a apoptose e autofagia, o ciclo celular, o *stress* oxidativo, o microambiente tumoral e a transição epitélio-mesenquimal com o intuito de sobreviverem à atividade citotóxica do 5-FU. Em seguida, cada um destes mecanismos de resistência é brevemente descrito.

Na carcinogénese, a apoptose encontra-se suprimida por meio do equilíbrio estabelecido entre as proteínas pró-apoptóticas e apoptóticas. Neste sentido, a resistência ao 5-FU envolve a ativação da via de sinalização NF- κ B/STAT3 que promove a expressão de proto-oncogenes, proteínas anti-apoptóticas e do fator de crescimento vascular endotelial (VEGF). A autofagia é um processo igualmente relevante: quando sujeitas a *stress*, as células tumorais degradam proteínas e organelos danificados como mecanismo de prevenção de danos futuros e de manutenção da homeostasia celular. Desta forma, tornam-se resistentes ao tratamento e asseguram a proliferação celular. Relativamente à modulação do ciclo celular, verificou-se que, nas células resistentes ao 5-FU, as fases G1 (crescimento celular) e S (replicação do ADN) do ciclo celular encontram-se prolongadas. Isto permite ativar as vias de reparação do ADN e, assim, contrariar os danos que o 5-FU iria induzir. Além disso, as células estaminais cancerígenas (*cancer stem cells*) têm a capacidade de permanecer quiescentes na fase G0 do ciclo celular. Deste modo, diminuem a sua suscetibilidade aos regimes de quimioterapia, cujo alvo são principalmente as células que apresentam elevadas taxas de divisão. Adicionalmente, as células tronco cancerígenas do colón sujeitas à quimioterapia ativam vias de resistência através da expressão aumentada de genes reparadores do ADN, de proteínas anti-apoptóticas e de transportadores que promovem a saída do 5-FU das células, e ainda através da alteração dos pontos de controlo (*checkpoints*) do ciclo celular e ativação da via PI3K/AKT que regula o crescimento e morte celular. Por outro lado, o 5-FU gera espécies reativas de oxigénio que induzem danos no ADN e paragem do ciclo celular. No entanto, também ativa o fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2 (Nrf2) que regula a homeostasia das espécies reativas de oxigénio. Este fator, uma vez ativado, regula positivamente as enzimas antioxidantes. Por isso, as células tornam-se resistentes aos efeitos citotóxicos induzidos pelo 5-FU através do *stress* oxidativo. Já as células tronco cancerígenas têm a capacidade de desenvolver respostas celulares adaptativas às espécies reativas de oxigénio e sobreviver. O microambiente tumoral também desempenha um papel relevante na progressão do cancro colorretal e, por

esse motivo, tem sido estudado no contexto do desenvolvimento de resistência ao tratamento com 5-FU. Por último, a capacidade de as células migrarem e invadirem os tecidos adjacentes ou distantes (transição epitélio-mesenquimal: EMT), encontra-se associada à resistência ao 5-FU. Assim sendo, as células resistentes ao 5-FU apresentam maior expressão de marcadores mesenquimais e menor expressão de marcadores epiteliais, o que explica a menor eficácia do tratamento nestes casos e a identificação da EMT como fator de risco para o desenvolvimento de metástases hepáticas (63,64).

O 5-FU é um dos agentes utilizados em quimioterapia cujo perfil de segurança é mais favorável, porém apresenta efeitos indesejáveis que devem ser tidos em consideração. Dentro deste contexto, é de realçar a toxicidade hematológica (leucopenia, neutropenia, trombocitopenia e anemia), gastrointestinal (mucosite, diarreia e náuseas) e cardíaca, bem como outras manifestações, nomeadamente a síndrome de eritrodisestesia palmar-plantar, alopecia, febre e fadiga.

Anteriormente, foi descrita a via anabólica através da qual o 5-FU é metabolizado. Esta envolve a conversão do 5-FU nos seus metabolitos ativos (que perturbam a síntese do ADN/ARN) e a enzima timidilato sintetase, culminando em danos no ADN/ARN e morte celular. No entanto, o 5-FU também é metabolizado através da via catabólica. Nesta via, o passo limitante envolve a conversão do 5-FU em dihidro fluorouracilo (DHFU) pela dihidropirimidina desidrogenase (DPD), expressa no fígado. Mais de 80% do 5-FU administrado é catabolizado no fígado a ácido α -fluoro- β -ureido-propiónico (FUPA) e α -fluoro- β -alanina (FBAL), excretados pela urina. Assim sendo, a biodisponibilidade do 5-FU é baixa e o tempo de meia vida *in vivo* é de apenas 10-20 minutos, aproximadamente.

De notar que a atividade da enzima DPD é variável entre indivíduos, o que torna imprevisível a concentração plasmática de 5-FU. Além disso, 2-4% da população é deficiente em relação a esta enzima, exacerbando o risco de toxicidade. Por esse motivo, foram desenvolvidos i) pró-fármacos do 5-FU que evitam o seu catabolismo no fígado, ii) associações entre o 5-FU e inibidores da enzima DPD e ainda iii) associações entre pró-fármacos do 5-FU e inibidores da enzima DPD. Dentro destas estratégias, será abordada a capecitabina, que se insere no primeiro grupo mencionado: pró-fármacos do 5-FU, atuando pela via anabólica.

4.1.2 Capecitabina

A capecitabina ($C_{15}H_{22}FN_3O_6$), à semelhança do 5-FU, é um fármaco antineoplásico, pertencente ao grupo terapêutico dos antimetabolitos. Mais concretamente, é um carbamato de fluoropirimidina não citotóxico, de administração oral, cuja estrutura química se encontra representada na figura 9. A administração oral permite maior flexibilidade relativamente à administração intravenosa, bem como menores recursos hospitalares e, conseqüentemente, menores custos e riscos de infeções nosocomiais. A capecitabina encontra-se indicada em monoterapia ou em associação no tratamento do cancro colorretal metastático e no tratamento adjuvante, após cirurgia, nos casos de cancro colorretal de estadio III (65).

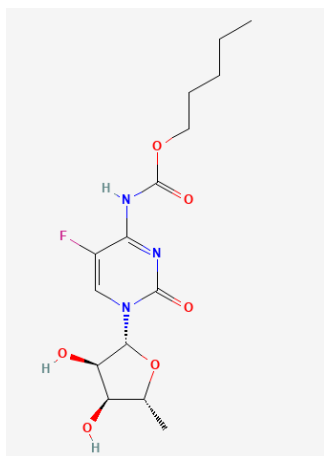


Figura 9 Estrutura química da capecitabina.

A capecitabina é considerada um pró-fármaco do 5-FU, uma vez que é ativada através de diversas etapas enzimáticas até à conversão final em 5-FU. O seu metabolismo encontra-se esquematizado na figura 10. Após ser administrada oralmente, a capecitabina é absorvida ao nível do intestino e convertida no fígado a 5'-desoxi-5-fluorocitidina (5'-DFCR), por ação da enzima carboxilesterase. 5'-DFCR é posteriormente convertida a 5'-desoxi-5-fluorouridina (5'-DFUR) pela citidina desaminase, uma enzima expressa maioritariamente no fígado. Por sua vez, a 5'-DFUR é finalmente convertida no metabolito ativo, o 5-FU, pela timidina fosforilase (TP) e/ou uridina fosforilase (UP). A expressão da TP é mais elevada nas células cancerígenas, comparativamente com as células saudáveis, o que favorece a seletividade e eficácia do tratamento. De facto, a concentração do 5-FU demonstrou ser 3,2 vezes superior nas células tumorais, relativamente às células saudáveis (65,66).

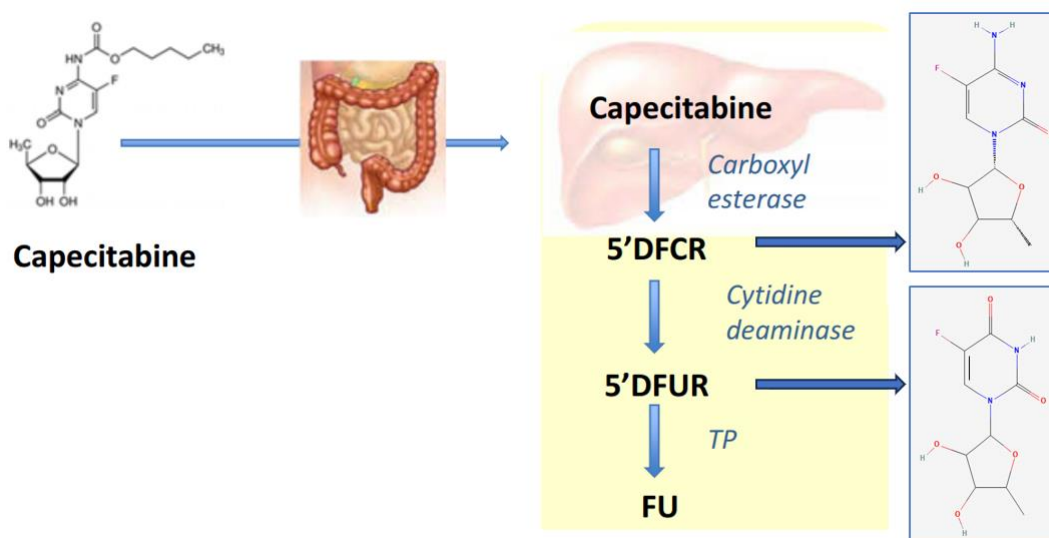


Figura 10 Metabolismo da capecitabina. Adaptado de (67).

Relativamente aos efeitos indesejáveis, os resultados são controversos. Por um lado, o perfil de toxicidade da capecitabina em monoterapia demonstrou ser mais favorável, em comparação com o do 5-FU/leucovorina, nos doentes com cancro colorretal metastático. Por outro lado, o perfil de toxicidade da capecitabina foi considerado semelhante ao do 5-FU.

4.1.3 Irinotecano

A quimioterapia baseada somente no 5-fluorouracilo aumenta o tempo de sobrevivência e o tempo livre de doença, contudo, a sua taxa de resposta nos casos de cancro colorretal avançado é de apenas 10-15%. Esta efetividade subótima justifica a sua associação a outros fármacos citotóxicos, como o irinotecano, uma vez que esta associação permite aumentar a taxa de resposta para 40-50% (61).

O irinotecano é um fármaco antineoplásico, citotóxico, aprovado em 1994 para o tratamento do cancro. Atualmente encontra-se aprovado para o tratamento do cancro colorretal e outros tumores sólidos - cancro do pulmão de não pequenas células, cancro pancreático e da via biliar - em monoterapia ou, mais frequentemente, em associação com outros fármacos citotóxicos, como o 5-FU e a oxaliplatina, e com anticorpos monoclonais. A estrutura química do irinotecano (etil-10-[4-(1-piperidino)-1-piperidino]-carboniloxicamptotecina) encontra-se na figura 11: é um alcaloide penta cíclico que apresenta na sua cadeia lateral duas piperidinas. Dependendo do pH fisiológico do ambiente celular, pode sofrer

mudanças estruturais, sendo que a sua forma ativa contempla o éster cíclico lactona e a forma inativa contempla o ácido carboxílico.

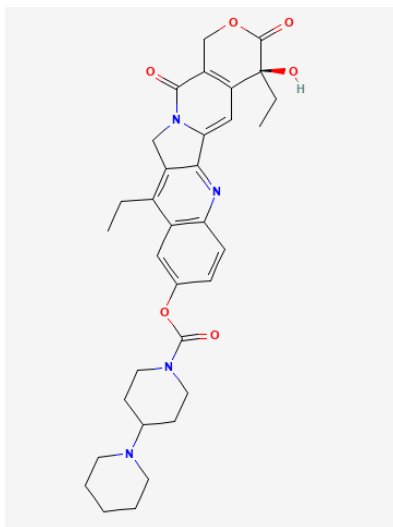


Figura 11 Estrutura química do irinotecano.

