

Anexa nr. 2 la H.S. nr. 160/17740/26.07.2023

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
“VICTOR BABEȘ” DIN TIMISOARA
FACULTATEA DE MEDICINĂ
Departamentul III ȘTIINȚE FUNCȚIONALE**

GEABĂ CLAUDIA



TEZĂ DE DOCTORAT

**MEDICAMENTE ANTIINFLAMATOARE NESTEROIDE CA TERAPII
REUTILIZATE ÎN BOLI MALIGNE – ACTIVITATE, SINERGISM ȘI
PROBLEME DE SĂNĂTATE PUBLICĂ**

R E Z U M A T

Conducător de doctorat:

Prof. univ. dr. Ursoniu Sorin

Timișoara

2024

REZUMAT

Medicamentele antiinflamatoare nesteroidiene (AINS) sunt un grup de medicamente utilizate în mod obișnuit pentru a reduce inflamația, durerea și febra. Acestea funcționează prin inhibarea enzimei ciclooxigenaza (COX), care joacă un rol crucial în producerea de prostaglandine, compuși chimici care contribuie la inflamație și durere.

Recent, a fost studiat potențialul AINS în tratamentul cancerului. Câteva puncte importante sunt următoarele: (i) *inflamația cronică și bolile maligne* – sunt disponibile dovezi care evidențiază faptul că, inflamația cronică poate contribui la dezvoltarea și progresia anumitor tipuri de cancer; AINS, prin reducerea inflamației, ar putea contribui la scăderea riscului de dezvoltare a cancerului sau la inhibarea progresiei acestuia; (ii) *studiile clinice* - unele studii au prezentat că utilizarea AINS, în special celecoxib, inhibitor selectiv de COX-2, poate avea efecte benefice la pacienții cu anumite tipuri de cancer, cum ar fi cancerul colorectal și cel mamar; astfel, aceste medicamente au fost studiate pentru potențialul lor de a îmbunătăți eficacitatea protocoalelor terapeutice bazate pe chimioterapie și radioterapie; (iii) *mecanisme de acțiune* - pe lângă capacitatea de inhibare a sintezei prostaglandinelor, AINS pot afecta și alte căi biologice relevante pentru dezvoltarea și progresia celulelor maligne, inclusiv inhibarea angiogenezei, proces prin care se formează de noi vase de sânge care hrănesc tumorile și modificarea apoptozei, adică moartea celulară programată; (iv) *efecte secundare și riscuri* – în ciuda faptului că, AINS pot oferi beneficii în contextul bolilor maligne, utilizarea acestora nu este lipsită de riscuri. Printre efectele secundare se numără cele legate de afectarea sistemelor gastrointestinal, cardiovascular și renal, fiind esențial ca utilizarea AINS în abordarea terapeutică a bolilor maligne să fie monitorizată de profesioniștii din domeniul sănătății și (v) *cercetarea în curs* - cercetarea științifică, continuă să determine cele mai eficiente scheme de tratament care includ AINS, precum și să identifice pacienții care ar putea beneficia cel mai mult de pe urma utilizării acestora.

Medicamentele antiinflamatoare nesteroidiene pot avea un rol important în tratamentul cancerului, cu potențialul de a reduce inflamația și de a îmbunătăți rezultatele terapiei. Cu toate acestea, sunt necesare studii suplimentare pentru a înțelege pe deplin efectele lor și pentru a stabili indicații clare pentru utilizarea lor în oncologie.

Lucrarea de față este structurată în conformitate cu normele de redactare a tezei de doctorat și cuprinde următoarele părți principale: partea generală, partea specială, principalele concluzii și contribuții personale și bibliografia. În partea generală, sunt discutate aspecte actuale legate de medicamentele antiinflamatoare nesteroidiene (AINS), bolile maligne ca problemă de sănătate publică și rolurile AINS în bolile maligne.

Tema de față este interdisciplinară și face parte din direcțiile de cercetare ale grupului de cercetare. Este oportun și are o importanță semnificativă la nivel local, regional, național și internațional.

Principalele obiective ale lucrării de față au fost:

- 1) Evaluarea efectelor exercitate de AINS în modelele preclinice și clinice de cancer de piele
- 2) Investigarea preclinică a efectelor exercitate de aspirină și combinațiile acesteia cu fisetina asupra celulelor melanomului malign
- 3) Investigarea, prin metode preclinice, a efectelor exercitate de aspirină și combinațiile acesteia cu genisteina asupra celulelor maligne de colon.

