

USO DE PROBIÓTICOS NO TRATAMENTO CÂNCER DE COLORRETAL: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA DE ATUALIZAÇÃO

Beatriz Tatiane Prado, Emili Cristina Pestana, Mikele dos Santos Ribeiro, Katia Aparecida da Silva Viegas, Gustavo Rossanezi, Thiago de Souza Candido.

e-mail: thiago.s.candido@gmail.com

Resumo: Neste artigo buscamos analisar os benefícios do uso de probióticos como terapia complementar em pacientes com câncer de colorretal (CCR) e como prevenção ao desenvolvimento deste tipo de câncer. Alterações na microbiota causadas por mudanças ambientais como hábitos alimentares, infecções podem promover doenças, como doenças inflamatórias intestinais e câncer. Bactérias como *Fusobacterium Nucleatum*, *Streptococcus Gallolyticus* e *Helicobacter Pylori* foram encontradas em tumores de câncer de colorretal humano. Nesta revisão discutimos a relação sobre o uso de probióticos para a melhoria da microbiota intestinal e sua ligação com o CCR e o uso do ctDNA como diagnóstico precoce.

Palavras-chave: Câncer de colorretal, Microbiota Intestinal, Probióticos, Marcadores Biológicos, Bactérias intestinais patogênicas, Disbiose intestinal, ctDNA.

Abstract: In this article, we seek to analyze the benefits of using probiotics as complementary therapy in patients with colorectal cancer (CCR) and as a prevention for the development of this type of cancer. Changes in the microbiota caused by environmental changes such as eating habits, infections can promote diseases such as inflammatory bowel disease and cancer. Bacteria such as *Fusobacterium Nucleatum*, *Streptococcus Gallolyticus* and *Helicobacter Pylori* have been found in human colorectal cancer tumors. In this review we discuss the relationship between the use of probiotics for the improvement of the intestinal microbiota and its link with CCR and the use of ctDNA as an early diagnosis.

Keywords: Colorectal cancer, Intestinal microbiota, Probiotics, Biological markers, Pathogenic bacteria intestinal, Dysbiosis intestinal, ctDNA.

1 INTRODUÇÃO

O câncer colorretal (CCR) é um dos cânceres mais comuns em todo o mundo, e as terapias atuais são pouco efetivas em eliminar as células tumorais, sendo ineficazes no tratamento de metástases de crescimento, oferecendo sobrevivência por alguns meses (MÁRMOL et al., 2017).

A má alimentação, alterações no DNA, polimorfismos genéticos, entre outros, podem ser alguns dos fatores para o desenvolvimento de CCR. Uma vez desenvolvido, o câncer colorretal possui uma evolução silenciosa e normalmente seu diagnóstico é tardio, devido ao período em que as lesões permanecem assintomáticas. Quanto mais precocemente é diagnosticado, maiores as chances de cura da doença (KOLIARAKIS et al., 2018).

Embora a microbiota intestinal certamente desempenhe um papel essencial na homeostase humana e doenças, este ecossistema tem sido mal descrito e sua diversidade permanece inadequadamente determinada, tanto em seu conjunto como em suas possíveis diferenças entre as regiões do cólon. A presença de disbiose microbiana em pacientes com CCR foi demonstrado, embora o mecanismo detalhado permaneça indefinido. É sabido que o *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) geralmente está relacionada a câncer gástrico, pois estudos recentes indicaram que pacientes apresentando soro positividade para *H. pylori* (CagA), tiveram risco de CCR aumentado (KOLIARAKIS et al., 2018).

Os probióticos podem ser usados na promoção da saúde possuindo capacidade de prevenir ou tratar diferentes doenças, incluindo alguns tipos de câncer como o CCR (SO et al., 2017).

Estudos indicaram o papel antiproliferativo dos extratos citoplasmáticos de *Lactobacillus rhamnosus* cepa GG (LGG) em células de câncer gástrico humano e células de câncer de cólon, enquanto outro produto probiótico chamado *Bifidobacterium adolescentis* SPM0212 inibiu a proliferação de três linhas de células de câncer de cólon humano, incluindo HT-29, SW 480 e Caco-2 (YU e LI, 2016).

Nesse estudo, objetivou-se estabelecer os benefícios do uso de probióticos como terapia adjuvante em pacientes com câncer de colorretal, bem como mostrar a causa da patogenicidade do CCR correlacionado com a microbiota intestinal e os recursos para diagnosticá-lo.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Aspectos gerais

O câncer colorretal é o segundo tipo de câncer que mais acomete mulheres no Brasil, apesar de ser mais comum em pessoas acima de 50 anos, ele também pode ser diagnosticado em jovens adultos, obesidade, má alimentação e tabagismo estão entre as principais causas da doença. Já os probióticos são micro-organismos vivos benéficos à saúde, equilibrando a flora intestinal e inibindo a ação das bactérias patógenas em nosso intestino, reduzindo a probabilidade de originar um câncer colorretal.

2.2. Levantamento bibliográfico

Para abordar os temas supracitados foram desenvolvidas estratégias de pesquisa através de um levantamento bibliográfico e seleção dos artigos. Para isto, tal estratégia foi base-

ada na escolha de palavras-chaves relacionadas ao tema proposto. Foram eleitas ao todo seis palavras que serviram como direcionamento das pesquisas sobre a patologia do câncer de colorretal e mecanismos relacionados com a patologia. A busca desses artigos foi realizada em uma base de dados contendo artigos científicos (PubMed), restringido a uma linha temporal de artigos publicados nos últimos 10 anos. Foram selecionados criteriosamente 5 artigos de cada palavra-chave e em seguida foram elencadas a quantidade de resultados obtidos, artigos utilizados e excluídos no trabalho (Tabela 1).

Tabela 1. Palavras chaves e resultados numéricos de artigos elencados

Palavra-chave	N° Resultado	N° escolhidos	N° excluídos	N° utilizados
Colorectal cancer	183.704	5	183.699	2
Intestinal microbiota	75.313	5	75.308	1
Probiotics	7.508	5	7.503	5
Biological markers	102.106	5	102.101	5
Pathogenic bactéria intestinal	4.810	5	4.805	3
Dysbiosis intestinal	12.231	5	12.226	2
ctDNA	1.359	5	1.354	3

Fonte: Compilação do próprio autor.

2.3. Critérios de inclusão e exclusão

A execução da escolha dos artigos selecionados para o desenvolvimento da base de banco de dados levou em consideração a leitura e entendimento do título e dos resumos dos artigos pesquisados e uma análise preliminar sobre o que estaria sendo apresentado pelo artigo de forma que se encaixasse nos critérios do tema proposto. Mesmo com o uso de palavras chaves direcionando as pesquisas na base de dados, ainda houve uma quantidade exorbitante de resultados, sendo impossível que todos pudessem ser analisados. Por tanto os critérios de inclusão e exclusão dos artigos foram baseados na leitura dos títulos e análise de resumos, isso possibilitou a escolha de artigos com alguma relação com a patologia do câncer de colorretal. Os outros artigos que não foram utilizados não abordavam informações relevantes relacionadas ao tema, ou não foi possível analisar.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. Câncer de colorretal

O câncer colorretal (CCR) é um dos cânceres mais comuns em todo o mundo, entre um e dois milhões de novos casos diagnosticados a cada ano, tornando o CCR o terceiro câncer mais comum e a quarta causa mais comum de morte relacionada ao câncer, com 700.000 mortes por ano, superado apenas pelos cânceres de pulmão, fígado e estômago. Por gênero, CCR é o segundo mais comum câncer em mulheres (9,2%) e o terceiro em homens (10%). A maioria dos casos de CCR são detectados em países ocidentais (55%), mas essa tendência está mudando devido ao rápido desenvolvimento de alguns países nos últimos anos (MÁRMOL *et al.*, 2017).

Considerando que a grande maioria de cânceres primários podem ser extirpados por ressecção cirúrgica, apenas uma fração dos pacientes com diagnóstico de câncer metastático podem ser curados por cirurgia. Cerca de 20% dos pacientes com CCR apresentam metástases no momento do diagnóstico (estágio IV). Além disso, 35-45% dos pacientes com doença localizada (estágios II e III) sucumbem à recorrência dentro de 5 anos após a cirurgia. A maioria dessas recaídas ocorrem como metástases e são causadas por células tumorais residuais que se espalharam para outros órgãos antes da cirurgia. Claramente, as terapias sistêmicas atuais falham em eliminar as células tumorais latentes disseminadas e são igualmente ineficazes no tratamento de metástases de crescimento, oferecendo benefícios de sobrevivência de apenas alguns meses. A metástase no caso de pacientes com CCR envolve principalmente o fígado e os pulmões (TAURIELLO *et al.*, 2016).