O irinotecano é um derivado semi-sintético da camptotecina (um alcaloide obtido a partir da árvore *Camptotheca acuminata*) e atua como inibidor específico da topoisomerase tipo I do ADN. As topoisomerases do tipo I induzem quebras numa das cadeias de ADN e as do tipo II induzem quebras em ambas as cadeias de ADN. Estas quebras visam libertar a tensão torcional do ADN e permitir que as suas cadeias sirvam de molde à formação de uma cadeia complementar, no caso da replicação, ou à síntese de ARN, no caso da transcrição. Ocorre uma reação de transesterificação controlada e reversível, na qual o grupo tirosilo do centro ativo da enzima se liga ao grupo fosfato da cadeia de ADN, de forma a induzir quebras na cadeia de ADN. Em condições normais, estas quebras são posteriormente reparadas para que a replicação e a transcrição prossigam sem erros associados. Não obstante, a formação do complexo ternário entre o irinotecano, o ADN com quebras e a topoisomerase I (figura 12) inviabiliza a reparação das quebras induzidas na cadeia de ADN e impede a libertação da topoisomerase I, o que bloqueia a forquilha de replicação e induz a morte celular. Desta forma, a estabilização das quebras induzidas na cadeia de ADN pela topoisomerase é utilizada no tratamento do cancro. No entanto, a topoisomerase I não é o único alvo do irinotecano. Este fármaco e o seu metabolito ativo SN-38 também desempenham um papel relevante na expressão de genes pró-apoptóticos e na senescência celular.

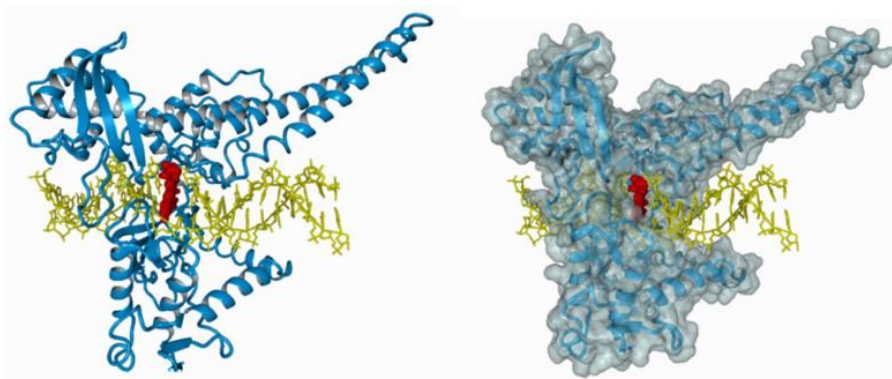


Figura 12 Complexo ternário irinotecano - ADN com quebras - topoisomerase I. Inibição da topoisomerase I (azul), ligada ao ADN (amarelo) com o irinotecano (vermelho). Retirado de (68).

A metabolização do irinotecano é complexa, envolvendo múltiplas etapas e diferentes enzimas (figura 13). O irinotecano é um pró-fármaco, convertido no seu metabolito ativo (SN-38) (figura 14) pela ação das carboxilesterases 1 e 2, presentes no fígado, cólon, rim e células sanguíneas; e da butirilcolinesterase, predominante no plasma. A atividade da butirilcolinesterase é 6 vezes superior à das carboxilesterases e, entre as carboxilesterases, a afinidade da carboxilesterase 2 para o irinotecano é 12,5 vezes superior à da carboxilesterase 1. Após a conversão do irinotecano em SN-38, o SN-38 é transportado ativamente para o fígado pelo polipéptido transportador de aniões orgânicos (OATP) 1B1 e, logo em seguida, é inativado a SN-38G, por ação da uridina difosfato glucuronosiltransferase (UGT). Esta reação de glucuronidação aumenta a polaridade do SN-38, o que promove a sua eliminação e justifica seu o curto tempo de semivida. A excreção dá-se principalmente pela bÍlis, na qual intervêm os transportadores ABC (ABCB1, ABCC2 e ABCG2). Adicionalmente, o irinotecano é metabolizado pelo citocromo P450, mais concretamente pelas enzimas CYP3A4 e CYP3A5, nos metabolitos inativos NPC e APC. Dentro destes, apenas o NPC pode ser posteriormente convertido a SN-38 por ação da carboxilesterases 1 e 2. Por fim, as bactérias intestinais também estão envolvidas no metabolismo do irinotecano, na medida em que produzem β -glucuronidases responsáveis pela desconjugação do SN-38G em SN-38.

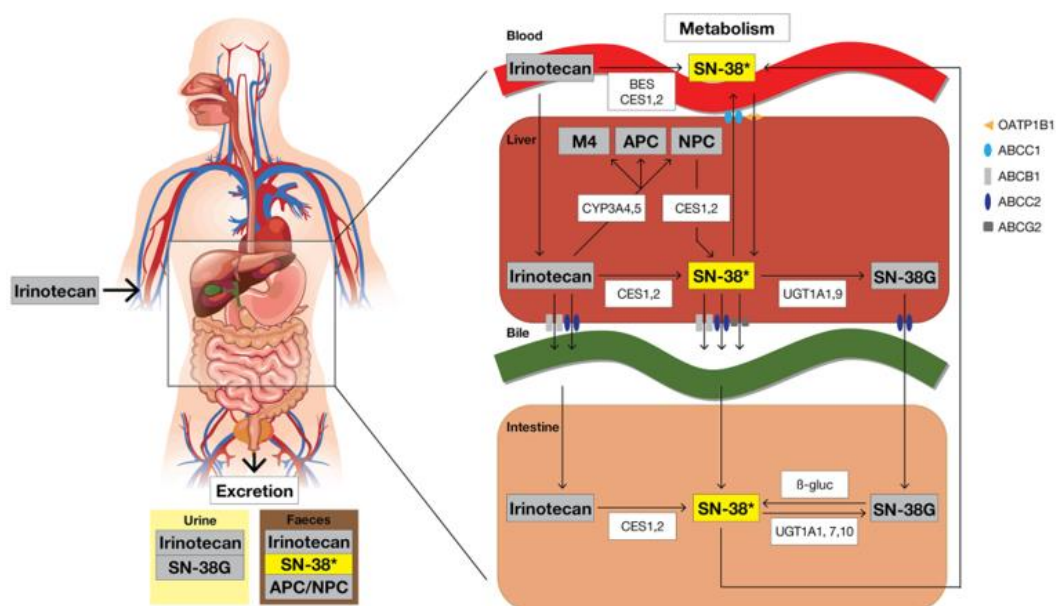


Figura 13 Metabolismo e excreção do irinotecano. Retirado de (69).

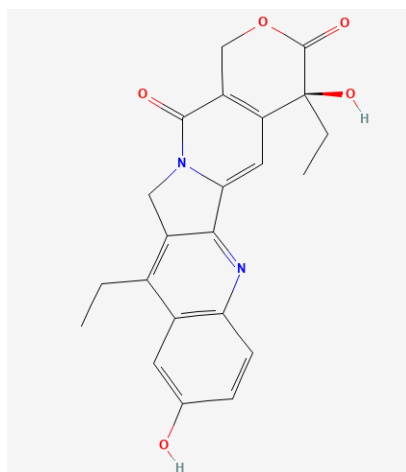


Figura 14 Estrutura química do SN-38.

Como descrito, o irinotecano apresenta um metabolismo complexo, na medida em que envolve múltiplas etapas e diferentes enzimas. Além disso, este agente antineoplásico é caracterizado por apresentar variabilidade interindividual ao nível da farmacocinética, pelo perfil de toxicidade limitante de dose e pelo papel dos polimorfismos genéticos na farmacodinamia e farmacocinética. Dentro deste contexto, tem sido estudada a influência da idade, género, tempo de administração e atividade enzimática na farmacocinética do irinotecano, bem como a pertinência das reações adversas, principalmente a neutropenia e a diarreia, no perfil de toxicidade do fármaco. Relativamente aos polimorfismos genéticos, é reconhecido o seu papel na

expressão e função de enzimas e transportadores que se encontram envolvidos na farmacodinamia e farmacocinética do irinotecano. Em particular, destacam-se os polimorfismos no gene UGT1A1, nomeadamente UGT1A1*6 e UGT1A1*28, por favorecerem o aumento da exposição do irinotecano e do SN-38 e, consequentemente, elevarem o risco de toxicidade. Polimorfismos referentes aos transportadores de efluxo ABC (ABCB1, ABCC1, ABCC2 e ABCG2) também afetam a farmacocinética e a toxicidade relativas ao irinotecano, dada a sua relevância no controlo do tempo de exposição ao fármaco. Por fim, a identificação de determinados polimorfismos é ainda uma mais-valia na avaliação do perigo relativo à ocorrência dos efeitos adversos anteriormente mencionados, a neutropenia e a diarreia (68–70).

No que concerne ao desenvolvimento de resistência à terapêutica com irinotecano, têm sido conduzidos inúmeros estudos que sugerem o envolvimento de diferentes vias e mecanismos em simultâneo. Neste sentido, foi estudado o papel do transportador ABCG2 no efluxo do irinotecano e a influência da variabilidade interindividual no metabolismo do referido fármaco. No entanto, a relação entre ABCG2 e a resistência ao irinotecano permanece inconclusiva, ao passo que a relação entre a expressão elevada de carboxilesterase 2 e o efeito terapêutico do irinotecano se encontra bem estabelecida (71). Adicionalmente, foi estudada a regulação das diversas proteínas envolvidas em mecanismos como a apoptose, a diferenciação e a proliferação. A título de exemplo, foi demonstrada a sobre-expressão de cofilina 1 (envolvida na proliferação, invasão e metastização tumoral) nas células resistentes ao irinotecano (72).

4.1.4 Oxaliplatina

A oxaliplatina é um fármaco antineoplásico à base de platina, de terceira geração. A sua estrutura química encontra-se representada na figura 15 (a), onde é possível observar o átomo de platina complexado com o grupo oxalato e com 1,2-diaminociclohexano. A oxaliplatina encontra-se indicada, em associação com 5-FU e ácido folínico, no tratamento do cancro colorretal metastático e no tratamento adjuvante do cancro colorretal em estadio III, após resseção completa do tumor primário.

A oxaliplatina pertence à classe de compostos à base de platina, da qual também fazem parte a cisplatina e a carboplatina. Foi a descoberta do potencial antineoplásico

da cisplatina, mas também da sua toxicidade e desenvolvimento de resistência, que motivou a síntese de novos compostos de platina. Neste sentido, verificou-se que a substituição dos dois grupos amina da cisplatina (representada na figura 15 (b)) pelo grupo diaminociclohexano, resultou num composto com atividade anti-tumoral promissora e sem resistência cruzada com a cisplatina. Posteriormente, com o intuito de aumentar a solubilidade em água deste novo composto, os átomos de cloro foram substituídos pelo grupo abandonante oxalato, originando, assim, a oxaliplatina.

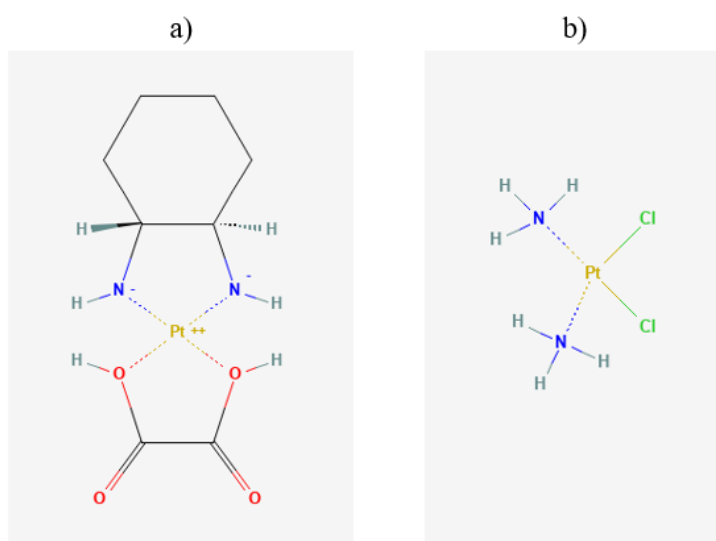


Figura 15 Estrutura química da oxaliplatina (a) e da cisplatina (b).