Medicamentele antiinflamatoare nesteroidiene (AINS) sunt o clasă de medicamente aprobate de Administrația SUA pentru Alimente și Medicamente (FDA). Sunt recunoscute ca agenți terapeutici care reduc inflamația, durerea și febra, cuprinzând în jur de 10% din toate medicamentele prescrise la nivel global în fiecare an. Aceste medicamente antiinflamatoare sunt utilizate în mod obișnuit pentru a trata o serie de afecțiuni de sănătate, inclusiv febră, migrene, dureri musculare, dureri acute și cronice, gută, colici biliare și ureterale și boli reumatologice. În plus, ele servesc ca agenți non-opioizi, în special în cazurile de traumă acută.

Contextul extins privind proprietățile farmacologice ale AINS (inclusiv efectele lor antiinflamatorii, antipiretice și analgezice) susțin eficacitatea și siguranța acestora atunci când sunt utilizate în conformitate cu ghidurile medicale. Cu toate acestea, utilizarea necorespunzătoare sau administrarea repetată poate duce la o varietate de efecte secundare, având un impact negativ asupra pacienților. Aceste efecte secundare includ toxicități gastrointestinale, renale, cardiace, hepatice, reproductive, neuronale, supradozaj, respiratorii și hematologice, precum și potențiale interacțiuni medicamentoase. În plus, AINS pot impune o povară financiară semnificativă asupra sistemului de sănătate și pot contribui la deteriorarea mediului, în special în ecosistemele acvatice.

Creșterea notabilă a utilizării AINS – atât ca medicamente prescrise, cât și prin automedicație – în anii pandemiei, împreună cu disponibilitatea lor ca produse fără prescripție medicală (OTC) în multe țări, a intensificat aceste efecte toxice. Incidența și severitatea complicațiilor legate de AINS au apărut ca o preocupare semnificativă de sănătate publică, necesitând strategii urgente care vizează creșterea gradului de conștientizare cu privire la efectele și riscurile asociate cu automedicația cu AINS, împreună cu un accent pe educarea pacientului.

Conceptul de reutilizare a medicamentelor, cunoscut și ca dezvoltarea de noi terapii bazate pe medicamente deja aprobate sau aflate în investigație, a câștigat un interes științific considerabil în ultimii ani. Această abordare se concentrează pe identificarea de noi ținte farmacologice care diferă de indicațiile clinice originale ale acestor medicamente. Mai multe beneficii susțin acest interes, inclusiv disponibilitatea datelor clinice și de toxicitate existente, care pot economisi timp în studierea efectelor medicamentelor, pot reduce costurile și pot folosi metode computaționale care ne îmbunătățesc înțelegerea perspectivelor mecaniciste. Reutilizarea medicamentelor a devenit deosebit de comună în cercetarea cancerului.

Medicamentele antiinflamatoare nesteroidiene (AINS) au mecanisme complexe de acțiune legate în principal de ciclooxygenază (COX). Aceste mecanisme pot fi împărțite în două categorii:

1. Mecanism dependent de COX: Acesta implică inhibarea sintezei prostaglandinelor, care este esențială în procesul inflamator.
2. Mecanism independent de COX: Aceasta include modularea receptorilor nucleari, inhibarea căilor cheie de semnalizare, cum ar fi MAPK și PI3K/AKT, suprimarea factorilor de transcripție precum AP-1 și NF-κB și inhibarea metaloproteinazelor matriceale, printre altele.

Aceste mecanisme diverse poziționează AINS drept candidați puternici pentru reutilizare în chimioprevenția și tratamentul cancerului. Studiile preclinice și epidemiologice au arătat rezultate promițătoare în ceea ce privește efectele AINS ca agenți chimioprevențivi în diferite tipuri de cancer, inclusiv cancerul colorectal, de prostată, gastric, de sân și de piele.

Strategiile de prevenire și tratament a cancerului de piele sunt deosebit de dificile din cauza diferiților factori care contribuie la dezvoltarea acestuia, inclusiv factorii de risc de mediu, genetici și comportamentali, împreună cu natura complexă și eterogenă a melanomului. Radiațiile ultraviolete (UV) sunt un factor principal în promovarea cancerului de piele,

deoarece induce leziuni ale ADN-ului în celulele pielii, suprimă sistemul imunitar și provoacă stres oxidativ, inflamație și modificări ale semnalizării micromediului.

Expunerea la UV activează calea de semnalizare a prostaglandinei E2 (PGE2) în celulele pielii, ducând la proliferarea și migrarea celulelor tumorale, care în cele din urmă contribuie la dezvoltarea și progresia tumorii. Sinteza PGE2 este reglată de enzima COX-2, ceea ce o face o țintă terapeutică promițătoare pentru prevenirea și tratamentul melanomului.