Mutações em genes específicos podem levar ao aparecimento de câncer colorretal, como acontece em outros tipos de câncer. Essas mutações podem apresentar-se em oncogenes, genes supressores de tumor e genes relacionados a mecanismos de reparo de DNA. Dependendo da origem da mutação, os carcinomas colorretais podem ser classificados como esporádicos, hereditários e familiares (MÁRMOL *et al.*, 2017).

Mutações pontuais, que aparecem durante a vida, não estão associadas a síndromes hereditárias e apenas afetam células individuais e seus descendentes. Cânceres derivados de mutações pontuais são denominados de esporádicos, e são responsáveis por 70% de todos os cânceres colorretais. A patogênese molecular do câncer esporádico é heterogênea, pois as mutações podem ter como alvo diferentes genes. No entanto, cerca de 70% dos casos de CCR seguem uma sucessão específica de mutações que é então traduzida em uma sequência morfológica específica, começando com a formação de um adenoma e terminando no estado de carcinoma (MÁRMOL *et al.*, 2017).

Os cânceres hereditários respondem por apenas 5% de todos os casos de CCR. Esses cânceres são causados por doenças hereditárias, mutações que afetam um dos alelos do gene mutado, o que significa que uma mutação pontual em o outro alelo desencadeará o aparecimento da célula tumoral e, posteriormente, o carcinoma (MÁRMOL *et al.*, 2017).

A fim de gerar uma classificação mais precisa dos cânceres hereditários, foram estabelecidos dois grupos, polipose e formas de não polipose. A variante de polipose envolve principalmente a família polipose adenomatosa (FAP), que se caracteriza pela formação de múltiplos potencialmente pólipos malignos no cólon. Em contraste, câncer colorretal hereditário sem polipose (HNPCC) está relacionado a mutações nos mecanismos de reparo do DNA. A principal causa do HNPCC é a síndrome de Lynch, que é causada por mutações herdadas em um dos alelos que codificam para proteínas de reparo de DNA, como MSH2, MLH1, MLH6, PMS1 e PMS2. A síndrome de Lynch pode ser encontrada em 2% a 3% de todos os casos de câncer e, portanto, é a síndrome mais comum no grupo HNPCC. O câncer colorretal familiar é responsável por aproximadamente 25% de todos os casos e também é causado por mutações hereditárias, embora não sejam classificados como cânceres hereditários (MÁRMOL *et al.*, 2017).

Em todo o mundo, a probabilidade de sofrer de câncer colorretal é de cerca de 4% a 5%. Além disso, muitos traços ou hábitos pessoais são considerados fatores de risco, pois aumentam as chances de desenvolver pólipos ou câncer colorretal (MÁRMOL *et al.*, 2017). O principal fator de risco para câncer colorretal é a idade: após a quinta década de vida, o risco de desenvolver o CCR está acentuadamente aumentado, enquanto o aparecimento de câncer colorretal abaixo dos cinquenta anos é raro (além de cânceres hereditários). Além da idade, existem outros fatores de risco inerentes que não pode ser modificado. Uma história pessoal de câncer colorretal ou doença inflamatória intestinal (DII), o risco em pacientes com colite ulcerosa é aumentado em 3,7%, enquanto as pessoas que sofrem de doença de Crohn tem um risco 2,5% maior de desenvolver câncer colorretal. A inflamação crônica encontrada na DII frequentemente produz um efeito anormal crescimento celular conhecido como displasia. Embora as células displásicas ainda não sejam malignas, elas têm mais chances de se tornar anaplásico e evoluir para um tumor. Outro fator de risco que pode ser incluído neste grupo está a presença de história familiar positiva de CCR em parentes, especialmente aqueles

parentes menos de cinquenta anos de idade no momento do diagnóstico. Um risco aumentado devido à história familiar pode ser derivado de mutações herdadas ou o ambiente (MÁRMOL *et al.*, 2017).

Outros fatores de risco estão relacionados ao estilo de vida, podendo ser reduzidos com a implementação de modestas mudanças em hábitos alimentares e de atividade física. Por exemplo, um estilo de vida sedentário pode aumentar o risco de desenvolver câncer colorretal, embora esta relação entre câncer colorretal e inatividade não está completamente definido. No entanto, está provado que a atividade física moderada aumenta as taxas metabólicas e a motilidade intestinal e, a longo prazo, aumenta a eficiência metabólica e reduz a pressão arterial. O sedentarismo também está relacionado à obesidade, outro importante fator de risco para o câncer colorretal. Notavelmente, este risco aumentado está ligado tanto à ingestão de alimentos quanto ao aumento dos níveis de gordura no tecido visceral (VAT), um componente hormonalmente ativo da gordura corporal total que pode promover o desenvolvimento de câncer colorretal através da secreção de citocinas pró-inflamatórias, o que leva a um processo inflamatório no cólon e reto, resistência à insulina e modulação de enzimas metabólicas, como adiponectina ou lectina. A dieta está fortemente ligada ao risco de câncer colorretal, hábitos alimentares não saudáveis aumentam as chances de desenvolver câncer colorretal em até 70% (MÁRMOL *et al.*, 2017).

Por exemplo, a carne vermelha libera grupos heme no intestino, que aumentam a formação de substâncias cancerígenas. Compostos N-nitroso, bem como aldeídos citotóxicos e genotóxicos por lipoperoxidação e a carne cozida em altas temperaturas produz aminas heterocíclicas e hidrocarbonetos policíclicos após a digestão, os quais são considerados cancerígenos. Além disso, fumar e o consumo de álcool também demonstrou aumentar o risco de CCR. No caso do consumo de álcool o acetaldeído (o principal metabólito do etanol) foi descrito como cancerígeno por aumentar o risco de desenvolver câncer colorretal entre as populações dependendo dos polimorfismos do álcool e enzimas do metabolismo. No entanto, a relação entre o consumo de álcool e CCR ainda não foram totalmente elucidados. O tabagismo, por sua vez, pode aumentar as chances de sofrer de CCR em até 10,8% devido ao alto teor de carcinógenos, como a nicotina, os metabólitos podem atingir facilmente o intestino e gerar pólipos. Embora fumar aumente o risco de CCR, uma relação significativa só foi encontrada para fumantes de longo prazo (MÁRMOL *et al.*, 2017).

Por outro lado, o papel dos probióticos na prevenção do câncer colorretal por meio da alteração da microbiota intestinal e seus possíveis mecanismos imunomoduladores e sua eficácia da terapia do câncer necessita de mais investigações, incluindo ensaios clínicos e estudos de modelos animais, uma vez que nem todos os probióticos têm os mesmos efeitos. Embora a eficácia dos probióticos tenha sido comprovada por meio de muitos estudos clínicos e também de experimentos com animais, ainda há muito a ser aprendido. O estudo de ensaios clínicos mostrou que a ingestão de simbióticos resultou em uma mudança significativa na microbiota intestinal em pacientes com câncer colorretal, com aumento de *Lactobacillus* (KIM *et al.*, 2019).

3.2. Biomarcadores tumorais

Biomarcadores podem ser definidos de acordo com suas aplicações, podendo atender a vários critérios, são indicadores de processos biológicos normais, processos patogênicos ou respostas a uma exposição ou intervenção que podem ser derivados de características moleculares, histológicas, radiográficas ou fisiológicas sendo importante desenvolver evidências para cada definição que especificam seus usos particulares (CALIFF, 2018).

São classificados pela fisiopatologia da desordem ou doença, pelo mecanismo de ação da intervenção e pela natureza da medição (ARONSON e FERNER, 2017), e em categorias sorológicas, fecais e diversas (DESAI *et al.*, 2006). Estão envolvidos em diversos processos celulares incluindo a regulação do ciclo celular, morte e apoptose, transdução de sinal, adesão celular e angiogênese (LOPERGOLO *et al.*, 2009).