Os compostos à base de platina partilham características relativamente ao mecanismo de ação: atuam em qualquer fase do ciclo celular através da formação de ligações intra e intercadeias, inibindo a replicação e transcrição do ADN. Para esse efeito, após entrarem na célula, sofrem processos de bio-transformação até à sua forma citotóxica. No caso da oxaliplatina, o grupo 1,2-diaminociclohexano é quimicamente inerte e o oxalato (grupo abandonante) é substituído por iões cloreto que são posteriormente hidrolisados. Origina-se, assim, o complexo di-aquo que se liga ao ADN (figura 16) (73).

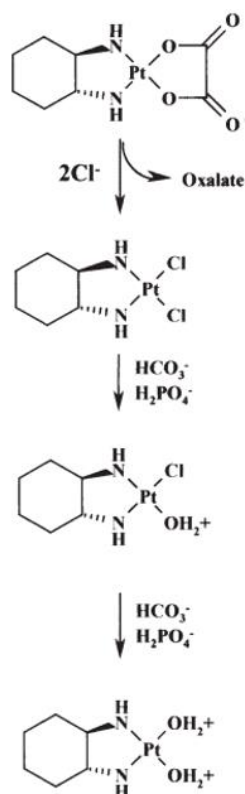


Figura 16 Metabolitos da oxaliplatina. Adaptado de (73).

O mecanismo de ação através do qual a oxaliplatina exerce o seu efeito citotóxico, caracteriza-se, principalmente, pela formação de ligações intra-cadeia de ADN com duas guaninas adjacentes (GG) ou com uma guanina e uma adenina (AG). Já as ligações inter-cadeia de ADN ocorrem menos frequentemente. Como explicado anteriormente, os iões cloreto são hidrolisados, originando o complexo di-aquo. Este complexo reage, primeiramente, com o N7 da guanina e, em seguida, reage com outra guanina ou com uma adenina, formando um aducto. A formação destes aductos resulta na inibição da replicação do ADN e, assim, promove a paragem do ciclo celular e a apoptose. A oxaliplatina demonstrou ser vantajosa no tratamento do cancro colorretal, uma vez que atua como substrato dos transportadores de catiões orgânicos (OCT) que se encontram sobre-expressos no referido cancro (74). Os OCT desempenham um papel importante na entrada da oxaliplatina nas células, favorecendo a sua acumulação intracelular e a formação de aductos de ADN. De notar que, *in vitro*, a formação dos aductos, ocorre mais lentamente no caso da oxaliplatina, em comparação com a cisplatina. Tal pode dever-se ao constrangimento da ligação N-Platina-N do complexo 1,2-diaminociclohexano, ou ao facto de ocupar um volume

superior ao dos aductos que envolvem a cisplatina. Além disso, a conformação dos aductos de oxaliplatina dificulta a sua detecção pelo sistema de reparação de erros do ADN (MMR). Assim, as especificidades da oxaliplatina permitem inibir a síntese do ADN com maior eficácia, aumentando o efeito citotóxico (75,76).

Os mecanismos de desenvolvimento de resistência aos compostos à base de platina são variados. Pode ocorrer diminuição da internalização celular ou aumento do efluxo, o que reduz a quantidade de fármaco citotóxico disponível dentro da célula para exercer o seu efeito. Já dentro da célula, pode ainda ser inativado por conjugação com a glutatona e/ou metalotioneínas. Apesar destes mecanismos, pode-se verificar a formação de aductos e, neste caso, a atividade do sistema de reparação da excisão de nucleótidos (NER) aumenta, promovendo a tolerância ao fármaco, paralelamente com o sistema de reparação de erros do ADN defeituoso (73). O perfil de toxicidade da oxaliplatina destaca-se pelos seus efeitos adversos ao nível do sistema hematopoiético e gastrointestinal, assim como pela neuropatia (76).

4.1.5 Trifluridina e Tipiracilo

A trifluridina-tipiracilo é um medicamento de combinação oral, composto por trifluridina, um análogo da timidina, e por tipiracilo, um inibidor da timidina fosforilase (77). A trifluridina corresponde ao componente ativo que é incorporado no ADN, perturbando o curso normal da sua síntese e inibindo, consequentemente, a proliferação celular. O tipiracilo visa aumentar a biodisponibilidade da trifluridina, através da inibição da enzima responsável pela conversão da trifluridina no seu metabolito inativo (78).

No que concerne ao mecanismo de ação, a trifluridina é fosforilada a trifluridina monofosfato por ação da timidina quinase (TK). A trifluridina monofosfato inibe a enzima timidilato sintetase (TS) e, por isso, impede a metilação da 2'-desoxiuridina-5'-monofosfato (dUMP) a 2'-desoxitimidina-5'-monofosfato (dTMP). Assim sendo, em alternativa, a dUMP é fosforilada a 2'-desoxiuridina-5'-trifosfato (dUTP) e dá-se a incorporação incorreta do uracilo no ADN, levando à morte celular. Numa via à parte, a trifluridina monofosfato é fosforilada a trifluridina trifosfato, que é incorporada diretamente no ADN, induzindo, também, a morte celular. A associação do tipiracilo à trifluridina surge como forma de colmatar o curto tempo de semi-vida da trifluridina.

A trifluridina-tipiracilo surge como opção terapêutica para os doentes tratados anteriormente, ou sem indicação, para os restantes fármacos disponíveis, mais precisamente 5-fluorouracilo, oxaliplatina, irinotecano, agentes anti-EGFR e agentes anti-VEGF. É eficaz nos casos de resistência ao 5-fluorouracilo, devido à possibilidade de incorporação direta da trifluridina trifosfato no ADN (79).

4.2 Cirurgia

A cirurgia é indicada na maioria dos doentes com cancro colorretal, com o intuito de remover o tumor principal e lesões metastáticas, no caso de doença avançada. Os procedimentos cirúrgicos utilizados no tratamento do cancro colorretal incluem a cirurgia laparoscópica, cirurgia robótica e cirurgia aberta. Atualmente, a cirurgia laparoscópica é considerada a de eleição. Consiste em realizar pequenos cortes na região do abdómen, através dos quais é introduzido um laparoscópio e os instrumentos cirúrgicos (80). As partes do cólon e/ou reto afetadas são removidas, tal como possíveis gânglios linfáticos afetados e partes de órgãos para as quais o tumor tenha metastizado. Esta intervenção tem mostrado ser mais benéfica, na medida em que diminui o tempo de hospitalização e de recuperação da função intestinal, apresenta melhores resultados do ponto de vista estético e reduz a dor pós-operatória (81). Além disso, a agressão ao nível do sistema imunitário é menos pronunciada, ou seja, a resposta imunitária no pós-operatório mostrou ser menos afetada no caso da cirurgia laparoscópica, em comparação com a cirurgia aberta (82,83).

A cirurgia aberta é empregue com o mesmo objetivo da cirurgia laparoscópica e consiste em realizar uma incisão na barriga para que seja possível aceder à cavidade abdominal. Apesar dos benefícios que a cirurgia laparoscópica tem demonstrado, pode ser necessário recorrer à cirurgia aberta, considerando a extensão do tumor para os órgãos adjacentes, a visibilidade de estruturas críticas, a possibilidade da ressecção das margens ser inadequada noutro tipo de cirurgia, o estadio do tumor e a acessibilidade (81).

A cirurgia robótica é um sistema integrado composto por três elementos essenciais: os braços robóticos conectados aos instrumentos cirúrgicos, o posto de controlos do cirurgião e o vídeo com imagens tridimensionais de alta-definição. Tal permite melhorar a destreza, com eliminação de tremores fisiológicos e, por isso, otimização da ergonomia, além da visão tridimensional. Tem sido utilizada principalmente no

câncer retal, diminuindo complicações ao nível das funções urinária e sexual, uma vez que o campo de visão e a flexibilidade dos movimentos mecânicos obtidos com a cirurgia robótica reduz o dano nos nervos e vasos sanguíneos (84,85).

4.3 Radioterapia

A radioterapia consiste na utilização de radiação ionizante como meio curativo ou paliativo do câncer. O objetivo é destruir/erradicar as células cancerígenas, enquanto os tecidos circundantes saudáveis são afetados o mínimo possível. Por este motivo, é considerada um tratamento local. No câncer colorretal, geralmente, é utilizada como tratamento neoadjuvante (antes da cirurgia), em associação com a quimioterapia (86–88).

A radioterapia atua por via de mecanismos diretos e indiretos. Através dos mecanismos diretos induz danos na dupla cadeia de ADN das células cancerígenas, quebras numa das suas cadeias, erros no emparelhamento das bases e aberrações cromossômicas. Estas situações culminam na apoptose, necrose e autofagia das células cancerígenas. Através dos mecanismos indiretos, induz a geração de espécies reativas de oxigênio que induzem *stress* oxidativo a nível celular e conduzem a alterações nas vias de sinalização (89).

4.4 Terapêutica Dirigida

A cirurgia e a quimioterapia têm assumido um papel significativo no que diz respeito ao tratamento do câncer colorretal. Todavia, principalmente nos casos em que o câncer se encontra metastizado, o prognóstico dos doentes é reservado. Por esse motivo, têm sido desenvolvidas novas opções terapêuticas, como é o caso da terapêutica dirigida. O objetivo é interferir no desenvolvimento das células cancerígenas, através da inibição da sua proliferação, diferenciação e migração, sendo que o microambiente tumoral também pode ser alterado de forma a impedir o crescimento do tumor e potencializar a ação do sistema imunitário. Nesta modalidade terapêutica, as pequenas moléculas e os anticorpos monoclonais têm mostrado a sua relevância, através da inativação de enzimas e reconhecimento de recetores e/ou locais de ligação, respetivamente, com consequências ao nível da progressão e morte celulares.

Atualmente, encontram-se descritas diferentes vias capazes de ativar cascatas de sinalização ou de regular a iniciação, progressão e migração do cancro colorretal, que, por conseguinte, representam potenciais alvos de atuação da terapia dirigida. Dada a complexidade associada a estas vias, o desenvolvimento de terapias dirigidas eficazes representa um desafio que tem sido trabalhado ao longo dos últimos anos através da descoberta de moléculas eficazes no tratamento do cancro colorretal. Neste sentido, serão abordados, em seguida, fármacos que atuam na via EGFR e vias relacionadas, na via VEGF/VEGFR, ou como inibidores dos *checkpoint* imunológicos (90).

4.4.1 Via EGFR e Vias Relacionadas

Primeiramente, serão discutidas as opções terapêuticas que apresentam como alvo a via EGFR e vias relacionadas. O EGFR (recetor do fator de crescimento epidérmico) é uma glicoproteína transmembranar expressa, principalmente, nos tumores localizados no cólon esquerdo. Pertence à família de recetores ErbB que, por sua vez, pertence à superfamília de recetores tirosina-cinase. A ligação do EGF (fator de crescimento epidérmico), ou do TGF- α ao domínio extracelular do EGFR, resulta na sua dimerização e ativação, com a fosforilação dos resíduos de tirosina (91). Uma vez ativado, irá desencadear diferentes vias de sinalização a jusante, nomeadamente as vias Ras/Raf/MEK/ERK, PI3K/AKT e JAK/STAT3, responsáveis por regular o crescimento, a sobrevivência, a diferenciação e migração celulares e a angiogénese (figura 17). De notar que o EGFR se encontra sobre-expresso em 25 a 77% dos casos de cancro colorretal e a sua ativação favorece a sobrevivência e proliferação celulares. Estas características potenciaram o desenvolvimento de anticorpos monoclonais anti-EGFR e, neste momento, encontram-se aprovados o cetuximab e o panitumumab (90,92,93).