Studii recente au indicat că expresia COX-2 este crescută în leziunile de carcinom cu celule scuamoase (SCC), mai scăzută în carcinomul bazocelular (BCC) și semnificativ supraexprimată în melanom. Această supraexpresie este considerată un factor de prognostic negativ dependent de stadiu, deoarece joacă un rol în promovarea progresiei tumorii. În plus, COX-2 este implicat în diferite stadii de carcinogeneză, inclusiv angiogeneza, stabilindu-l în continuare ca o țintă biologică crucială pentru identificarea candidaților promițători pentru prevenirea și tratamentul cancerului de piele. În consecință, medicamentele antiinflamatoare nesteroidiene (AINS) apar ca unele dintre cele mai viabile opțiuni pentru reutilizarea medicamentelor în acest context.

În timp ce medicamentele antiinflamatoare nesteroidiene (AINS) oferă multiple beneficii terapeutice, în ultimii ani, comunitatea științifică se concentrează tot mai mult asupra gamei largi de efecte adverse asociate utilizării lor. Incidenta și severitatea acestor efecte adverse au crescut considerabil. Este important de subliniat faptul că administrarea pe termen scurt și dozele terapeutice de AINS sunt în general bine tolerate. Cu toate acestea, tratamentul cronic, dozele mari, utilizarea greșită și polifarmacia cresc semnificativ riscul de efecte adverse.

Printre cele mai frecvent analizate efecte adverse legate de utilizarea AINS sunt toxicitățile gastrointestinale, cardiovasculare, renale, hepatice și hematologice. În plus, au fost raportate și toxicități neuronale, respiratorii și reproductive.

Efectele nocive ale AINS sunt atribuite în mare măsură mecanismului lor de acțiune, în special în cazul AINS neselective care inhibă izoforma COX-1. Această enzimă joacă un rol crucial în protecția gastrică și renală, producția de mucus, agregarea trombocitelor și diferențierea macrofagelor.

Reutilizarea medicamentelor, cunoscută și sub denumirea de re poziționare a medicamentelor, a apărut ca o abordare rentabilă a dezvoltării medicamentelor care urmărește să identifice noi aplicații terapeutice pentru medicamentele existente, aprobate clinic și comercializate. Această

strategie a devenit din ce în ce mai populară pentru descoperirea de noi tratamente pentru diferite tipuri de cancer, inclusiv melanomul (MM).

Unul dintre cele mai timpurii exemple de reutilizare a medicamentelor implică aspirina (ASA), un salicilat antiinflamator nesteroidian cu o gamă largă de activități farmacologice, inclusiv efecte antipiretice, analgezice și antiplachetare. Investigațiile recente s-au concentrat asupra activității anti-neoplazice a ASA, cu mai multe studii care leagă în mod specific administrarea cronică de ASA cu un risc redus de a dezvolta cancer de piele.

Aspirina a demonstrat efecte anti-melanom prin mecanisme multiple, cum ar fi suprimarea formării coloniilor și a motilității celulare, inducerea toxicității mitocondriale și generarea de specii reactive de oxigen (ROS). Dincolo de proprietățile sale anticancerigene intrinseci, ASA a fost, de asemenea, evaluat în combinație cu diferite medicamente și compuși naturali (de exemplu, exemestan, cisplatină, 5-fluorouracil și genisteina) ca mijloc de îmbunătățire a rezultatelor terapeutice în tratamentul cancerului, cu rezultate promițătoare raportate în aceste studii.

Cancerul colorectal (CCR) este o patologie complexă influențată atât de factori nemodificabili legați de pacient (cum ar fi vârsta, predispoziția genetică și bolile inflamatorii intestinale), cât și factorii de mediu modificabili. Potrivit raportului GLOBOCAN 2022, CCR este primul cancer din România ca incidență, cu peste 13,500 de cazuri noi, și mortalitate, cu peste 7,300 de decese, afectând ambele sexe. Se situează pe locul al doilea ca tip de cancer cel mai frecvent diagnosticat la femei, după cancerul de sân.

În timp ce CCR se caracterizează în general printr-o progresie lentă, diagnosticarea tardivă contribuie la statutul său de a doua cauză principală de mortalitate legată de cancer și al treilea cel mai frecvent cancer la nivel global. Studii recente indică diferențe legate de sex în ratele de incidență a CRC între bărbați și femei. O incidență mai mare a CRC la bărbați a fost raportată la nivel mondial, aceste diferențe fiind atribuite unor factori precum dismorfismul sexual (inclusiv cromozomi sexuali, hormoni și răspunsul imun), precum și factori de risc de mediu, denumiți în mod colectiv ca expozom. Acest subiect a fost discutat amănunțit în diferite recenzii.