Podem ser divididos de acordo com o nível em que eles ocorrem, tais como molecular, celular, tecido, órgão e de acordo com a forma que se relacionam com a suscetibilidade de fatores, patologia primária ou secundária, ou complicações da doença (ARONSON e FERNER, 2017).

São usados na previsão de uma recaída (DESAI *et al.*, 2006), para triagem, caracterização, descarte, diagnóstico, organização e monitoramento de doenças; informação do prognóstico; individualizar intervenções terapêuticas por monitorando das respostas às terapias ou prevendo resultados em resposta a eles; prever reações adversas, orientar o tratamento da toxicidade de medicamentos e identificar tipos de células (ARONSON e FERNER, 2017).

Os biomarcadores podem estar presentes dentro das células cancerosas ou ser extracelulares. Se os marcadores estiverem dentro das células tumorais, eles precisam

ser coletados e enriquecidos (se a concentração for muito baixa) com as células que precisam ser lisadas para liberar os biomarcadores antes da análise (TOTHILL, 2009).

Alguns antígenos associados a tumores têm sido usados como biomarcadores para o diagnóstico de câncer compreendendo moléculas celulares que podem ser detectadas em células tumorais, sangue, urina ou outros fluidos corporais que são expressos devido ao aparecimento e crescimento do câncer (TOTHILL, 2009).

Segundo TOTHILL, 2009, algumas modificações de DNA, RNA, proteínas (enzimas e glicoproteínas), hormônios e moléculas relacionadas, moléculas do sistema imunológico, oncogênese e outras moléculas modificadas são usados como biomarcadores tumorais e, vários genes foram associados a cânceres específicos e podem ser classificados como predições precisas de risco.

Os cânceres hereditários, como o câncer colorretal, há mutações nos genes HNPCC ou FAP (TOTHILL, 2009) e os biomarcadores clínicos como Tiroxina / TSH, HbA1c, Taxa de fluxo expiratório máximo (PEFR), Eletrólitos séricos têm as vantagens de ser mais simples e menos caros para medir e podem ser analisados repetidamente e por um período mais curto de tempo e com menos indivíduos (ARONSON e FERNER, 2017).

3.3. Uso do ctDNA como diagnóstico precoce do câncer de colorretal

É importante identificar biomarcadores baseados em tecido antes do tratamento para prever o prognóstico e eficácia da terapia sistêmica no câncer colorretal metastático (mCCR). Apesar dos biomarcadores de tecido ser úteis para estimar o prognóstico e prever a resposta terapêutica, um novo conceito de diagnóstico conhecido como "biópsia líquida" tem chamado a atenção nos últimos anos. A biópsia líquida é definida como um método minimamente invasivo para detectar vários fatores solúveis, como o DNA tumoral circulante (ctDNA), células tumorais circulantes e exossomos usando fluidos corporais (OSUMI *et al.*, 2020) como urina, saliva, expectoração, fezes, líquido pleural e líquido cefalorraquiano (LCR), além de amostras sanguíneas (CHAKRABARTI *et al.*, 2020).

Os ctDNAs são fragmentos de DNA de fita simples ou dupla que são liberados pelas células neoplásicas por decorrência de apoptose, necrose, fagocitose e carreados por exossomos (CHAKRABARTI *et al.*, 2020). As concentrações de ctDNA podem mudar de acordo com as comorbidades, como distúrbio cerebrovascular ou condição física, e sua depuração ocorre em órgãos como rim, fígado e baço e sua meia-vida é

aproximadamente de vários minutos a horas, sugerindo que a análise do ctDNA pode representar uma carga tumoral em tempo real (OSUMI *et al.*, 2020). A análise de ctDNA é um método não invasivo de avaliar o perfil genômico de um paciente com câncer. Dado os muitos usos propostos de ctDNA em pacientes com CCR, há uma necessidade de integração do ctDNA nos cuidados de pacientes com CCR (DASARI *et al.*, 2020).

Atualmente, o tratamento do câncer de colorretal é baseado na ressecção cirúrgica em estágio de tumor primário e colônico, juntamente com os linfonodos regionais e quimioterapia adjuvante (ACT) em pacientes com recorrência. O biomarcador ctDNA pode ser de grande valor para monitorar a resposta do tumor, uma evolução da estratégia de tratamento para pacientes com câncer de cólon em estágio inicial. O monitoramento em série do ctDNA pode fornecer informações valiosas sobre a eficácia da ACT (CHAKRABARTI *et al.*, 2020).

Um estudo relatado por OSUMI *et al.*, 2020 mostra o ctDNA como biomarcador para a detecção de MRD (doença residual mínima) em pacientes com estágio I a III CCR, sugerindo que o ctDNA pode ser útil para avaliar o risco de recorrência pós-operatória, monitorar a eficácia da quimioterapia adjuvante, e como um biomarcador para a detecção precoce de recorrência em pacientes com CCR após ressecção curativa. O ctDNA pode melhorar os resultados do tratamento ajudando a administrar um tratamento mais intensivo a pacientes com MRD (doença residual mínima) com risco aumentado de recidiva (OSUMI *et al.*, 2020) por estarem sendo usados como um biomarcador substituto (CHAKRABARTI *et al.*, 2020).

O ctDNA é valioso para controle da resposta ao tratamento (NEUMANN *et al.*, 2018), reduz o número de pacientes necessários para tratar, a duração do monitoramento de acompanhamento (DASARI *et al.*, 2020), orientação da escolha do mais apropriado tratamento de quimioterapia, prevenção da recorrência precoce, resposta quimioterápica e resistência (OSUMI *et al.*, 2020).

Os estudos relatados por CHAKRABARTI *et al.*, 2020 relata que o ctDNA supera fatores de risco clínico-patológicos existentes como um biomarcador prognóstico e, a maioria dos pacientes com ctDNA detectável após a conclusão da terapia definitiva, teve uma recorrência do câncer, sugerindo um alto grau de especificidade dos ensaios de ctDNA. Para o câncer de colorretal, a taxa de detecção de ctDNA varia de 73% na

doença localizada e aproximadamente 100% na doença metastática (CHAKRABARTI *et al.*, 2020).

3.4. Microbiota gastrointestinal

Aproximadamente 100 trilhões de microrganismos (incluindo bactérias, vírus e fungos) residem no intestino humano adulto e constituem a microbiota. A composição é bastante estável ao longo do comprimento do intestino, mas o número absoluto de microrganismos varia consideravelmente entre a boca e o reto. Ela se difere consistentemente entre os indivíduos. É adquirida durante as primeiras fases da vida através da flora comensal da pele, vagina e fezes da mãe e amadurece principalmente durante os primeiros dois anos. O desenvolvimento da microbiota é o resultado das interações entre os processos fisiológicos no hospedeiro e os microrganismos que são introduzidos do meio ambiente. Após os estágios iniciais, se estabiliza e mantém uma composição consistente, apesar de algumas flutuações ao longo da idade adulta em resposta a eventos ambientais, de desenvolvimento e patológicos. Em idosos, a composição muda gradualmente, mas pode manter funções fisiológicas semelhantes. A aquisição precoce de uma microbiota diversa e equilibrada é provavelmente crítica para o desenvolvimento e maturação de um sistema imunológico saudável, como sugerido por anormalidades imunológicas em animais livres de germes criados em condições livres de bactérias. O cólon é colonizado por aproximadamente 10/3 diferentes espécies microbianas e esta microbiota colônica é principalmente representada por bactérias. Na verdade, o cólon contém aproximadamente 10/14 bactérias (70% dos microrganismos do hospedeiro) (GAGNIÈRE *et al.*, 2016).

A microbiota intestinal constitui uma barreira defensiva natural à infecção. Além disso, a microbiota está envolvida em vários papéis protetores, estruturais e metabólicos no epitélio intestinal e desempenha um grande papel na manutenção da homeostase intestinal (GAGNIÈRE *et al.*, 2016).

Ela também está envolvida nas funções metabólicas. Por exemplo, a microbiota pode participar da fermentação anaeróbica de carboidratos por meio da produção de CO₂, H₂, CH₄ e ácidos graxos de cadeia curta (por exemplo, butirato, propionato e acetato); e fermentação proteolítica via metabólitos, tais como compostos fenólicos, aminas, amônia, compostos N-nitroso e indóis. Esses efeitos podem impactar na expressão gênica, diferenciação e proliferação de células epiteliais intestinais, e podem

mediar a síntese de vitaminas, absorção de íons e produção de muco. Esta atividade metabólica complexa também aumenta o rendimento e armazenamento de energia de fontes dietéticas, regula o armazenamento de gordura, ajuda a fornecer substratos absorvíveis para o hospedeiro e a microbiota e está envolvida no crescimento e proliferação bacteriana. Alguns dos metabólitos produzidos, especialmente durante a fermentação proteolítica, podem ser tóxicos para o hospedeiro (GAGNIÈRE *et al.*, 2016).