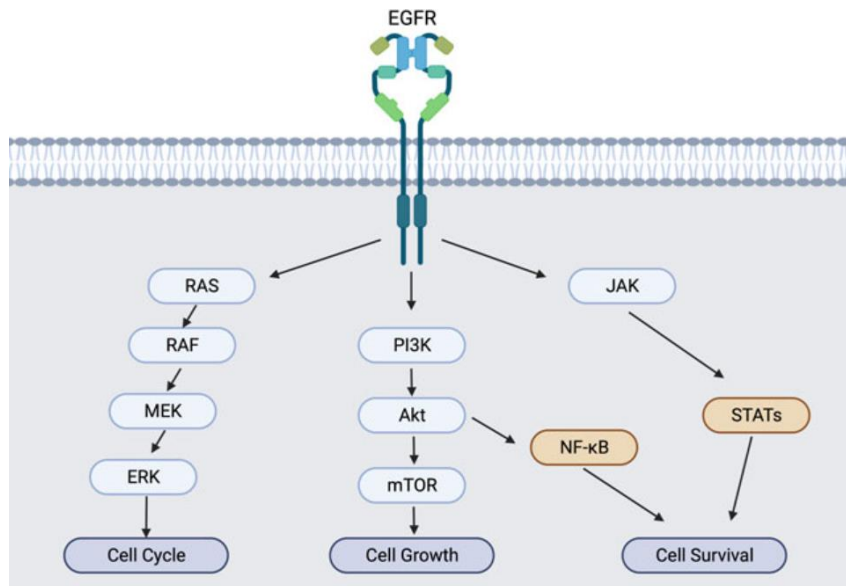


Figura 17 Via EGFR. Retirado de (94).

O cetuximab é um anticorpo IgG1 monoclonal quimérico indicado no tratamento do cancro colorretal metastático, RAS não mutado. É utilizado em associação com quimioterapia, concretamente com o esquema FOLFOX ou com quimioterapia à base de irinotecano; ou em monoterapia, no caso dos doentes que não respondem a tratamentos que incluem irinotecano e/ou oxaliplatina, permitindo aumentar a sobrevivência livre de progressão da doença e a sobrevivência global dos doentes cujo tratamento com fluoropirimidinas, irinotecano e oxaliplatina falhou ou não é indicado. O cetuximab induz a internalização e degradação do EGFR, além de inibir a função deste recetor, visto que se liga a ele com uma afinidade superior à dos ligandos endógenos. Adicionalmente, o referido anticorpo pode-se ligar ao *cluster of differentiation* 16 (CD16) das células NK (*natural killer*) e desencadear citotoxicidade mediada por células dependente de anticorpo (ADCC). Notavelmente, as células NK ativadas secretam citocinas, como a interleucina-15 e o interferão γ , que estimulam a maturação das células dendríticas, a interação células dendríticas-células NK e o recrutamento de células T citotóxicas anti-EGFR para o microambiente tumoral, com o intuito de aumentar a atividade citotóxica (95).

O panitumumab é um anticorpo IgG2 monoclonal recombinante, totalmente humano, desenvolvido com o intuito de diminuir o potencial para imunogenicidade dos anticorpos quiméricos, como o cetuximab (96,97). O risco de ocorrerem reações de hipersensibilidade é de 3,5 a 7,5% para o cetuximab ao passo que, para o

panitumumab, é reduzido para 0,6 a 3% (98). À semelhança do cetuximab, o panitumumab liga-se ao domínio extracelular do EGFR, inibindo a auto-fosforilação induzida pelos seus ligandos naturais e, por consequência, as funções associadas à via EGFR e vias relacionadas. Além disso, promove a internalização do recetor, induz a apoptose e inibe a angiogénese (99). A ligação do panitumumab ocorre em sítios de ligação diferentes (mas próximos fisicamente) e com uma afinidade 8 vezes superior à do cetuximab (92).

Como referido anteriormente, o EGFR pertence à família de recetores ErbB, da qual também faz parte o recetor HER2. Assim sendo, o recetor HER2 atua de forma semelhante ao recetor EGFR, partilhando as vias de sinalização Ras/Raf/MEK e PI3K/AKT. No cancro colorretal, a expressão de HER2 é relativamente baixa (2-3%), contrariamente ao que ocorre no cancro da mama (100). Por esse motivo, têm sido desenvolvidos fármacos que inibem o HER2, tais como trastuzumab, lapatinib e pertuzumab, com potencial terapêutico no cancro da mama. Já no caso do cancro colorretal, o papel da sobre-expressão de HER2 no prognóstico dos doentes não é claro (101). Ainda assim, diferentes ensaios clínicos têm demonstrado que a combinação de dois agentes inibidores do HER2 favorece a sobrevivência livre de progressão e a sobrevivência global dos doentes com cancro colorretal metastático, principalmente RAS não mutado (102). Doentes com tumores RAS e BRAF não mutados são os que mais sobre-expressam o recetor HER2 e, neste grupo, foi demonstrado que a sobre-expressão do HER2 e as mutações RAS e RAF são mutuamente exclusivas (101). Por último, a sobre-expressão e/ou ativação do HER2 relaciona-se com o desenvolvimento de resistência à terapêutica anti-EGFR, uma vez que as vias de sinalização a jusante serão ativadas (103,104).

Em seguida será brevemente abordado o encorafenib (figura 18), uma pequena molécula, inibidora da quinase RAF. É indicado no tratamento do cancro colorretal metastático com a mutação BRAF 600V, em associação com cetuximab, nos doentes que receberam terapêutica sistémica prévia. A mutação BRAF 600V ocorre em, aproximadamente, 10% dos doentes com cancro colorretal metastático e encontra-se associada a um prognóstico desfavorável, visto que promove a ativação constante da quinase RAF e a sinalização continuada da via Ras/Raf/MEK/ERK. Por este motivo, a capacidade de inibir BRAF 600V representa uma mais-valia na inibição do

crescimento das células tumorais (105,106). Todavia, o tratamento com inibidores BRAF em monoterapia demonstrou não ser tão eficaz no cancro colorretal, como é no tratamento do melanoma e do cancro do pulmão de células não pequenas. Tal deve-se ao facto de a inibição do BRAF levar à ativação do EGFR, o que justifica a associação do cetuximab à terapêutica com encorafenib (107). Atualmente, é recomendado o regime triplo, que resulta da associação de um agente anti-EGFR com vemurafenib + irinotecano, ou com dabrafenib + trametinib, ou com encorafenib + binimetinib. Estes exemplos de regimes triplos demonstraram ser superiores em termos de sobrevivência dos doentes com cancro colorretal metastático com uma mutação BRAF, e apresentaram reações adversas comparáveis às dos regimes utilizados até então (107).

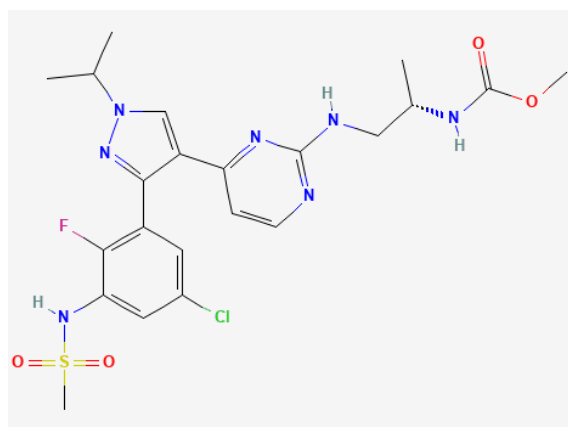


Figura 18 Estrutura química do encorafenib.

4.4.2 Via VEGF/VEGFR

Complementarmente às opções terapêuticas até agora abordadas, segue-se a discussão da via VEGF/VEGFR (fator de crescimento endotelial vascular/ recetor do fator de crescimento endotelial vascular) enquanto alvo de novas opções terapêuticas para o tratamento do cancro colorretal. O VEGF é um potente fator angiogénico que estimula a proliferação e migração endoteliais e a permeabilidade vascular e, por esse motivo, favorece a carcinogénese (108). No cancro colorretal, os níveis de VEGF e a atividade de VEGFR encontram-se aumentados em todos os estadios da doença, mas a diferença é ainda mais notória no último estadio, ou seja, na doença metastizada (109). A interação entre o VEGF e o seu recetor promove a dimerização de dois recetores ocorrendo, em seguida, a fosforilação dos seus domínios tirosina-cinase e a ativação de diferentes vias de sinalização, tais como Ras/Raf/MAPK e AKT-mTOR (110). Neste sentido, a terapêutica anti-VEGF surge com o objetivo de inibir a

angiogénese tumoral, essencialmente através dos anticorpos anti-VEGF (bevacizumab) e anti-VEGFR (ramucizumab) e do aflibercept.

O bevacizumab é um anticorpo IgG1 monoclonal recombinante humanizado que se liga ao VEGF, inibindo a ligação deste fator aos seus recetores (VEGFR-1 e VEGFR-2) na superfície das células endoteliais (111). Desta forma, a atividade do VEGF é neutralizada e, conseqüentemente, a vascularização do tumor regride, assim como a formação de novos vasos, o que inibe o crescimento do tumor e a formação de metástases (112). Além disso, o bevacizumab, enquanto anticorpo anti-VEGF, também tem efeitos inibitórios diretos ao nível das células tumorais. Isto porque o VEGF promove a transição do fenótipo epitelial para o fenótipo mesenquimal, o que favorece a migração das células tumorais e invasão dos tecidos adjacentes. Por último, a capacidade do bevacizumab alterar a função vascular representa uma mais-valia adicional. Uma vez que a perfusão do tumor é irregular, a normalização da hemodinâmica aumenta a capacidade da quimioterapia atingir o tumor e, dessa forma, a sua eficácia (113). O bevacizumab é indicado no tratamento do cancro colorretal metastático em associação com quimioterapia, tendo sido demonstrado o êxito desta associação ao nível da sobrevivência livre de progressão e da sobrevivência global dos doentes (111).

O ramucirumab é um anticorpo monoclonal anti-VEGFR2, totalmente humanizado (114). Foi desenvolvido com o objetivo de inibir a ativação do VEGFR2 pelo VEGF, visto que impede a ligação do VEGF ao domínio extracelular do VEGFR2 e altera a conformação do recetor. Em comparação com o VEGFR1, o VEGFR2 apresenta menor afinidade para o VEGF; no entanto, a sua atividade tirosina-cinase é superior. Assim sendo, a ligação do ramucirumab ao VEGFR2 é vantajosa, na medida em que reprime as vias de sinalização a jusante, nomeadamente Ras/Raf/ERK/MAPK e PI3K/AKT, impedindo a angiogénese e a proliferação tumoral (115). O ramucirumab encontra-se indicado em associação com FOLFIRI no tratamento de doentes adultos com cancro colorretal metastático com progressão da doença durante ou após quimioterapia anterior contendo bevacizumab, oxaliplatina e uma fluoropirimidina, tendo sido demonstrada a melhoria significativa da sobrevivência global e sobrevivência livre de progressão nestes grupo de doentes (116).

O aflibercept é uma proteína de fusão recombinante constituída por porções dos domínios extracelulares de VEGFR1 e VEGFR2 humano, fundidas com a porção Fc da IgG1 humana. Neste sentido, atua como um recetor que apresenta capacidade de se ligar ao VEGFA, VEGFB e PIGF (fator de crescimento placentar), inibindo a ligação destes fatores aos seus recetores naturais. Por conseguinte, a via VEGF não é ativada e a angiogénese é inibida. (117,118).