Dovezi consistente susțin potențialul anticancer și chimiopreventiv al aspirinei în diferite tipuri de cancer, inclusiv cancerul pulmonar, mamar, ovarian, stomacal și colorectal. Cu toate acestea, în 2022, studii recente cu privire la utilizarea aspirinei în doză mică ca agent profilactic pentru reducerea incidenței cancerului colorectal (CRC) a concluzionat că dovezile

sunt insuficiente. Acestea au sugerat că aspirina nu a avut un efect semnificativ asupra incidenței CRC. În consecință, activitatea chimiopreventivă a aspirinei rămâne un subiect de dezbatere și sunt necesare cercetări suplimentare pentru a clarifica rolul acesteia în prevenirea cancerului.

În ultimii ani, cercetătorii au explorat potențialele efecte sinergice ale diferitelor medicamente anticancer și ale compușilor naturali, cum ar fi 5-fluorouracil (5-FU) și genisteina, ca alternative chimiopreventive pentru cancerul colorectal (CRC). A existat chiar interes pentru combinarea aspirinei cu o dietă vegană, dând rezultate promițătoare. În plus, un studiu recent a examinat mai multe schele hibride bazate pe aspirină și genisteină pentru potențialul lor chemopreventiv în celulele tumorale colorectale, demonstrând un efect sinergic. Cu toate acestea, sunt necesare studii suplimentare pentru a clarifica mecanismele de protecție ale combinației aspirina-genisteină.

Cercetarea efectuată oferă o imagine de ansamblu cuprinzătoare asupra: (i) informațiilor existente privind potențialul chimiopreventiv și anticancer al AINS, inclusiv mecanismele de acțiune și efectele adverse asociate; (ii) efectele combinației aspirină-fisetin asupra celulelor melanomului; și (iii) efectele combinației aspirina-genisteină asupra celulelor de carcinom colorectal.

Cu toate acestea, investigații suplimentare sunt necesare pentru a umple aceste lacune de cunoștințe și pentru a înțelege mai bine mecanismele anticancer ale AINS, precum și rolul lor potențial ca agenți chimiopreventivi sau terapeutici în cancerul de piele.

Prezentul studiu a avut trei obiective specifice, iar pentru atingerea acestora au fost realizate mai multe activități de cercetare. Principalele obiective au fost următoarele:

1. Evaluarea efectelor exercitate de AINS în modelele preclinice și clinice de cancer de piele.
2. Investigarea preclinică a efectelor aspirinei și a combinațiilor acesteia cu fisetin asupra celulelor melanomului malign.
3. Investigarea preclinică a efectelor aspirinei și a combinațiilor acesteia cu genisteină asupra celulelor maligne de colon.

Toate cele trei obiective au fost atinse pe deplin, iar diseminarea rezultatelor obținute se regăsește în publicațiile autoarei în reviste indexate ISI cu factori de impact.

Principalele concluzii generale care pot fi trase sunt prezentate mai jos.

Primul obiectiv

AINS (medicamente antiinflamatoare nesteroidiene) sunt agenți antiinflamatori, antipiretici și analgezici bine stabiliți, cunoscuți pentru proprietățile lor farmacologice diverse, inclusiv pentru potențiale efecte anticanceroase, și sunt în general considerate sigure atunci când sunt utilizate în doze terapeutice. Cu toate acestea, există îngrijorare cu privire la incidența tot mai mare a efectelor adverse legate de utilizarea AINS. Factorii care contribuie includ disponibilitatea lor largă (fiind medicamente fără prescripție medicală în multe țări), polifarmacia (care duce la un risc crescut de interacțiuni medicament-medicament), utilizarea abuzivă și supradozajul. În consecință, sunt necesare strategii eficiente pentru a preveni sau a minimiza aceste evenimente evitabile, care pun o povară semnificativă asupra sistemelor de sănătate. Educarea publicului cu privire la efectele secundare ale AINS, combinată cu practici de prescriere mai prudente și îndrumări direcționate atât din partea personalului din domeniul sănătate, ar putea ajuta la reducerea incidenței reacțiilor adverse legate de AINS.