Além das funções imunológicas, estruturais e metabólicas, a microbiota comensal inibe a colonização intestinal de patógenos intrusos e garante “resistência à colonização” ou “interferência microbiana”. Os mecanismos envolvidos nesses efeitos permanecem obscuros, mas provavelmente envolvem competição com receptores de adesão, estabilização da barreira da mucosa intestinal, competição por nutrientes e produção de substâncias antimicrobianas. De fato, alterações na resistência à colonização devido a, por exemplo, patógenos ou tratamento com antibióticos, provavelmente aumentam o risco de doenças gastrointestinais (GAGNIÈRE *et al.*, 2016).

A variabilidade geográfica da incidência de CCR sugere fortemente o envolvimento de certos fatores de risco ambientais, como dietas ricas em gordura, obesidade ou viver em um país ocidental. Além disso, a hipótese de dois acertos de Knudson sugere que os fatores do hospedeiro desempenham um papel importante na predisposição à carcinogênese. Nesse cenário, um segundo impacto ambiental pode levar à proliferação celular descontrolada. De fato, cada vez mais tem sido dada atenção ao papel da infecção microbiana na carcinogênese nas últimas décadas, e suspeita-se que os micróbios estejam envolvidos em aproximadamente 20% dos cânceres, especialmente o CCR. Em relação aos cânceres digestivos, mesmo que alguns patógenos, como *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) foram direta e fortemente ligados ao câncer gástrico, a possível causa infecciosa no CCR permanece controversa. Está se tornando cada vez mais claro, entretanto, que os patógenos desempenham um papel na carcinogênese colorretal. Curiosamente, os níveis de bactérias no cólon são um milhão de vezes maiores do que no intestino delgado, e aproximadamente 12 vezes mais cânceres se desenvolvem no primeiro do que no último, sugerindo um papel potencial da microbiota intestinal na carcinogênese colorretal. A primeira observação ligando a microbiota intestinal com CCR foi relatada em 1975 em ratos livres de germes que desenvolveram menos tumor colorretal quimicamente induzido do que ratos convencionais. Esses

resultados foram reproduzidos em camundongos predispostos a CCR (GAGNIÈRE *et al.*, 2016).

Ao contrário da carcinogênese gástrica, que parece resultar de um único patógeno, as seguintes hipóteses diferentes surgiram para explicar a contribuição das bactérias para o CCR: (1) uma comunidade microbiana disbiótica com características pró-carcinogênicas é capaz de remodelar o microbioma como um todo para conduzir respostas pró-inflamatórias e transformação de células epiteliais, levando ao câncer; e (2) a teoria do "motorista-passageiro", em que as bactérias intestinais, denominadas "bactérias motoras", iniciam o CCR induzindo danos ao DNA epitelial e tumorigênese, por sua vez promovendo a proliferação de bactérias passageiras que têm uma vantagem de crescimento no microambiente tumoral. Estudos em modelos de camundongos de respostas imunes e inflamatórias alteradas sugerem que a disbiose pode ser suficiente para promover o câncer (GAGNIÈRE *et al.*, 2016).

O *H. pylori* tem sido direta e fortemente relacionado ao câncer gástrico e recentemente foi classificado como carcinógeno do trato gastrointestinal pela Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer. O papel do *H. pylori* na carcinogênese colorretal permanece controverso devido às diferenças entre os estudos com relação às cepas de *H. pylori* e seus fatores de virulência específicos. Uma meta-análise de 11 estudos conduzidos entre 1991 e 2002 foi publicada por ZUMKELLER *et al.*, 2016, e relatou um risco 1,4 vezes maior de CRC em pacientes apresentando infecção por *H. pylori*. Recentemente Guo e colaboradores (2016) relatou uma associação estatística entre *H. pylori* e adenomas colorretais em uma meta-análise de 7679 pacientes asiáticos. Este resultado sugeriu um papel carcinogênico de *H. pylori* em um estágio inicial da carcinogênese. A presença de altos níveis de *H. pylori* foi relatada em tecido CCR usando um ensaio específico de reação em cadeia da polimerase 16S rDNA (PCR) e pirosequenciamento. JONES e Colaboradores, 2016, analisaram blocos de tecido embebidos em parafina da mucosa do cólon normal, adenomas e adenocarcinomas de 180 pacientes. Os resultados indicaram um aumento significativo na colonização associada à mucosa do cólon por *H. pylori* em adenomas e adenocarcinomas em comparação com a mucosa normal.

Embora o papel do *H. pylori* na carcinogênese gástrica tem sido mais bem estudado e descrito do que seu envolvimento na carcinogênese colorretal, algumas hipóteses podem ser extrapoladas a partir da fisiopatologia do câncer gástrico ligado a bactérias. O gene

A associado a citotoxina bacteriana (CagA) e a citotoxina vacuolizante A (VacA) são codificados por ilhas de patogenicidade em algumas cepas de *H. pylori* e podem induzir a ativação das vias de inflamação e proliferação celular no câncer gástrico. SHMUELY e Colaboradores, 2016, relataram que pacientes apresentando soropositividade para *H. pylori* CagA-positivocepas tiveram um risco significativamente aumentado de CCR. Outra hipótese é a produção direta e indireta de espécies reativas pró-oxidativas de oxigênio e nitrogênio por algumas cepas de *H. pylori* que poderiam participar da carcinogênese colorretal (GAGNIÈRE *et al.*, 2016).

3.5. A correlação do câncer de colorretal com a microbiota gastrointestinal

O trato gastrointestinal abriga uma complexa comunidade bacteriana chamada microbiota intestinal que, em condições saudáveis, mantém uma relação comensal com nosso corpo. Vários mecanismos são usados pelo hospedeiro para manter a homeostase intestinal e para evitar respostas imunes aberrantes dirigidas contra a microbiota. Uma delas é a produção de uma camada de muco que cobre as células epiteliais do intestino. Este muco é sintetizado e secretado por células de cálice hospedeira e forma um componente estrutural integral do intestino do mamífero. Sua principal função é proteger o epitélio intestinal de danos causados por secreções alimentares e digestivas. A camada de muco também impede que os patógenos atinjam e persistam nas superfícies epiteliais intestinais e, portanto, é um componente importante da imunidade inata. É constantemente renovado e atua como uma armadilha para os residentes comensais, mas também para patógenos, impedindo seu acesso ao epitélio (SICARD *et al.*, 2017).

A microbiota intestinal contribui para o bem-estar do organismo hospedeiro. Os trilhões de micróbios que colonizam o trato gastrointestinal influenciam os processos locais e sistêmicos, como a transformação de nutrientes, suprimento de vitaminas, maturação da imunidade da mucosa, comunicação intestinal para o cérebro, e até mesmo a progressão do tumor (WEISS e HENNET, 2017). Segundo KIM *et al.*, 2019, uma população microbiana intestinal bem equilibrada (homeostática) é essencial para que o hospedeiro e a microbiota coexistam em uma relação mutuamente benéfica. Falhas em manter a homeostase levam a mudanças negativas no metabolismo do hospedeiro que estão ligadas a doenças crônicas como doenças inflamatórias intestinais e câncer.

A disbiose da microbiota intestinal pode acarretar consequências graves. É a principal força motriz da inflamação e está inequivocamente ligada ao desenvolvimento de câncer colorretal (WEISS e HENNET, 2017). O cólon inflamado em longo prazo promove carcinogênese e anormalidades histológicas como displasia, um precursor de adenomas colorretais (YU e LI, 2016). Uma correlação entre inflamação e câncer tem sido proposta há muito tempo, mas os mecanismos exatos ainda não são bem compreendidos. O microambiente ao redor e dentro do tumor contém células imunes inatas que liberam citocinas e quimiocinas, metaloproteases, fatores de crescimento e espécies reativas de oxigênio que podem promover danos ao DNA e proliferação e migração celular (RESCIGNO, 2008). Cerca de 15% de todos os casos de câncer estão ligados a uma infecção viral ou bacteriana. Agentes infecciosos, especialmente vírus, podem iniciar ou aumentar o crescimento do tumor induzindo inflamação crônica, transferindo oncogenes ativos para o genoma do hospedeiro ou promovendo imunossupressão. Patógenos microbianos podem influenciar a tumorigênese diretamente por substâncias que levam a danos ao DNA, como óxido nítrico ou espécies reativas de oxigênio, ou indiretamente, criando um microambiente pró-inflamatório (WEISS e HENNET, 2017).