Adicionalmente, é pertinente apresentar o regorafenib ($C_{21}H_{15}ClF_4N_4O_3$) (figura 19), enquanto possível abordagem terapêutica no tratamento do cancro colorretal metastático. O regorafenib bloqueia diferentes proteínas cinases envolvidas na angiogénese tumoral, oncogénese, metástases e imunidade tumoral. Dentro deste contexto, o regorafenib demonstrou ser superior ao fármaco a partir do qual foi desenvolvido - o sorafenib ($C_{21}H_{16}ClF_3N_4O_3$) – através da adição de um átomo de flúor. A superioridade do regorafenib deve-se ao facto de apresentar maior afinidade para as proteínas cinases, além de bloquear proteínas cinases suplementares que desempenham um papel extremamente relevante na angiogénese, oncogénese e manutenção do microambiente tumoral. O regorafenib encontra-se aprovado para o tratamento de doentes adultos com cancro colorretal metastático que foram anteriormente tratados com quimioterapia à base de fluoropirimidinas, terapêutica anti-VEGF e terapêutica anti-EGFR, ou que não são elegíveis para estas terapêuticas (119–121).

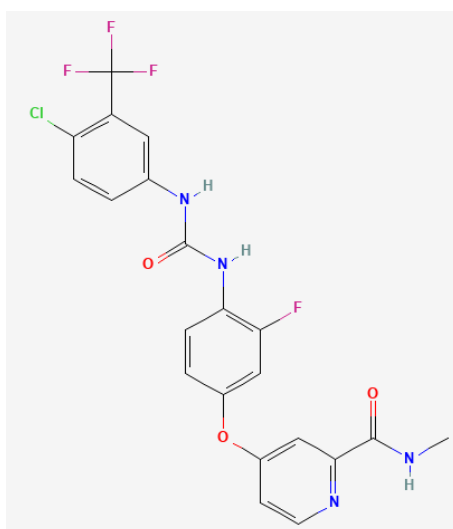


Figura 19 Estrutura química do regorafenib.

4.4.3 Inibidores dos *Checkpoint* Imunológicos

Além das opções terapêuticas supramencionadas, que bloqueiam diferentes vias de sinalização envolvidas no desenvolvimento tumoral, também é relevante notar o papel do sistema imunitário no curso da doença. É sabido que o reconhecimento de antígenos pelo sistema imunitário envolve a ligação das células T ao complexo maior de histocompatibilidade (MHC) das células apresentadoras de antígeno. Paralelamente, envolve receptores adicionais inibitórios ou co-estimuladores da ativação das células T, que definem o balanço entre a resposta imunitária e a resposta efetora (figura 20). No entanto, as células cancerígenas são dotadas de capacidade de escapar ao sistema imunitário através de diferentes mecanismos, nomeadamente secreção de fatores imunossupressores (TGF- β e IL-6), recrutamento de células imunossupressoras (como linfócitos T reguladores, macrófagos e células imunossupressoras mieloides), diminuição da expressão de MHC-I e ativação de receptores inibitórios/ *checkpoint* imunológicos (proteína de morte celular programada (PD1) e proteína associada ao linfócito T citotóxico (CTLA-4)) (90,122–124). Desta forma, bloquear os *checkpoints* imunológicos remove um dos mediadores da tolerância imunológica e consequentemente aumenta a atividade antitumoral do sistema imunitário, o que motivou o desenvolvimento da imunoterapia. Doentes com deficiência de reparação de incompatibilidade (MMR) ou com instabilidade microssatélite elevada representam o grupo que mais irá potencialmente beneficiar desta nova abordagem, dada a sua elevada carga mutagénica e o consequente potencial de reconhecimento de novos antígenos (neoantígenos) pelo sistema imunitário. A imunoterapia contempla inibidores da PD1 (nivolumab e pembrolizumab) e do CTLA-4 (ipilimumab) (figura 20) (125,126).

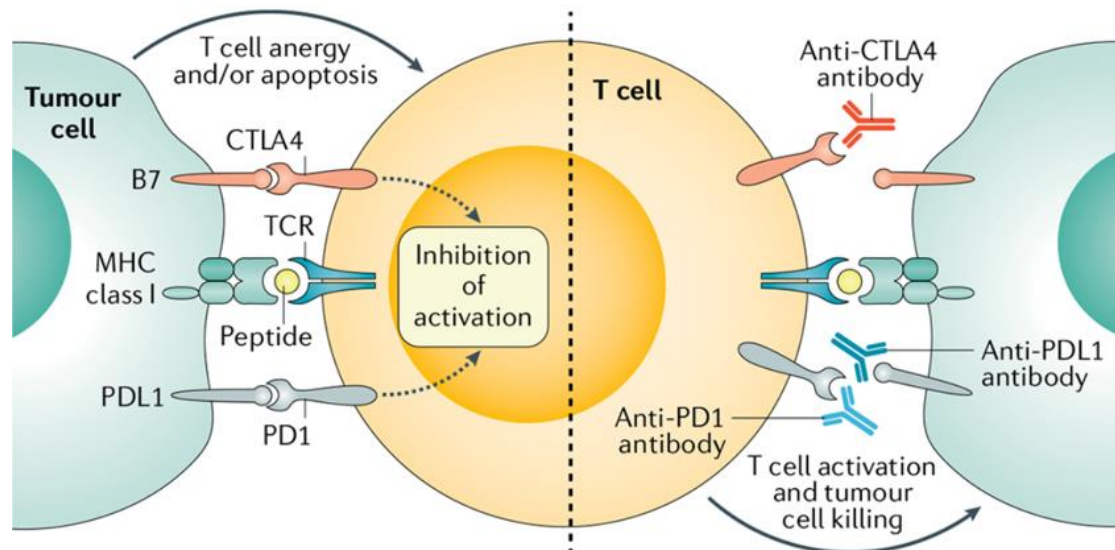


Figura 20 Inibidores dos *checkpoint* imunológicos. Retirado de (127).

5 Perspetivas Futuras

Ao longo dos últimos anos temos assistido a um notável desenvolvimento científico, que se reflete na abordagem terapêutica dos doentes com cancro colorretal. A heterogeneidade característica do cancro colorretal possibilita o desenvolvimento de terapias personalizadas, considerando os diferentes perfis genéticos dos doentes e a forma como influenciam a diferenciação e a proliferação celulares. Neste sentido, os recentes avanços tecnológicos têm permitido selecionar a abordagem mais adequada para cada doente, com o objetivo de melhorar os cuidados prestados, através da otimização da resposta à terapêutica, da sua individualização e da diminuição dos efeitos adversos.

No entanto, existem obstáculos e o caminho deve continuar a ser trilhado em prol do futuro, em prol dos doentes. O desenvolvimento de resistência à terapêutica e a ausência de biomarcadores preditivos de resposta constituem problemas que se colocam na prática clínica e para os quais se torna imprescindível um melhor conhecimento. Além disso, é importante considerar as desvantagens implícitas à terapêutica dirigida, nomeadamente o custo/ benefício, os efeitos adversos graves e o desenvolvimento de resistência, bem como o facto da heterogeneidade entre os diferentes doentes ser determinante para a eficácia.

Adicionalmente, dada a relevância das estratégias de prevenção do cancro colorretal, importa continuar a fomentar a mudança entre a população e os governos. Adotar estilos de vida saudáveis, que incluam a prática de exercício físico e uma dieta saudável, podem prevenir, no mínimo, 40% dos novos casos de cancro colorretal. Além disso, as estratégias de vigilância permitem reduzir a incidência e mortalidade devidas ao cancro colorretal. Assim, continuar a implementar programas de rastreio, principalmente nos indivíduos de alto risco e nos países cujos hábitos se têm vindo a alterar e a aproximar dos da Europa e Norte da América, representa uma mais-valia na redução da incidência do cancro colorretal (23).

No que diz respeito a novos agentes com potencial terapêutico para o cancro colorretal, encontram-se em ensaios clínicos diferentes fármacos para diferentes alvos. Por exemplo, para a via de sinalização Wnt (envolvida na proliferação e diferenciação celulares) (128,129) encontra-se em curso um ensaio clínico de fase I, com o objetivo

de encontrar a dose recomendada de LGK974 (figura 21) para doentes com cancro colorretal BRAF mutado (130). Outro exemplo é o caso de um ensaio clínico em curso, com o objetivo de identificar os efeitos adversos e a dose mais eficaz do regorafenib, quando combinado com o pembrolizumab, no tratamento do cancro colorretal metastático (131).

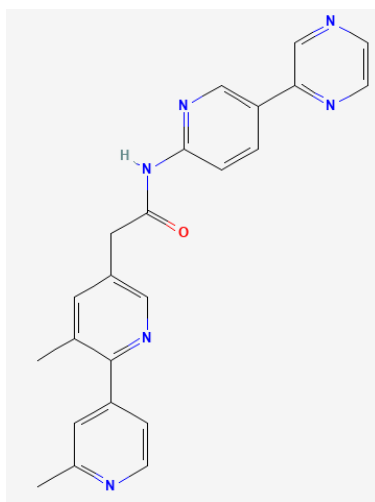


Figura 21 Estrutura química do LGK974.

Atualmente, a inteligência artificial encontra-se em rápido crescimento e evolução. Por esse motivo, tem sido considerada a sua aplicação na oncologia, concretamente na deteção, vigilância, diagnóstico e classificação de tumores, assim como análise do microambiente tumoral e avaliação de biomarcadores. Considerando a capacidade de aprender e reconhecer padrões e interações a partir de modelos representativos, além da possibilidade de integrar um vasto conjunto de dados, acredita-se que o futuro passará pela integração da inteligência artificial nos cuidados de saúde. Este processo deverá ser integrativo e multidisciplinar, e os desafios que lhe estão inerentes devem ser reconhecidos (132–134).

Resumindo, é imperativo compreender a genómica, a proteómica e a transcriptómica, bem como encontrar biomarcadores sensíveis e específicos, capazes de orientar a decisão terapêutica (135). Mais estudos são necessários para se elucidar a complexidade do cancro colorretal e, assim, maximizar a resposta à terapêutica e diminuir os efeitos adversos e a mortalidade associados a esta doença.

6 Conclusões

O desenvolvimento e progressão do cancro colorretal implicam um conjunto de alterações genéticas, epigenéticas, histológicas e morfológicas, que são responsáveis pela heterogeneidade que caracteriza esta patologia. As referidas alterações implicam a transição do epitélio colorretal de normal a adenoma e, por fim, a carcinoma. Neste processo, os pólipos são considerados os precursores da maioria dos casos de cancro colorretal. Os pólipos adenomatosos encontram-se associados à via da instabilidade cromossómica, caracterizada por alterações cromossómicas e mutações em genes supressores de tumor e oncogenes, sendo frequentes mutações no oncogene *KRAS*. Já os pólipos serrados encontram-se associados à via da instabilidade epigenética, caracterizada por modificações epigenéticas, com hipermetilação das ilhas CpG. A via da instabilidade microssatélite envolve ambos os tipos de pólipos e origina um fenótipo hipermutado, devido à incapacidade de reparação dos microssatélites, sendo frequentes mutações no gene *BRAF*. Todas as vias estão envolvidas na carcinogénese, evidenciando a complexidade e os mecanismos moleculares subjacentes à progressão do cancro colorretal.

Considerando a elevada prevalência e mortalidade associadas ao cancro colorretal, importa reconhecer os seus principais fatores de risco, dos quais se realçam a Síndrome de *Lynch*, a polipose adenomatosa familiar e os estilos de vida caracterizados por fraca atividade física, dieta pobre, obesidade e consumo de álcool e tabaco. Além disso, é importante perceber qual o estadiamento clínico, já que este é determinante do prognóstico e da decisão terapêutica mais adequados a cada doente.

As opções terapêuticas do cancro colorretal incluem a cirurgia, a quimioterapia, a radioterapia e as terapias dirigidas. Geralmente, o plano de tratamento envolve a combinação de terapêuticas que atuam a nível local, nomeadamente a cirurgia ou radioterapia, e a nível sistémico, tais como a quimioterapia e as terapias dirigidas.