În ceea ce privește efectele antitumorale ale AINS, marea majoritate a datelor din literatura actuală oferă doar părți dintr-un mecanism derutant care rămâne în mare parte neexplorat. Direcțiile viitoare de cercetare ar putea investiga acest lucru în continuare. Rezultatele studiilor epidemiologice, ale studiilor randomizate, meta-analizelor și ale studiilor de cohortă care examinează potențialul AINS de a reduce riscul de cancer de piele rămân controversate. Aceste studii nu au stabilit definitiv o legătură directă între utilizarea AINS și un risc mai scăzut de cancer de piele, datorită numeroaselor variabile implicate, inclusiv cele legate de agentul terapeutic (fie că este utilizat singur sau concomitent, doză, durată etc.), factori (cum ar fi sexul, vârsta, condițiile preexistente), designul studiului, parametrii biochimici și biologici evaluați și metodele statistice utilizate.

Al doilea obiectiv

Aspirina (acidul acetilsalicilic) și genisteina sunt două substanțe care au câștigat atenția în cercetarea oncologică datorită potențialului lor de a influența procesele celulare implicate în dezvoltarea și progresia cancerului. Aspirina este binecunoscută pentru proprietățile sale antiinflamatorii și antitrombotice, în timp ce genisteina, o izoflavonă derivată din soia, este recunoscută pentru efectele sale antioxidante și anticancerigene. În cazul cancerului de piele, studii recente sugerează că aceste două substanțe pot avea efecte benefice, fie prin prevenirea apariției cancerului, fie prin limitarea progresiei acestuia. Aspirina a fost studiată pe larg pentru potențialul său în prevenirea și tratarea diferitelor tipuri de cancer, inclusiv cancerul

de piele. Principalele mecanisme prin care aspirina poate afecta cancerul de piele includ: (i) inhibarea Cox-2, (ii) efectele asupra celulelor tumorale, (iii) chimioprevenția. Genisteina, un compus natural din familia izoflavonelor, este cunoscut pentru efectele sale antioxidante, antiinflamatorii și anticancerigene. Noile descoperiri ale studiului actual au arătat că tratamentul combinat de aspirină (ASA) și fisetină (FIS) ar putea fi o alternativă complementară promițătoare pentru terapia melanomului malign (MM). Această combinație a demonstrat o citotoxicitate semnificativă, a indus caracteristici asemănătoare apoptotice și a suprimat motilitatea celulară în celulele melanomului A375 purtând mutația BRAFV600E. În plus, a arătat activitate anti-angiogenă în testul membranei corioalantoice (CAM) embrion de pui. Această cercetare servește ca o evaluare preclinică inițială a combinației ASA + FIS pentru potențiale aplicații în terapia MM, deschizând calea pentru investigații ulterioare în acest domeniu.

Atât aspirina, cât și compusul natural au demonstrat un potențial considerabil în prevenirea și tratamentul cancerului de piele, iar combinația lor ar putea reprezenta o strategie viitoare promițătoare. Efectele lor antiinflamatorii, antiproliferative și antiangiogenice pot contribui la limitarea dezvoltării și progresiei tumorilor cutanate. Cu toate acestea, sunt necesare studii suplimentare pentru a evalua eficacitatea și siguranța acestei combinații în mediile clinice, precum și pentru a înțelege mai bine mecanismele implicate.

Al treilea obiectiv

Descoperirile din studiile in vitro și in ovo sugerează că, combinația de ASA în doză mică (2.5 mM) și GEN (10-75 μ M) prezintă un efect citotoxic semnificativ dependent de doză asupra celulelor cancerului colorectal uman (HCT-116). Acest efect este semnificativ mai mare decât cel observat numai cu oricare dintre tratamente. Indicatorii cheie ai acestei citotoxicități includ:

- Scăderea viabilității celulare: Tratamentul combinat a dus la o reducere marcată a procentului de celule viabile.
- Modificări morfologice: S-au observat modificări notabile ale morfologiei celulare, inclusiv reorganizarea citoscheletului de actină și afectarea integrității nucleare.
- Confluență redusă: cultura celulară a prezentat o confluență celulară scăzută, indicând creșterea inhibată.
- Caracteristici apoptotice: Caracteristicile tipice apoptozei au fost prezente în celulele tratate.

În plus, tratamentul combinat a arătat un efect antimigrator, caracterizat prin suprimarea migrării celulelor canceroase și prin reglarea în jos a expresiilor ARNm pentru metaloproteinazele matriceale MMP-2 și MMP-9, care sunt implicate în invazia tumorii și metastaze. În plus, combinația a demonstrat efecte antiangiogenice în modelul cu membrană corioalantoică de pui (CAM), indicând potențialul său de a inhiba formarea de noi vase de sânge care alimentează tumorile.