Estudos crescentes têm identificado mudanças composicionais da microbiota intestinal associadas ao CCR, o que apoia a hipótese de que as comunidades microbianas alteradas contribuem para o desenvolvimento do CCR. Por exemplo, vários estudos demonstram o surgimento de bactérias patogênicas putativas coincidentemente com depleção comensal substancial em pacientes com CCR. Os mecanismos pró-carcinogênicos pelos quais a disbiose bacteriana contribui para o CCR são especulados como alterações induzidas por micróbios no metabolismo do hospedeiro e respostas imunológicas da mucosa (CHEN *et al.*, 2017).

O câncer colorretal está associado ao aumento da abundância dos filos *Firmicutes* e *Fusobacteria*. Surpreendentemente, as *Fusobacteria* constituem cerca de 10% das bactérias intestinais em pacientes com câncer colorretal, mas menos de 0,1% em indivíduos saudáveis. Essas mudanças na microbiota podem criar uma comunidade intestinal com maior potencial genotóxico e carcinogênico. *Fusobacterium nucleatum*, uma espécie altamente abundante em tecidos tumorais (WEISS e HENNET, 2017), parece utilizar vários fatores de aderência, como *Fusobacterium adesina A* (FadA) combinado com uma tendência para invadir o tecido, interromper a adesão celular,

ativar os sinais de proliferação celular Wnt e estimular a inflamação para potencializar o acúmulo de mutações genéticas (CHEN *et al.*, 2017). Esta molécula de adesão aumenta a permeabilidade epitelial e a invasão de micróbios nas células, FadA também ativa a proliferação e o crescimento de células normais e de adenoma por meio da sinalização de β -catenina (WEISS e HENNET, 2017).

Uma infecção com oncogênica *Helicobacter pylori* resulta em inflamação crônica com sinalização desregulada de β -catenina em células epiteliais, promovendo transformações malignas no estômago e no cólon. Especialmente as cepas positivas para o gene A associado à citotoxina do fator de virulência (CagA) estão ligadas ao desenvolvimento de carcinoma (WEISS e HENNET, 2017). *Helicobacter pylori* foi o primeiro patógeno a mostrar o uso de H_2 durante a infecção. Esta bactéria coloniza principalmente a mucosa gástrica humana e é o principal agente causador de úlceras gástricas, gastrite crônica e câncer gástrico. Nos últimos anos, a oxidação de H_2 por *H. pylori* tem sido implicado no desenvolvimento de câncer gástrico. CagA-positivo *H. pylori* cepas estão fortemente associadas a um risco aumentado de desenvolver adenocarcinoma do estômago. Isso reflete o fato de que a proteína CagA (gene A associado à citotoxina), codificada pela ilha de patogenicidade do Cag (cag-PAI), causa alterações bioquímicas e morfológicas nas células epiteliais gástricas, que promovem a carcinogênese (BENOIT *et al.*, 2020).

Mudanças específicas na microbiota facilitam a formação do câncer colorretal. O alto consumo de carne vermelha, uma fonte rica em aminoácidos contendo tiol, aumenta o número de bactérias redutoras de sulfato como por exemplo, a *Desulfovibrio spp.* e a *Desulfobacter spp.*, no intestino essas bactérias geram H_2S , que diminui a formação de muco, inibe a metilação do DNA e aumenta a geração de espécies de oxigênio. Além disso, uma única espécie bacteriana pode contribuir para o crescimento do tumor. Enterotoxigênico *Bacteroides fragilis* (WEISS e HENNET, 2017) é um dos patobiontes mais prevalentes detectados em pacientes humanos com CCR (CHEN *et al.*, 2017) estimula a proliferação celular via sinalização nuclear aumentada de β -catenina e danifica o DNA por meio de espécies reativas de oxigênio. Colitogênico *E. coli* super representada no contexto da inflamação em camundongos deficientes em IL-10, promove o desenvolvimento de carcinoma invasivo por meio da síntese da genotoxina colibactina, Além disso, pks + *Escherichia coli* (*E.coli*) e *Enterococcus faecalis* pode induzir supostamente a tumorigênese gerando mutagênicos de DNA, como a genotoxina colibactina e superóxido e peróxido de hidrogênio, respectivamente (CHEN *et al.*, 2017) a

colibactina causa quebras de fita dupla de DNA e reparo de DNA incompleto, resultando em instabilidade genômica (WEISS e HENNET, 2017).

Uma característica no estágio de promoção da carcinogênese colorretal é o rompimento das junções estreitas, levando a uma perda de integridade através da barreira intestinal (YU e LI, 2016). Os biofilmes bacterianos, são ecossistemas complexos compostos de agregados poli microbianos de diversas bactérias incorporados em uma matriz polimérica extracelular, consistindo principalmente de polissacarídeos, bem como proteínas, ácidos nucleicos e lipídeos. Foram definidos como invasão da comunidade bacteriana na camada interna de muco abrangendo pelo menos uma distância linear de 200 µm através da superfície epitelial do cólon. A associação com CCR humano foram relatados em 2014, quando descobriu-se que a biomassa de biofilme bacteriano eram uma característica quase universal do CCR do lado direito e sua mucosa normal pareada obtida da borda distante das ressecções cirúrgicas. Curiosamente, os cânceres de cólon direito não eram exclusivamente suscetíveis a formação de biofilmes, aproximadamente 17% dos cânceres de cólon esquerdo também exibiram biofilme bacteriano. Ainda mais surpreendente, 13% das biópsias de colonoscopia coletadas de pessoas saudáveis também apresentaram biofilmes, embora as composições bacterianas desses eram normalmente menos densos e mais finos do que as estruturas exuberantes em tumores em pacientes com CCR. As células epiteliais do cólon sob o biofilme em tecidos normais pareados de pacientes com CCR ou biópsias de cólon normais obtidas de indivíduos saudáveis exibiram biologia epitelial alterada consistente com um estado pró-oncogênico. Essas alterações apresentaram redução ou redistribuição da E-caderina, aumento da produção de IL-6, Stat3 ativado, bem como aumento da proliferação de células epiteliais (CHEN *et al.*, 2017).

3.6. Probióticos.

Probióticos, incluindo bactérias e leveduras, são microrganismos vivos que demonstraram efeitos benéficos na saúde humana (KIM *et al.*, 2019), podem ser usados na promoção da saúde e, possuem capacidade de prevenir ou tratar diferentes doenças, incluindo alguns tipos de câncer (SO *et al.*, 2017). São cepas ingênuas ou manipulação genética de qualquer forma e podem ser obtidos de alimentos fermentados tradicionais ou do intestino (BEDADA *et al.*, 2020).

São chamados de ingredientes microbiológicos vivos quando usados em suplementos dietéticos ou agentes bioterapêuticos vivos, quando usados como medicamentos. Podemos encontrar probióticos bacterianos comuns como *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Bifidobacterium* e *Enterococcus* e outros como *Clostridiales*, *Bacteroidales*, *Bacilo spp.*, *Escherichia coli*, *Enterococos* e *Weissella spp.* considerados potenciais (BEDADA *et al.*, 2020).

As comunidades microbianas intestinais não são permanentes e podem ser alterados por vários fatores, como estilo de vida, dieta e antibióticos. Eles podem ser usados para distúrbios intestinais (KIM *et al.*, 2019), prevenir e tratar o câncer, por meio de suas habilidades como modular a microbiota intestinal e a resposta imune do hospedeiro (SO *et al.*, 2017).

São resistentes a ácidos, tolerantes à bile, se aderem as células da mucosa e do epitélio, resistência antimicrobiana, potencial de hidrolase de sais biliares, imunoestimulação, atividade antagonista contra patógenos, atividades antimutagênica e anticarcinogênica (BEDADA *et al.*, 2020). Os efeitos benéficos dos probióticos são frequentemente específicos da espécie ou mesmo da cepa, o que significa que uma cepa contra um tipo de câncer, pode não exercer um efeito benéfico contra outros tipos de câncer (SO *et al.*, 2017).