A cirurgia visa remover o tumor principal e eventuais lesões metastáticas e a radioterapia utiliza radiação ionizante como meio de erradicar as células cancerígenas. A quimioterapia consiste na utilização de um único, ou na combinação de dois ou mais fármacos citotóxicos capazes de induzir a morte das células e/ou impedir o seu crescimento e divisão. Os fármacos citotóxicos compreendem o 5-fluorouracilo, a

capecitabina, o irinotecano, a oxaliplatina e trifluridina/tipiracilo. O 5-fluorouracilo é um análogo do uracilo e exerce a sua ação citotóxica através da incorporação incorreta dos seus metabolitos no ADN/ARN e da inibição da enzima timidilato sintetase, envolvida nos processos de replicação e reparação do ADN. A capecitabina é um pró-fármaco do 5-fluorouracilo, de administração oral. Por sua vez, o irinotecano atua como inibidor específico da topoisomerase I do ADN, impedindo a reparação das quebras induzidas na cadeia de ADN, o que culmina na morte das células. A oxaliplatina forma aductos que inibem a replicação do ADN e, por último, a associação trifluridina-tipiracilo perturba o curso normal da síntese do ADN, inibindo a proliferação celular. Diferentes associações entre estes fármacos dão origem aos diferentes esquemas de quimioterapia, especificamente FOLFOX, CAPEOX, FOLFIRI, IROX e FOLFIRINOX.

Nos últimos anos tem sido explorado o potencial das terapias dirigidas no tratamento do cancro colorretal. Para isso, tem contribuído o reconhecimento de diferentes biomarcadores e a compreensão dos mecanismos associados à carcinogénese, com identificação de vias capazes de regular a iniciação, progressão e migração do cancro colorretal. Neste contexto, salientam-se as vias EGFR e VEGF, enquanto potenciais alvos da terapia dirigida, e o papel do sistema imunitário no desenvolvimento tumoral. Os anticorpos cetuximab e o panitumumab são direccionados contra o EGFR e dificultam a sobrevivência e proliferação celulares. Já a pequena molécula encorafenib é direccionada contra a quinase RAF, envolvida na via de sinalização Ras/Raf/MEK/ERK, desencadeada pela ativação do EGFR. Por sua vez, o bevacizumab (anticorpo anti-VEGF), o ramucirumab (anticorpo anti-VEGFR) e o aflibercept apresentam como alvo a via VEGF, associada à angiogénese tumoral. Relativamente aos bloqueadores dos *checkpoint* imunológicos, o nivolumab e o pembrolizumab atuam como inibidores do PD1, e o ipilimumab como inibidor do CTLA-4. Por último, o regorafenib é capaz de bloquear múltiplas proteínas cinases envolvidas na angiogénese, oncogénese e manutenção do microambiente tumoral.

Assim, tendo em conta a complexidade associada ao cancro colorretal e, por conseguinte, ao seu tratamento, torna-se necessário continuar a progredir no sentido de desenvolver abordagens terapêuticas eficazes e seguras, bem como garantir um acompanhamento multidisciplinar e personalizado dos doentes.

Referências Bibliográficas

1. Janney A, Powrie F, Mann EH. Host–microbiota maladaptation in colorectal cancer. *Nat* 2020;585(7826):509–17. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41586-020-2729-3>
2. Simon K. Colorectal cancer development and advances in screening. *Clin Interv Aging*. 2016;11:967. Available from: [/pmc/articles/PMC4958365/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26458365/)
3. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin* [Internet]. 2021;71(3):209–49. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33538338/>
4. Kuipers EJ, Grady WM, Lieberman D, Seufferlein T, Sung JJ, Boelens PG, et al. Colorectal cancer. *Nat Rev Dis Prim* 2015;1,15065. Available from: <https://www.nature.com/articles/nrdp201565>
5. Hossain MS, Karuniawati H, Jairoun AA, Urbi Z, Ooi DJ, John A, et al. Colorectal Cancer: A Review of Carcinogenesis, Global Epidemiology, Current Challenges, Risk Factors, Preventive and Treatment Strategies. *Cancers* 2022;14(7):1732. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6694/14/7/1732/htm>
6. Alzahrani SM, Al Doghaither HA, Al-Ghafar AB. General insight into cancer: An overview of colorectal cancer (Review). *Mol Clin Oncol*. 2021;15(6):271. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34790355/>
7. Pan J, Cen L, Xu L, Miao M, Li Y, Yu C, et al. Prevalence and risk factors for colorectal polyps in a Chinese population: a retrospective study. *Sci Rep* [Internet]. 2020;10(1):6974. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32332839/>
8. Benson AB, Venook AP, Al-Hawary MM, Arain MA, Chen YJ, Ciombor KK, et al. Colon Cancer, Version 2.2021, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Cancer Netw*. 2021;19(3):329–59. Available from:

<https://jncn.org/view/journals/jncn/19/3/article-p329.xml>

9. Conteduca V, Sansonno D, Russi S, Dammacco F. Precancerous colorectal lesions (Review). *Int J Oncol*. 2013;43(4):973–84. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23900573/>
10. Yamane L, Scapulatempo-Neto C, Reis RM, Guimarães DP. Serrated pathway in colorectal carcinogenesis. *World J Gastroenterol*. 2014;20(10):2634. Available from: [/pmc/articles/PMC3949272/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23900573/)
11. Nguyen LH, Goel A, Chung DC. Pathways of Colorectal Carcinogenesis. *Gastroenterology*. 2020;158(2):291–302. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31622622/>
12. Liebl MC, Hofmann TG. The role of p53 signaling in colorectal cancer. *Cancers (Basel)*. 2021;13(9), 2125. Available from: [/pmc/articles/PMC8125348/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31622622/)
13. Michel M, Kaps L, Maderer A, Galle PR, Moehler M. The Role of p53 Dysfunction in Colorectal Cancer and Its Implication for Therapy. *Cancers* 2021, Vol 13, Page 2296. 2021;13(10):2296. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6694/13/10/2296/htm>
14. Nguyen LH, Goel A, Chung DC. Pathways of Colorectal Carcinogenesis. *Gastroenterology*. 2020 Jan 1;158(2):291–302.
15. Biller LH, Syngal S, Yurgelun MB. Recent advances in Lynch syndrome. *Fam Cancer*. 2019;18(2):211–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30627969/>
16. Harada S, Morlote D. Molecular Pathology of Colorectal Cancer. *Adv Anat Pathol*. 2020;27(1):20–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31503031/>
17. Weisenberger DJ, Siegmund KD, Campan M, Young J, Long TI, Faasse MA, et al. CpG island methylator phenotype underlies sporadic microsatellite instability and is tightly associated with BRAF mutation in colorectal cancer. *Nat Genet*. 2006;38(7):787–93. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16804544/>

18. Internacional Agency for Research on Cancer. Global Cancer Observatory: Cancer Today. Age standardized (World) incidence rates, colorectal cancer, males, all ages. Acedido em 05/03/2023; Available from: <https://gco.iarc.fr/today>
19. Portugal Source: Globocan Incidence, Mortality and Prevalence by cancer site.
20. Dekker E, Tanis PJ, Vleugels JLA, Kasi PM, Wallace MB. Colorectal cancer. *Lancet*. 2019;394(10207):1467–80. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)32319-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(19)32319-0)
21. Fitzmaurice C, Allen C, Barber RM, Barregard L, Bhutta ZA, Brenner H, et al. Global, Regional, and National Cancer Incidence, Mortality, Years of Life Lost, Years Lived With Disability, and Disability-Adjusted Life-years for 32 Cancer Groups, 1990 to 2015: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study. *JAMA Oncol*. 2017;3(4):524–48. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27918777/>
22. Doubeni CA, Major JM, Laiyemo AO, Schootman M, Zauber AG, Hollenbeck AR, et al. Contribution of behavioral risk factors and obesity to socioeconomic differences in colorectal cancer incidence. *J Natl Cancer Inst*. 2012;104(18):1353–62. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22952311/>
23. Keum NN, Giovannucci E. Global burden of colorectal cancer: emerging trends, risk factors and prevention strategies. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2019 1612. 2019;16(12):713–32. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41575-019-0189-8>
24. Mousavi SM, Fallah M, Sundquist K, Hemminki K. Age- and time-dependent changes in cancer incidence among immigrants to Sweden: colorectal, lung, breast and prostate cancers. *Int J cancer*. 2012;131(2), E122-E128. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22052616/>
25. Rossi M, Anwar MJ, Usman A, Keshavarzian A, Bishehsari F. Colorectal Cancer and Alcohol Consumption—Populations to Molecules. *Cancers (Basel)*. 2018;10(2). Available from: [/pmc/articles/PMC5836070/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30000000/)
26. Amitay EL, Carr PR, Jansen L, Roth W, Alwers E, Herpel E, et al. Smoking,

- alcohol consumption and colorectal cancer risk by molecular pathological subtypes and pathways. *Br J Cancer* 2020 12211. 2020;122(11):1604–10. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41416-020-0803-0>
27. Biller LH, Syngal S, Yurgelun MB. Recent advances in Lynch syndrome. *Fam Cancer*. 2019;18(2):211–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30627969/>
 28. Butterworth AS, Higgins JPT, Pharoah P. Relative and absolute risk of colorectal cancer for individuals with a family history: a meta-analysis. *Eur J Cancer*. 2006;42(2):216–27. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16338133/>
 29. Song M, Emilsson L, Roelstraete B, Ludvigsson JF. Risk of colorectal cancer in first degree relatives of patients with colorectal polyps: nationwide case-control study in Sweden. *BMJ*. 2021;373:877. Available from: <https://www.bmj.com/content/373/bmj.n877>
 30. Pereira C, Coelho R, Grácio D, Dias C, Silva M, Peixoto A, et al. DNA Damage and Oxidative DNA Damage in Inflammatory Bowel Disease. *J Crohn's Colitis*. 2016;10(11):1316–23. Available from: <https://academic.oup.com/ecco-jcc/article/10/11/1316/2479998>
 31. Pereira C, Grácio D, Teixeira JP, Magro F. Oxidative Stress and DNA Damage Implications in Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2015;21(10):2403–17. Available from: <https://academic.oup.com/ibdjournal/article/21/10/2403/4644927>
 32. John SKP, George S, Primrose JN, Fozard JBJ. Symptoms and signs in patients with colorectal cancer. *Color Dis*. 2011;13(1):17–25. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1463-1318.2010.02221.x>
 33. Aksan A, Farrag K, Aksan S, Schroeder O, Stein J. Flipside of the Coin: Iron Deficiency and Colorectal Cancer. *Front Immunol*. 2021 Mar 11;12:644.
 34. Tong GJ, Zhang GY, Liu J, Zheng ZZ, Chen Y, Niu PP, et al. Comparison of the eighth version of the American Joint Committee on Cancer manual to the seventh version for colorectal cancer: A retrospective review of our data. *World J Clin Oncol*. 2018;9(7):148. Available from:

/pmc/articles/PMC6230917/

35. Arrichiello G, Pirozzi M, Facchini BA, Facchini S, Paragliola F, Nacca V, et al. Beyond N staging in colorectal cancer: Current approaches and future perspectives. *Front Oncol.* 2022;12:3630.
36. Nagtegaal ID, Knijn N, Hugén N, Marshall HC, Sugihara K, Tot T, et al. Tumor deposits in colorectal cancer: Improving the value of modern staging-a systematic review and meta-analysis. *J Clin Oncol.* 2017 Apr 1;35(10):1119–27.
37. Veronese N, Nottegar A, Pea A, Solmi M, Stubbs B, Capelli P, et al. Prognostic impact and implications of extracapsular lymph node involvement in colorectal cancer: a systematic review with meta-analysis. *Ann Oncol.* 2016;27(1):42–8.
38. Kim CW, Kim J, Yeom SS, Lee JL, Yoon YS, Park IJ, et al. Extranodal extension status is a powerful prognostic factor in stage III colorectal cancer. *Oncotarget.* 2017;8(37):61393. Available from: /pmc/articles/PMC5617432/
39. Li H, Gong L, Cheng H, Wang H, Zhang X, Rao C, et al. Comprehensive Molecular Profiling of Colorectal Cancer With Situs Inversus Totalis by Next-Generation Sequencing. *Front Oncol.* 2022 Apr 20;12:1435.
40. Chen Y, Zheng X, Wu C. The Role of the Tumor Microenvironment and Treatment Strategies in Colorectal Cancer. *Front Immunol.* 2021 Dec 2;12:5133.
41. Huang Z, Yang M. Molecular Network of Colorectal Cancer and Current Therapeutic Options. *Front Oncol.* 2022;12:1360.
42. Molina-Cerrillo J, San Román M, Pozas J, Alonso-Gordoa T, Pozas M, Conde E, et al. BRAF Mutated Colorectal Cancer: New Treatment Approaches. *Cancers (Basel).* 2020;12(6):1–15. Available from: /pmc/articles/PMC7353017/
43. Kawakami H, Zaanán A, Sinicrope FA. Microsatellite instability testing and its role in the management of colorectal cancer. *Curr Treat Options Oncol.* 2015;16(7). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26031544/>
44. Al-Sohaily S, Biankin A, Leong R, Kohonen-Corish M, Warusavitarne J.