Leveduras probióticas como *Saccharomyces cerevisiae var. boulardii*, *Candida*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Debaryomyces*, *Hanseniaspora*, e *Metschnikowia* também podem ser utilizadas na prevenção e tratamento do câncer de colorretal (CCR). Esses probióticos de levedura previnem a carcinogênese através de mecanismos como alteração do sistema imunológico do hospedeiro ou iniciação das vias apoptóticas e, produção de materiais antitumorígenicos para limpar mutagênicos através do intestino. Consumir alimentos fermentados tradicionais com dose adequada de probióticos de levedura pode reduzir o risco de desenvolvimento de CCR (BEDADA *et al.*, 2020).

Os probióticos manipulam a composição da microbiota intestinal, melhorando a integridade e função da barreira por inibir o crescimento de patógenos, o que faz reduzir o metabolismo de substâncias pro-carcinogênicas; modula o sistema imunológico, reduz a translocação bacteriana, a atividade anti-inflamatória e antipatogênica, com efeitos na redução da formação de tumor e metástase, afetando positivamente o hospedeiro (SO *et al.*, 2017).

Esses mecanismos anticancerígenos e antimutagênicos estão envolvidos na ligação, degradação e inibição do mutagênico pelos probióticos. A prevenção de procarcinogênicos e conversão de cancerígenos prejudiciais tóxicos e altamente reativos se deve ao fato da redução do pH intestinal por ácidos graxos de cadeia curta (SCFAs) formados durante a degradação de carboidratos não digeríveis e modulação do hospedeiro, com aumento da imunidade inata por meio da secreção de moléculas anti-inflamatórias (BEDADA *et al.*, 2020).

Embora a maioria dos probióticos esteja localizada no intestino, certos probióticos podem colonizar a parte neural do pH do estômago. As substâncias metabolizadas por essas cepas podem ter o potencial de agir sinergicamente com os antibióticos (JI e YANG, 2020). Os benefícios deles não se limitam apenas à prevenção de complicações da terapia do câncer, mas também podem incluir a prevenção e inibição da carcinogênese intestinal (SO *et al.*, 2017).

Além da redução da incidência e do volume do tumor, outros mecanismos diferentes pelos quais os probióticos podem suprimir o crescimento / progressão do câncer, é por meio da modulação da microbiota intestinal, a degradação de compostos carcinogênicos, os efeitos antioxidantes, bem como modulação de respostas imunes sistêmicas e associadas ao intestino (SO *et al.*, 2017).

Bactérias probióticas lácticas como *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus* e leveduras são relatados por BEDADA *et al.*, 2020, como abolidoras da toxicidade dos carcinógenos e indutoras da morte de células cancerosas, sendo consideradas os micróbios mais importantes nas atividades anticancerígenas. Esses efeitos dependem das propriedades metabólicas, de moléculas específicas e componentes secretados. Podem ser encontrados em alimentos fermentados e possuem propriedades funcionais distintas, como produção de enzimas, propriedades antimicrobianas, peptídicas, antioxidantes, entre outras (BEDADA *et al.*, 2020).

A administração de probióticos diminuiu significativamente as atividades das enzimas procarcinogênicas intestinais que foram associadas à carcinogênese. Além disso, a bactérias do ácido láctico (LAB) podem afetar a maturação das células imunológicas e seus produtos não apenas no intestino, mas também nos órgãos imunológicos sistêmicos, como linfonodos e baço, resultando na inibição da formação do tumor. Esses resultados sugerem que são suplementos alimentares em potencial contra neoplásicos, demonstrando atividade inibitória contra a invasão celular (YU e LI, 2016).

A maioria deles como *Lactobacillus spp.*, podem colonizar o estômago humano, antagonizando direta ou indiretamente *H. pylori*. Como um adjuvante emergente, os probióticos têm sido usados para tratar uma série de doenças gastrointestinais, incluindo infecção de *H. pylori* por secretarem substâncias antibacterianas, como ácido lático, ácidos graxos de cadeia curta (SCFAs), peróxido de hidrogênio e bacteriocina (JI e YANG, 2020).

Por fim, esses microrganismos vivos vão retardar a formação de tumor e inibir a proliferação de células cancerosas, auxiliando na prevenção e tratamento do CCR. Eles são úteis na segurança do manejo de terapias tradicionais contra o câncer, como quimioterapia, cirurgia e radioterapia (BEDADA *et al.*, 2020).

3.7. Utilização de probióticos no tratamento do câncer de colorretal

Vários estudos têm mostrado potencial para probióticos na prevenção e tratamento do câncer por meio da modulação da microbiota, modulação imunológica, translocação bacteriana reduzida, função de barreira intestinal aprimorada, anti-inflamatividade inflamatória e antipatogênica, com efeitos na redução da formação de tumores e metástases. A administração de probióticos ou simbióticos diminuiu significativamente as atividades das enzimas pró-carcinogênicas intestinais que foram associadas à carcinogênese do cólon em modelos animais experimentais (YU e LI, 2016).

Estudos *in vitro* e estudos com animais de laboratório mostram que os probióticos, prébióticos e simbióticos (combinação de probióticos e prébióticos) são a escolha ideal para a prevenção do câncer (BEDADA *et al.*, 2020).

Devido à abundância da microbiota intestinal no cólon, a associação entre a microbiota intestinal e o câncer de cólon é especialmente interessante. A composição da microbiota intestinal foi associada ao risco de câncer de cólon. Por exemplo, *Fusobacterium nucleatum*, *Streptococcus gallolyticus* foram encontrados em tumores de câncer colorretal humano. Os probióticos manipulam a composição da microbiota intestinal, afetando positivamente o hospedeiro, melhorando a integridade da barreira intestinal, inibindo o crescimento de patógenos, reduzindo o metabolismo de substâncias procarcinogênicas e assim por diante. Portanto, os probióticos foram sugeridos e relatados como eficazes na prevenção e inibição do desenvolvimento do câncer de cólon (SO *et al.*, 2017).

Bactérias benéficas no trato intestinal inibem a infiltração e o crescimento de bactérias patogênicas por meio de sua competição por espaço e recursos. Curiosamente, os probióticos são uma das principais soluções para restaurar o equilíbrio microbiano intestinal e prevenir infecções em pacientes após tratamento com antibióticos, que induz a disbiose da microbiota intestinal (KIM *et al.*, 2019).

Os probióticos protegem contra o câncer por meio dos mecanismos de aumento fecal, alteração do pH do cólon, ligação do carcinógeno às bactérias, modulação das enzimas metabolizadoras de xenobióticos, modulação da expressão gênica nas fezes e modulação das respostas imunes (BEDADA *et al.*, 2020).

Segundo YU e LI, 2016, pesquisas substanciais usando células/linhagens de células cancerosas humanas demonstraram que os probióticos possuem atividades antiproliferativas ou pró-apoptóticas nessas células. Estudos indicaram o papel antiproliferativo dos extratos citoplasmáticos de *Lactobacillus rhamnosus* cepa GG (LGG) em células de câncer gástrico humano e células de câncer de cólon, enquanto outro produto probiótico chamado *Bifidobacterium adolescentis* SPM0212 inibiu a proliferação de três linhas de células de câncer de cólon humano, incluindo HT-29, SW 480 e Caco-2. Outros produtos probióticos ou cepas que exerceram atividades antitumorais contra células de câncer de cólon humano incluem *Bacillus polyfermenticus*, *Lactobacillus acidophilus* 606, LGG / Bb12 e LGG / *Bifidobacterium animalis subsp. Lactis*. Estudos também relataram que o leite fermentado contendo *Propionibacterium freudenreichii* aumentou a citotoxicidade da camptotecina que foi usada como um agente quimioterápico para câncer gástrico. Um estudo *in vitro* usando células de carcinoma colorretal humano demonstrou a atividade inibitória dos probióticos contra a invasão celular.

Os *lactobacilos* podem estimular células imunes do hospedeiro, incluindo células dendríticas ou natural killer (NK) ou resposta T helper tipo 1 (TH1), que participa de células pré-cancerosas ou anticancerígenas. (BEDADA *et al.*, 2020).