- Molecular pathways in colorectal cancer. *J Gastroenterol Hepatol.* 2012;27(9):1423–31. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1440-1746.2012.07200.x>
45. Guarini C, Grassi T, Pezzicoli G, Porta C. Beyond RAS and BRAF: HER2, a New Actionable Oncotarget in Advanced Colorectal Cancer. *Int J Mol Sci* 2021, Vol 22, Page 6813. 2021;22(13):6813. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/13/6813/htm>
 46. Mármol I, Sánchez-de-Diego C, Dieste AP, Cerrada E, Yoldi MJR. Colorectal Carcinoma: A General Overview and Future Perspectives in Colorectal Cancer. *Int J Mol Sci* 2017, Vol 18, Page 197. 2017;18(1):197. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/18/1/197/htm>
 47. Nygren P. What is cancer chemotherapy? *Acta Oncol (Madr).* 2001;40(2–3):166–74. Available from: <https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=ionc20>
 48. Cisterna BA, Kamaly N, Choi W Il, Tavakkoli A, Farokhzad OC, Vilos C. Targeted nanoparticles for colorectal cancer. *Nanomedicine (Lond).* 2016;11(18):2443–56. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27529192/>
 49. Konstantinov SM, Berger MR. Antimetabolites. *Encycl Mol Pharmacol.* 2008;147–52. Available from: https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007/978-3-540-38918-7_220
 50. Bharti AC, Vishnoi K, Singh SM, Aggarwal BB. Pathways Linked to Cancer Chemoresistance and Their Targeting by Nutraceuticals. *Role Nutraceuticals Cancer Chemosensitization Vol 2.* 2017;2:1–30.
 51. Nitiss JL, Kiianitsa K, Sun Y, Nitiss KC, Maizels N. Topoisomerase Assays. *Curr Protoc.* 2021;1(10), e250. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34606690/>
 52. Wang JC. Cellular roles of DNA topoisomerases: a molecular perspective. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002 36. 2002;3(6):430–40. Available from: <https://www.nature.com/articles/nrm831>

53. Zhang C, Xu C, Gao X, Yao Q. Platinum-based drugs for cancer therapy and anti-tumor strategies. *Theranostics*. 2022;12(5):2115. Available from: [/pmc/articles/PMC8899578/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38899578/)
54. Sazonova E V., Kopeina GS, Imyanitov EN, Zhivotovsky B. Platinum drugs and taxanes: can we overcome resistance? *Cell Death Discov* 2021 71. 2021 Jun 26;7(1):1–10. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41420-021-00554-5>
55. Chu E. Cancer Chemotherapy. In: Katzung BG, editor. *Basic & Clinical Pharmacology*. 14^a editio. Lange; 2018. p. 948–76.
56. Montgomery JA, Hewson K. Synthesis of Potential Anticancer Agents. X. 2-Fluoroadenosine. *J Am Chem Soc*. 1957;79(16):4559–60. Available from: <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/ja01573a087>
57. Mahapatra A, Prasad T, Sharma T. Pyrimidine: a review on anticancer activity with key emphasis on SAR. *Futur J Pharm Sci* 2021 71. 2021;7(1):1–38. Available from: <https://fjps.springeropen.com/articles/10.1186/s43094-021-00274-8>
58. Zhang N, Yin Y, Xu SJ, Chen WS. 5-Fluorouracil: mechanisms of resistance and reversal strategies. *Molecules*. 2008;13(8):1551–69. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18794772/>
59. Vodenkova S, Buchler T, Cervena K, Veskrnova V, Vodicka P, Vymetalkova V. 5-fluorouracil and other fluoropyrimidines in colorectal cancer: Past, present and future. *Pharmacol Ther*. 2020;206, 107447. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31756363/>
60. Longley DB, Harkin DP, Johnston PG. 5-fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies. *Nat Rev Cancer*. 2003;3(5):330–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12724731/>
61. Sethy C, Kundu CN. 5-Fluorouracil (5-FU) resistance and the new strategy to enhance the sensitivity against cancer: Implication of DNA repair inhibition. *Biomed Pharmacother*. 2021;137:111285.
62. Taflin H, Odin E, Carlsson G, Gustavsson B, Wettergren Y, Bexe Lindskog E.

- Increasing Dosage of Leucovorin Results in Pharmacokinetic and Gene Expression Differences When Administered as Two-Hour Infusion or Bolus Injection to Patients with Colon Cancer. *Cancers (Basel)*. 2023;15(1):258. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6694/15/1/258/htm>
63. Azwar S, Seow HF, Abdullah M, Jabar MF, Mohtarrudin N. Recent Updates on Mechanisms of Resistance to 5-Fluorouracil and Reversal Strategies in Colon Cancer Treatment. *Biol* 2021, Vol 10, Page 854. 2021;10(9):854. Available from: <https://www.mdpi.com/2079-7737/10/9/854/htm>
 64. Blondy S, David V, Verdier M, Mathonnet M, Perraud A, Christou N. 5-Fluorouracil resistance mechanisms in colorectal cancer: From classical pathways to promising processes. *Cancer Sci*. 2020;111(9):3142. Available from: [/pmc/articles/PMC7469786/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32664667/)
 65. Vodenkova S, Buchler T, Cervena K, Veskrnova V, Vodicka P, Vymetalkova V. 5-fluorouracil and other fluoropyrimidines in colorectal cancer: Past, present and future. *Pharmacol Ther*. 2020 Feb 1;206:107447.
 66. Lam SW, Guchelaar HJ, Boven E. The role of pharmacogenetics in capecitabine efficacy and toxicity. *Cancer Treat Rev*. 2016;50:9–22. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27569869/>
 67. Silvestris N, Maiello E, De Vita F, Cinieri S, Santini D, Russo A, et al. Update on capecitabine alone and in combination regimens in colorectal cancer patients. *Cancer Treat Rev*. 2010;36(SUPPL. 3):S46–55. Available from: <http://www.cancertreatmentreviews.com/article/S0305737210700207/fulltext>
 68. Kciuk M, Marciniak B, Kontek R. Irinotecan-Still an Important Player in Cancer Chemotherapy: A Comprehensive Overview. *Int J Mol Sci*. 2020;21(14):1–21. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32664667/>
 69. de Man FM, Goey AKL, van Schaik RHN, Mathijssen RHJ, Bins S. Individualization of Irinotecan Treatment: A Review of Pharmacokinetics, Pharmacodynamics, and Pharmacogenetics. *Clin Pharmacokinet*. 2018;57(10):1229–54. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29520731/>
 70. Bailly C. Irinotecan: 25 years of cancer treatment. *Pharmacol Res*. 2019 Oct

- 1;148:104398.
71. Shaojun C, Li H, Haixin H, Guisheng L. Expression of Topoisomerase 1 and carboxylesterase 2 correlates with irinotecan treatment response in metastatic colorectal cancer. *Cancer Biol Ther.* 2018;19(3):153–9. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/15384047.2017.1414754>
 72. Xu J, Huang Y, Zhao J, Wu L, Qi Q, Liu Y, et al. Cofilin: A Promising Protein Implicated in Cancer Metastasis and Apoptosis. *Front Cell Dev Biol.* 2021;9:599065. Available from: [/pmc/articles/PMC7890941/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34890941/)
 73. Di Francesco AM, Ruggiero A, Riccardi R. Cellular and molecular aspects of drugs of the future: oxaliplatin. *Cell Mol Life Sci.* 2002;59(11):1914–27. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12530522/>
 74. Kenny RG, Chuah SW, Crawford A, Marmion CJ. Platinum(IV) Prodrugs – A Step Closer to Ehrlich’s Vision? *Eur J Inorg Chem.* 2017 Mar 27;2017(12):1596–612.
 75. Zhang S, Lovejoy KS, Shima JE, Lagpacan LL, Shu Y, Lapuk A, et al. Organic cation transporters are determinants of oxaliplatin cytotoxicity. *Cancer Res.* 2006;66(17):8847–57. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16951202/>
 76. Alcindor T, Beauger N. Oxaliplatin: a review in the era of molecularly targeted therapy. *Curr Oncol.* 2011;18(1):18. Available from: [/pmc/articles/PMC3031353/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2131353/)
 77. Parmar A, Chan KKW, Ko YJ. Metastatic Colorectal Cancer: Therapeutic Options for Treating Refractory Disease. *Curr Oncol* 2019, Vol 26, Pages 24–32. 2019;26(s1):24–32. Available from: <https://www.mdpi.com/1718-7729/26/11/5575>
 78. Kish T, Uppal P. Trifluridine/Tipiracil (Lonsurf) for the Treatment of Metastatic Colorectal Cancer. *Pharm Ther.* 2016;41(5):314. Available from: [/pmc/articles/PMC4849340/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2689340/)
 79. Puthiamadathil JM, Weinberg BA. Cancer Management and Research Dovepress Emerging combination therapies for metastatic colorectal cancer-

- impact of trifluridine/tipiracil. *Cancer Manag Res.* 2017;9–461. Available from: <http://dx.doi.org/10.2147/CMAR.S113320>
80. Oti C, Mahendran M, Sabir N. Anaesthesia for laparoscopic surgery. *Br J Hosp Med (Lond).* 2016;77(1):24–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26903452/>
 81. Reza MM, Blasco JA, Andradas E, Cantero R, Mayol J. Systematic review of laparoscopic versus open surgery for colorectal cancer. *Br J Surg.* 2006 Aug;93(8):921–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16845692/>
 82. Zhou C, Wang Z, Jiang B, Di J, Su X. Monitoring Pre- and Post-Operative Immune Alterations in Patients With Locoregional Colorectal Cancer Who Underwent Laparoscopy by Single-Cell Mass Cytometry. *Front Immunol.* 2022;13:211.
 83. Wichmann MW, Hüttl TP, Winter H, Spelsberg F, Angele MK, Heiss MM, et al. Immunological effects of laparoscopic vs open colorectal surgery: a prospective clinical study. *Arch Surg.* 2005;140(7):692–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16027336/>
 84. Liu G, Zhang S, Zhang Y, Fu X, Liu X. Robotic Surgery in Rectal Cancer: Potential, Challenges, and Opportunities. *Options in Oncol.* 2022;23:961–79.
 85. Martin RF. Robotic Surgery. *Surg Clin North Am.* 2020;100(2):xiii–xiv.
 86. Benson AB, Al-Hawary MM, Azad N, Chen Y-J, Ciombor KK, Cohen S, et al. NCCN Guidelines Version 2.2023 Rectal Cancer Continue NCCN Guidelines Panel Disclosures. 2023; Available from: <https://www.nccn.org/home/member->
 87. Glynne-Jones R, Wyrwicz L, Tiret E, Brown G, Rö Del C, Cervantes A, et al. Rectal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up †. *ESMO Updat Clin Pract Guidel.* 2017;28:iv22–40.
 88. Cervantes A, Adam R, Roselló S, Arnold D, Le Kremlin-Bicêtre M, Kremlin-Bicêtre L. Metastatic colorectal cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up 5 behalf of the ESMO Guidelines Committee. *Ann Oncol.* 2023;34:10–32. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2022.10.003>

89. Gong L, Zhang Y, Liu C, Zhang M, Han S. Application of Radiosensitizers in Cancer Radiotherapy. *Int J Nanomedicine*. 2021;16:1083–102. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33603370/>
90. Xie YH, Chen YX, Fang JY. Comprehensive review of targeted therapy for colorectal cancer. *Signal Transduct Target Ther*. 2020;5(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41392-020-0116-z>
91. Purba ER, Saita EI, Maruyama IN. Activation of the EGF Receptor by Ligand Binding and Oncogenic Mutations: The “Rotation Model.” *Cells*. 2017 Jun 1;6(2). Available from: [/pmc/articles/PMC5492017/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33603370/)
92. García-Foncillas J, Sunakawa Y, Aderka D, Wainberg Z, Ronga P, Witzler P, et al. Distinguishing Features of Cetuximab and Panitumumab in Colorectal Cancer and Other Solid Tumors. *Front Oncol*. 2019 Sep 20;9:849.
93. Pauw I, Boeckx C, Wouters A. Mechanisms of cetuximab resistance and how to overcome it. *Crit Issues Head Neck Oncol Key Concepts from Seventh THNO Meet*. 2021;21–51. Available from: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-63234-2_3
94. Sung WJ, Kim D, Zhu A, Cho N, Yoo HM, Noh JH, et al. The lysosome as a novel therapeutic target of EGFR-mediated tumor inflammation. *Front Pharmacol*. 2022;13:4870.
95. Ohishi T, Kaneko MK, Yoshida Y, Takashima A, Kato Y, Kawada M. Current Targeted Therapy for Metastatic Colorectal Cancer. *Int J Mol Sci* 2023, Vol 24, Page 1702. 2023;24(2):1702. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/24/2/1702/htm>
96. Goulet DR, Chatterjee S, Lee WP, Waight AB, Zhu Y, Mak ANS. Engineering an Enhanced EGFR Engager: Humanization of Cetuximab for Improved Developability. *Antibodies*. 2022;11(1):6. Available from: <https://www.mdpi.com/2073-4468/11/1/6/htm>
97. Sethu S, Govindappa K, Alhaidari M, Pirmohamed M, Park K, Sathish J. Immunogenicity to biologics: mechanisms, prediction and reduction. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2012;60(5):331–44. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22930363/>

98. Fakih M, Vincent M. Adverse events associated with anti-EGFR therapies for the treatment of metastatic colorectal cancer. *Curr Oncol.* 2010;17(Suppl 1):S18. Available from: [/pmc/articles/PMC2901793/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26150735/)
99. Tay RY, Wong R, Hawkes EA. Treatment of metastatic colorectal cancer: focus on panitumumab. *Cancer Manag Res.* 2015 Jun 24;7:189–98. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26150735/>
100. Richman SD, Southward K, Chambers P, Cross D, Barrett J, Hemmings G, et al. HER2 overexpression and amplification as a potential therapeutic target in colorectal cancer: analysis of 3256 patients enrolled in the QUASAR, FOCUS and PICCOLO colorectal cancer trials. *J Pathol.* 2016;238(4):562–70. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26690310/>
101. Greally M, Kelly CM, Cercek A. HER2: An emerging target in colorectal cancer. *Curr Probl Cancer.* 2018 Nov 1;42(6):560–71.
102. Meric-Bernstam F, Hurwitz H, Raghav KPS, McWilliams RR, Fakih M, VanderWalde A, et al. Pertuzumab plus trastuzumab for HER2-amplified metastatic colorectal cancer (MyPathway): an updated report from a multicentre, open-label, phase 2a, multiple basket study. *Lancet Oncol.* 2019;20(4):518–30. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30857956/>
103. Giordano G, Remo A, Porras A, Pancione M. Immune Resistance and EGFR Antagonists in Colorectal Cancer. *Cancers* 2019, Vol 11, Page 1089. 2019;11(8):1089. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6694/11/8/1089/htm>
104. Zhou J, Ji Q, Li Q. Resistance to anti-EGFR therapies in metastatic colorectal cancer: underlying mechanisms and reversal strategies. *J Exp Clin Cancer Res* 2021 401. 2021;40(1):1–17. Available from: <https://jeccr.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13046-021-02130-2>
105. Al-Salama ZT. Encorafenib: A Review in Metastatic Colorectal Cancer with a BRAF V600E Mutation. *Drugs.* 2021;81(7):849–56. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40265-021-01501-5>
106. Zhao J, Luo Z. Discovery of Raf Family Is a Milestone in Deciphering the Ras-

- Mediated Intracellular Signaling Pathway. *Int J Mol Sci* 2022, Vol 23, Page 5158. 2022;23(9):5158. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/9/5158/htm>
107. Kopetz S, Grothey A, Yaeger R, Van Cutsem E, Desai J, Yoshino T, et al. Encorafenib, Binimetinib, and Cetuximab in BRAF V600E–Mutated Colorectal Cancer . *N Engl J Med*. 2019;381(17):1632–43. Available from: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1908075>
 108. Mazeda I, Martins SF, Garcia EA, Rodrigues M, Longatto A. VEGF Expression in Colorectal Cancer Metastatic Lymph Nodes: Clinicopathological Correlation and Prognostic Significance. *Gastrointest Disord* 2020, Vol 2, Pages 267-280. 2020;2(3):267–80. Available from: <https://www.mdpi.com/2624-5647/2/3/25/htm>
 109. Guba M, Seeliger H, Kleespies A, Jauch KW, Bruns C. Vascular endothelial growth factor in colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis*. 2004;19(6):510–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14999511/>
 110. Divella R, Daniele A, De Luca R, Simone M, Naglieri E, Savino E, et al. Circulating Levels of VEGF and CXCL1 Are Predictive of Metastatic Organotropism in Patients with Colorectal Cancer. *Anticancer Res*. 201;37(9):4867–71. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28870907/>
 111. Lopez A, Harada K, Vasilakopoulou M, Shanbhag N, Ajani JA. Targeting Angiogenesis in Colorectal Carcinoma. *Drugs*. 2019;79(1):63–74. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30617958/>
 112. Dakowicz D, Zajkowska M, Mroczko B. Relationship between VEGF Family Members, Their Receptors and Cell Death in the Neoplastic Transformation of Colorectal Cancer. *Int J Mol Sci*. 2022;23(6). Available from: </pmc/articles/PMC8952321/>
 113. Ellis LM. Mechanisms of Action of Bevacizumab as a Component of Therapy for Metastatic Colorectal Cancer. *Semin Oncol*. 2006 Oct 1;33(SUPPL. 10):S1–7.
 114. Mody K, Baldeo C, Bekaii-Saab T. Antiangiogenic therapy in colorectal

- cancer. *Cancer J (United States)*. 2018;24(4):165–70. Available from: https://journals.lww.com/journalppo/Fulltext/2018/07000/Antiangiogenic_Therapy_in_Colorectal_Cancer.3.aspx
115. Gambardella V, Tarazona N, Cejalvo JM, Roselló S, Cervantes A. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of ramucirumab in the treatment of colorectal cancer. <http://dx.doi.org/10.1517/1742525520161156084>. 2016;12(4):449–56. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1517/17425255.2016.1156084>
 116. Ciombor KK, Bekaii-Saab T. A Comprehensive Review of Sequencing and Combination Strategies of Targeted Agents in Metastatic Colorectal Cancer. *Oncologist*. 2018;23(1):25–34. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29021377/>
 117. Muro K, Salinardi T, Singh AR, Macarulla T. Safety of Aflibercept in Metastatic Colorectal Cancer: A Literature Review and Expert Perspective on Clinical and Real-World Data. *Cancers* 2020, Vol 12, Page 844. 2020;12(4):844. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6694/12/4/844/htm>
 118. Scartozzi M, Vincent L, Chiron M, Cascinu S. Aflibercept, a New Way to Target Angiogenesis in the Second Line Treatment of Metastatic Colorectal Cancer (mCRC). *Target Oncol*. 2016;11(4):489–500. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11523-016-0447-4>
 119. Elamarthi P. Regorafenib: A narrative drug review. *Cancer Res Stat Treat*. 2022;5(2):293. Available from: https://journals.lww.com/crst/Fulltext/2022/05020/Regorafenib__A_narrative_drug_review.19.aspx
 120. Dhillon S. Regorafenib: A Review in Metastatic Colorectal Cancer. *Drugs*. 2018;78(11):1133–44. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29943375/>
 121. Fondevila F, Méndez-Blanco C, Fernández-Palanca P, González-Gallego J, Mauriz JL. Anti-tumoral activity of single and combined regorafenib treatments in preclinical models of liver and gastrointestinal cancers. *Exp Mol*

- Med 2019 519. 2019;51(9):1–15. Available from: <https://www.nature.com/articles/s12276-019-0308-1>
122. Chen L, Han X. Anti-PD-1/PD-L1 therapy of human cancer: past, present, and future. *J Clin Invest.* 2015;125(9):3384–91. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26325035/>
 123. Pauken KE, Wherry EJ. Overcoming T cell exhaustion in infection and cancer. *Trends Immunol.* 2015;36(4):265–76. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25797516/>
 124. Havel JJ, Chowell D, Chan TA. The evolving landscape of biomarkers for checkpoint inhibitor immunotherapy. *Nat Rev Cancer.* 2019;19(3):133–50. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30755690/>
 125. Golshani G, Zhang Y. Advances in immunotherapy for colorectal cancer: a review. *Therap Adv Gastroenterol.* 2020;13. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3268115/>
 126. Le DT, Uram JN, Wang H, Bartlett BR, Kemberling H, Eyring AD, et al. PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency. *N Engl J Med.* 2015;372(26):2509–20. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26028255/>
 127. Ganesh K, Stadler ZK, Cercek A, Mendelsohn RB, Shia J, Segal NH, et al. Immunotherapy in colorectal cancer: rationale, challenges and potential. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2019;16(6):361. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3295073/>
 128. Patel S, Alam A, Pant R, Chattopadhyay S. Wnt Signaling and Its Significance Within the Tumor Microenvironment: Novel Therapeutic Insights. *Front Immunol.* 2019;10:2872.
 129. Liu J, Xiao Q, Xiao J, Niu C, Li Y, Zhang X, et al. Wnt/ β -catenin signalling: function, biological mechanisms, and therapeutic opportunities. *Signal Transduct Target Ther* 2021 71. 2022;7(1):1–23. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41392-021-00762-6>
 130. A Study of LGK974 in Patients With Malignancies Dependent on Wnt Ligands

- Tabular View - ClinicalTrials.gov. Acedido em 31/05/223 Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/record/NCT01351103>
131. Study Record | Beta ClinicalTrials.gov. Acedido em 31/05/2023. Available from: <https://www.clinicaltrials.gov/study/NCT03657641?intr=regorafenib+pembrolizumab&rank=1&tab=table>
 132. Shreve JT, Khanani SA, Haddad TC. Artificial Intelligence in Oncology: Current Capabilities, Future Opportunities, and Ethical Considerations. *Am Soc Clin Oncol Educ book Am Soc Clin Oncol Annu Meet.* 2022;42(42):1–10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/35687826>
 133. Luchini C, Pea A, Scarpa A. Artificial intelligence in oncology: current applications and future perspectives. *Br J Cancer* 2021 1261. 2021;126(1):4–9. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41416-021-01633-1>
 134. Farina E, Nabhen JJ, Dacoregio MI, Batalini F, Moraes FY. An overview of artificial intelligence in oncology. *Futur Sci OA.* 2022;8(4). Available from: </pmc/articles/PMC8965797/>
 135. Ogunwobi OO, Mahmood F, Akingboye A. Biomarkers in Colorectal Cancer: Current Research and Future Prospects. *Int J Mol Sci* 2020, Vol 21, Page 5311. 2020;21(15):5311. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/15/5311/htm>