Em pacientes com diagnóstico de câncer colorretal e submetidos à quimioterapia, o LGG reduziu efetivamente a frequência de diarreia grave e desconforto abdominal, e administração enteral de *Bifidobacterium breve* cepa *Yakult* melhorou o ambiente intestinal de pacientes que receberam quimioterapia para doenças malignas pediátricas. Além disso, evidências substanciais demonstraram que a administração perioperatória

de probióticos reduziu efetivamente as complicações infecciosas pós-operatórias (YU e LI, 2016).

Diferentes cepas de probióticos foram relatadas para inibir a proliferação e induzir a apoptose de células de câncer gástrico e de colón. Com relação ao mecanismo de ação, alguns estudos relataram que esse efeito supressor era dependente da produção de probióticos de ácidos graxos de cadeia curta (SCFAs). Além de SCFA, o ligante indutor de apoptose relacionado ao fator de necrose tumoral (TRAIL) que induziu apoptose de tumores também foi encontrado para ser regulado por *Lactobacillus casei* ATCC 393, e o aumento da expressão proteica de TRAIL em tumores foi associado à diminuição da incidência de tumor em camundongos. Além disso, a via de sinalização da rapamicina (mTOR) / 4EBP1 estava envolvida na modulação do ciclo celular de células de câncer de cólon por *Lactobacillus X12*, por meio da regulação positiva de p27 (SO *et al.*, 2017).

Os ácidos graxos de cadeia curta (SCFAs), ácido linoleico conjugado e outros produtos anticancerígenos produzidos por *Lactobacilos*, induzem apoptose em células cancerosas. Probióticos *L. fermentum* NCIMB 5221, 2797 e 8829 são candidatos potenciais para o tratamento de CCR, eles previnem a atividade proliferativa pela produção de SCFAs *in vitro* e persistindo em um intestino fluido. Além disso, os metabólitos de SCFAs produzidos por probióticos *Propionibacterium freudenreichii* danifica células de adenocarcinoma colorretal ao produzir apoptose *in vitro*. Os probióticos *Pediococcus pentosaceus* FP3, *Lactobacillus salivarius* FP35, *Lactobacillus salivarius* FP25, e *E. faecium* FP51 também inibe a proliferação de células de câncer de cólon por bioprodução de SCFAs, principalmente os ácidos propiônico e butírico. Da mesma forma, os ácidos linoleicos conjugados produzidos por bactérias probióticas têm a capacidade de formar efeito *in vitro* e *in vivo* em ratos. Outra cepa probiótica, *L. reuteri* NCIMB 701.359 previne lesões causadoras de CCR pela produção de propionato. Probiótico *L. reuteri* evita a proliferação de células cancerosas gástricas *in vitro* pela regulação negativa do ativador do plasminogênio da uroquinase (BEDADA *et al.*, 2020).

A proteína p8 derivada de probióticos terapêutica tem efeito anticâncer colorretal, interrompendo a indução do ciclo celular em experimentos *in vivo*. A proteína p8 isolada de probióticos bacterianos mostra efeito anticâncer e foi clinicamente comprovado em seres humanos. É considerada uma proteína biofarmacêutica candidata

potencial no tratamento do câncer de colorretal, foi extraída de *L. reuteri* NCIMB 701.359 e inibe as células cancerígenas do cólon (BEDADA *et al.*, 2020).

Além da redução da incidência e do volume tumoral, muitos estudos também se concentraram na inibição da carcinogênese do cólon por meio da imunomodulação. Pesquisas mostraram o efeito dos probióticos nas respostas imunes e o efeito inibitório na carcinogênese do cólon. Foi descoberto que *L. casei* O BL23 protegeu camundongos contra o câncer de cólon e facilitou a geração de respostas imunes bem balanceadas T helper (Th) -17, como mostrado pela mudança nos níveis de citocinas e população de células T. Fator nuclear kB (NF-kB) atividade, que está associada à inflamação crônica e proliferação celular, foi relatada como diminuída pelo probiótico *Pediococcus pentosaceus* GS4 em camundongos tratados com azoximetano (AOM). Essa redução foi associada à redução da incidência de câncer (SO *et al.*, 2017).

SO *et al.*, 2017, aponta também que a inflamação crônica foi reconhecida como um fator de risco de câncer. Um dos melhores exemplos é o câncer de cólon, pois a doença inflamatória intestinal (DII) é um fator de risco para o câncer de cólon. A inflamação não apenas desempenha um papel no câncer de cólon associado à colite, mas também pode ocorrer no câncer de cólon esporádico e afetar a progressão do câncer. *Lactobacillus rhamnosus* foi relatado que GG previne a carcinogênese do cólon, acompanhada pela supressão de NFκB, uma via pró-inflamatória que liga DII e câncer de cólon.

A Enterotoxigênico *Bacteroides fragilis* (ETBF) é uma bactéria que está associada a doenças diarreicas, doença inflamatória intestinal e câncer colorretal. Em um estudo com 32 adultos considerados portadores de ETBF, o iogurte probiótico demonstrou ser eficaz para diminuir o número de células de ETBF, foi comprovado que os probióticos diminuem o dano ao DNA induzido por mutagênio ou a formação de aducto de DNA no epitélio colônico. Um estudo *in vitro* usando células epiteliais intestinais de rato mostrou o papel preventivo dos probióticos contra a apoptose de enterócitos e perda da função de barreira intestinal causada por 5-fluorouracil (5-FU), enquanto um estudo *in vivo* com ratos demonstrou que a combinação de amido resistente e *B. lactis* facilitou a resposta apoptótica ao dano ao DNA induzido por carcinógeno das células colorretais de rato. Sob esse ponto de vista, os probióticos exercem suas funções semelhantes à proteína supressora de tumor p53, que desencadeia a apoptose celular quando o dano ao DNA está em níveis elevados (YU e LI, 2016).

A *H. pylori* é uma bactéria conhecida como um dos fatores que acarretam o desenvolvimento do câncer de colorretal. E segundo JI e YANG, 2020, os Probióticos podem atrapalhar colonização do *H. pylori*, competindo por locais de ligação ou perturbando o processo de adesão. Probióticos com alta afinidade para células epiteliais pode bloquear a colonização de bactérias patogênicas em células epiteliais gastrointestinais. Foi demonstrado que *L. reuteri* JCM1081, TM105 pode competir com *H. pylori* para os sítios de ligação asialo-GM1 e sulfatídeo em células epiteliais gástricas, inibindo assim precocemente a colonização da *H. pylori*. Cepas de *L. gasseri* podem afetar a colonização de *H. pylori* pela inibição da expressão de gene de adesão *sabA* da *H. pylori*. *Saccharomyces boulardii* tem atividade neuraminidase seletiva para α (2,3) -ido siálico ligado à célula hospedeira, assim remove sítios de ligação da *H. pylori*. O aumento da barreira mucosa por probióticos ajuda o hospedeiro a impedir a colonização da *H. pylori*. A infecção por *H. pylori* pode diminuir a expressão de *muc1* e *muc5AC* gene em células KATO III, que pode causar ruptura da camada mucosa *in vivo*, os probióticos podem regular positivamente as proteínas de junção apertada e promover a secreção mucosa, aumentando a expressão de *muc1*, *muc2*, e *muc3*, estabilizando assim a camada mucosa. Essas propriedades indicam que o corpo hospedeiro pode resistir melhor a invasão da *H. pylori* pela confiança de probióticos na reparação da barreira da mucosa gástrica, prevenindo eficazmente a infecção inicial e a reinfecção do patógeno. Além desses efeitos não imunes, os probióticos podem aliviar a inflamação do hospedeiro causada por infecção da *H. pylori*. Doenças inflamatórias induzidas por infecção estão associadas à expressão sustentada de fatores inflamatórios, e esses fatores não eliminam *H. pylori* mas levam à continuação da resposta inflamatória, os probióticos podem inibir a expressão do fator pró-inflamatório, mitigando assim a resposta inflamatória. Numerosos estudos demonstraram que cepas probióticas, como *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, e *L. rhamnosus* pode reduzir a expressão de IL-8 em células infectadas por *H. pylori*. Embora a infecção por *H. pylori* causa a superexpressão de IL-8, TNF- α e outros fatores pró-inflamatórios em células MKN45, pré-tratamento com altas doses de *L. acidophilus* La5 pode silenciar o Smad7 e NF- κ B, aliviando assim a resposta inflamatória. Portanto, os probióticos têm ação preventiva e atenuante efeito na inflamação causada por infecção de *H. pylori*.

Por fim, BEDADA *et al.*, 2020, aponta que a microflora com dieta fermentada de fibras aumenta os níveis de metabólitos ativos que são protetores contra o câncer de cólon. A

adição de específicos probióticos podem aumentar a fermentação e deficiência de aleurona de trigo, uma fonte de fibras. Produtos de fermentação de aleurona de trigo como uma dieta de fibra combinado com probióticos pode ser uma medida eficaz para aumentar a saúde intestinal e diminuir o risco de adquirir câncer de cólon em humanos. Além disso, um coquetel de *Lactobacilos* (*L. coquetel*) mostra efeito antitumoral em células HT-29 através do Notch e Wnt / β -modulação das vias da catenina; portanto, o uso de *Lactobacilos* probióticos como suplementos nutricionais pode prevenir o câncer de cólon. Quando as espécies do *Lactobacillus* usados em coquetéis, eles possuem potencial inibidor de crescimento pela regulação negativa da proliferação celular induzida por Notch ou Wnt. A inibição da via Wnt e Notch é devido à indução do apoptose e ao alívio da proliferação *in vitro*. Portanto, espécies vivas de *Lactobacillus* podem ser consideradas um meio eficaz e seguro no tratamento CCR (BEDADA *et al.*, 2020).

5 CONCLUSÃO

Este trabalho enfatizou sobre o uso de probióticos no tratamento de câncer de colorretal (CCR) como um meio modulador da microbiota intestinal e resposta imune do hospedeiro.

Estilo de vida, hábitos pessoais não saudáveis são considerados fatores de risco, pois aumentam as chances em até 70 % de desenvolver pólipos ou câncer colorretal. Quando há falhas em manter a homeostase da população microbiana intestinal, leva a mudanças negativas no metabolismo do hospedeiro que estão ligadas a doenças crônicas como doenças inflamatórias intestinais e a carcinogênese.

De acordo com a literatura atual foi possível observar que o ctDNA pode ajudar no diagnóstico precoce do câncer colorretal, além de orientar a escolha do mais apropriado tratamento de quimioterapia, prevenção da recorrência precoce, resposta quimioterápica e resistência.

Relatou-se pesquisas que apontaram as diferentes cepas de probióticos como *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium*, *Streptococos* e leveduras como inibidores de proliferação e indutoras da apoptose de células do câncer gástrico e do colón, também atuando na modulação da microbiota e imunológica, translocação bacteriana reduzida, função de barreira intestinal aprimorada, anti-inflatividade inflamatória e antipatogênica, com efeitos redutores da formação de tumores e metástases.

Estudos e testes mais aprofundados sobre o uso dos probióticos ainda precisam ser feitos, mas ao que tudo indica o uso dos probióticos podem trazer muitos benefícios à saúde do indivíduo, prevenindo e diminuindo os riscos de desenvolvimento do CCR e pode ser um meio eficaz e seguro no tratamento.

6 REFERÊNCIAS

BEDADA, T. L. FETO, T. K. AWOKE, K. S. GAREDEW, A. D. YIFAT, F. T. BIRRI, D. J. Probiotics for cancer alternative prevention and treatment. **Elsevier**, Etiópia, v. 129, p. 1-10, jun. 2020.

BENOIT, S. L. MAIER, R. J. SAWERS, R. G. GREENING, C. Molecular Hydrogen Metabolism: a Widespread Trait of Pathogenic Bacteria and Protists. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, Georgia, v. 84, p. 1-39, mar. 2020.

CALIFF, R. M. Biomarker definitions and their applications. **Experimental Biology and Medicine**, USA, v. 243, p. 213-221, fev. 2018.

CHAKRABARTI, S. XIE, H. URRUTIA, R. MAHIPAL, A. The Promise of Circulating Tumor DNA (ctDNA) in the Management of Early-Stage Colon Cancer: A Critical Review. **MDPI Journal**, v.12, p-1-18, set. 2020.

CHEN, J. DOMINGUE, J. C. SEARS, C. L. Microbiota dysbiosis in select human cancers: Evidence of association and causality. **Elsevier**, USA, p. 1-10, ago. 2017.

DESAI, D. FAUBION, W. A. SANDBORN, W. J. Review article: biological activity markers in inflammatory bowel disease. **Aliment Pharmacol Therapeutics**, Mumbai, v. 25, p.247-255, out. 2006.

DASARI, A. et al. ctDNA applications and integration in colorectal cancer: an NCI Colon and Rectal-Anal Task Forces whitepaper. **Consensus Statement**, v.17, p.757-770, dez. 2020.

GAGNIÈRE, J. RAISCH, J. VEZIAN, J. BARNICH, N. BONNET, R. BUC, E. BRINGER, M. A. PEZET, D. BONNET, M. Gut microbiota imbalance and colorectal cancer. **World Journal of Gastroenterology**, **Clermont-Ferrand**, v. 22, p. 501-518, jan. 2016.

JEFFREY, A.K. FERNER, R.E. Biomarkers-A General Review. **Drug Discovery Technologies**, UK, v. 76, p. 9.23.1-9.23.17, mar.2017.

JI, J. YANG, H. Using probiotics as Supplementation for Helicobacter pylori Antibiotic Therapy. **International Journal of Molecular Sciences**, Xangai, v. 21, p. 1-15, fev. 2020.

KIM, S.-K. et al. Role of Probiotic in Human Gut Microbiome- Associated Diseases. **J. Microbiol. Biotechnol**, Coréia, v. 29, n. 9, p. 1335–1340, ago. 2019.

KOLIARAKIS, I. PSAROULAKI, A. NIKOLOUZAKIS T. K. KOKKINAKIS, M. SGANTZOS, M. N. GOULIEMOS, G. ANDROUTSOPOULOS, V. P. TSATSAKIS, A. TSIAOUSSIS, J. Intestinal microbiota and colorectal cancer: a new aspect of research, **Jbuon, heraklion**, v. 23, p. 1216-1234, maio. 2018.

LOPERGOLO, A. ZAFFARONI, N. MS., PHD. Biomolecular Markers of Outcome

Prediction in Prostate Cancer. **American Cancer Society**, Itália, p.3058-3067, julho. 2009.

MÁRMOL, I. DIEGO, C. S. DIESTE, A. P. CERRADA, E. YOLDI, M. J.R. Colorectal Carcinoma: A general overview and future perspectives in colorectal cancer. **International Journal of Molecular Sciences**, Barcelona, v.18, p. 01-39, jan. 2017.

OSUMI, H. SHINOZAKI, E. YAMAGUCHI, K. Circulating Tumor DNA as a Novel Biomarker Optimizing Chemotherapy for Colorectal Cancer. **MDPI Journal**, v. 12, p.1-11, jun. 2020.

RESCIGNO, M. The Pathogenic Role of Intestinal Flora in IBD and Colon Cancer. **Current Drug Targets**, Italy, v. 9, n. 5, p. 395-403, 2008.

SICARD, J. F. BIHAN, G. L. VOGEELEER, P. JACQUES, M. HAREL, J. Interactions of Intestinal Bacteria with Components of the Intestinal Mucus. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, Canada, v. 7, p. 1-12, set. 2017.

SO, S. S. Y. WAN, M. L. Y. EL-NEZAMI, H. **Probiotics- mediated suppression of cancer**. *Current Opinion*, Finlândia, v. 29, n. 1, p. 62–72, jan. 2017.

TAURIELLO, D. V. F. CALON, A. LONARDO, E. BATLLE, E. Determinants of metastatic competency in colorectal cancer. **Molecular Oncology**, Barcelona, v. 11, p. 97-119, dez. 2016.

TOTHILL, I. E. Biosensors for cancer markers diagnosis. **Elsevier**, UK, v. 20, p. 55-62, fev. 2009.

WEISS, G. A. HENNET, T. Mechanisms and consequences of intestinal dysbiosis. **Springer**, v. 74, p. 2959–2977, Mar. 2017.

YU, A.-Q. LI, L. The Potencial Role of Probiotics in Cancer Prevntion and Treatment. **Taylor & Francis Group**, China, v. 0, n. 0, 1-10, p. 1-10, mai. 2016.