

U. PORTO



**FACULDADE DE CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO E ALIMENTAÇÃO
UNIVERSIDADE DO PORTO**

**Efeito metabólico da dieta e dos probióticos, na microbiota intestinal, na
prevenção do Cancro do Colo-Rectal**

**Metabolic effect of diet and probiotics, in gut microbiota, in Colorectal
Cancer prevention**

Rita Maria Soares Pereira Pinto

Orientado por: Prof.^a Doutora Maria da Conceição Costa Pinho Calhau

Revisão Temática

1.º Ciclo em Ciências da Nutrição

Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da Universidade do Porto

Porto, 2017

Agradecimentos

À Prof^a Doutora Conceição Calhau, pela orientação, por ser um Exemplo de dedicação à Nutrição, por ser uma Notoriedade na Área, pela Excelente capacidade de trabalho, Profissionalismo, Rigor, pelo apoio e disponibilidade, mesmo envolvida em inúmeros projetos foi incansável e inextinguível.

Aos Professores da FCNAUP, por terem alimentado ainda mais a minha paixão pela Nutrição, pelo desafio e pelo rigor científico.

Lista de Abreviaturas

AGCC – Ácidos gordos cadeia curta

ADN – Ácido desoxirribonucleico

AICR – American Institute for Cancer Research

AOM – Azoximetano

BAL – Bactérias ácido lácticas

CA – Ácido cólico

CCR - Cancro do colo-rectal

CDA – Ácido quenodesoxicólico

COX-2 – cicloxigenase 2

DCA – Ácido desoxicólico

DMH – 1,2-dimetilhidrazina

FAO – Food Agriculture Organization

GI – Gastrointestinal

GST – S-transferase da glutationa

HCAs – Aminas heterocíclicas

IARC – International Agency for Research on Cancer

IL-1 – Interleucina 1

ISAPP – International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics

LCA – Ácido litocólico

MNNG – N-metil-N'-nitro-N-nitrosoguanidina

NADH – Nicotinamida – Adenina – Dinucleotídio

NK - Células Natural Killer

NOCs – Compostos N-Nitroso

NOS – Espécies reativas de azoto

PAHs – Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos

ROS – Espécies reativas de oxigénio

SBA – Ácidos biliares secundários

SRBs – Bactérias sulfato-redutoras

TNF α - Fator de necrose tumoral α

WCRF – World Cancer Research Fund

WHO – World Health Organization

Resumo

O intestino humano é habitado por um ecossistema diverso e dinâmico – microbiota intestinal. A homeostasia da microbiota intestinal mantém várias funções que são vitais para a manutenção da saúde, enquanto o seu desequilíbrio – disbiose – está associado ao aparecimento de várias doenças, entre elas o cancro do colo-rectal (CCR). Nos últimos anos, muitos estudos têm realçado a importância da disbiose na promoção do CCR através de diversos mecanismos envolvendo um estado de inflamação crónica, biossíntese de metabolitos com toxicidade, em particular genotóxicos. A dieta é um fator determinante, podendo veicular compostos que ajudam tanto na promoção como na prevenção do CCR e, ainda modula a microbiota. Muitos estudos têm mostrado que o consumo de carnes vermelhas e processadas e/ou de gordura animal geram metabolitos pró-inflamatórios e tóxicos, tornando-os precursores-chave na carcinogénese, sendo muitos deles produtos da ação bacteriana. Por outro lado, uma dieta rica em fibras estimula a produção de ácidos gordos de cadeia curta, também produtos de atividade bacteriana. Em particular, o butirato tem propriedades anti-proliferativas, anti-inflamatórias e anticancerígenas. Em comum, concluímos que a relação da dieta com o CCR envolverá quase sempre a microbiota, a sua composição e o seu metabolismo. A correção da disbiose, com a introdução de probióticos na dieta, é uma das estratégias plausível, sendo necessário ainda mais ensaios clínicos.

Palavras chave: cancro do colo-rectal, dieta, disbiose, microbiota, probiótico.

Abstract

The human gut is inhabited by a diverse and dynamic ecosystem – gut microbiota. Gut microbiota homeostasis maintains several functions that are vital to the maintenance of health, while an imbalance – dysbiosis – is associated with various diseases, such as colorectal cancer (CRC).

In recent years, many studies have highlighted the importance of dysbiosis in promotion of CRC through various mechanisms such as the induction of a chronic inflammation state, toxic metabolite biosynthesis, in particular genotoxics. Diet is a determining factor, because not only can it contribute with compounds that can act as promoters, but it can also prevent CRC, as it also modulates the microbiota. Many studies have shown that consumption of red and processed meats and/or animal fat generated pro-inflammatory and toxic metabolites, making them key precursors in carcinogenesis, many of them are bacterial action products. On the other hand, a high-fiber diet stimulates the production of short chain fatty acids, also bacterial activity products. In particular, butyrate has anti-proliferative, anti-inflammatory and anticarcinogenic properties. In common, we conclude that the relationship between diet and CRC, almost of the time, involves microbiota composition and its metabolism. The modulation of dysbiosis, with the introduction of probiotics to diet, is a plausible strategy, more clinical trials are needed.

Key words: Colorectal cancer, diet, dysbiosis, microbiota, probiotic.

Índice

Agradecimentos.....	i
Lista de Abreviaturas.....	ii
Resumo	iv
Abstract	v
Índice.....	vi
Introdução.....	1
Cancro do colo-rectal (CCR)	3
Microbiota intestinal em doentes com cancro colo-rectal	4
Dieta, microbiota e cancro colo-rectal	7
Dieta, microbiota e prevenção do cancro colo-rectal.....	12
Conclusão.....	15
Referências Bibliográficas	16

Introdução

O intestino humano é habitado por um ecossistema diverso e dinâmico – microbiota intestinal- sendo considerado como um ‘novo’ órgão⁽¹⁾. A colonização do trato gastrointestinal (GI) tem início com o nascimento e é alterado ao longo da vida, resultado das interações entre os processos fisiológicos do hospedeiro e os microrganismos e o ambiente⁽²⁾.

A microbiota intestinal tem sido área de pesquisa crescente por ter implicações na carcinogénese, podendo promover, prevenir ou até mesmo influenciar os resultados terapêuticos, o que realça a complexa relação entre a microbiota e o hospedeiro⁽³⁻⁵⁾.

A presença de cada microrganismo depende das características morfológicas e fisiológicas respectivas de cada região do sistema digestivo, sendo mais complexa e numerosa ao longo do trato GI, nomeadamente no intestino grosso⁽⁶⁾.

É estimado que o intestino albergue aproximadamente 100 triliões de microrganismos (bactérias, vírus, fungos)⁽²⁾ com pelo menos 1000 espécies diferentes, sendo a maioria delas bactérias, com três milhões de genes⁽⁷⁾.

Apesar dos progressos significativos, ainda não foram claramente definidos os microrganismos que constituem o que pode ser considerado uma microbiota “normal” ou “saudável”⁽⁸⁾, considerando-se que as bactérias benéficas excedem as patogénicas. Apesar da microbiota de cada indivíduo ser única^(9, 10), ter uma identidade própria, quando as comunidades microbianas são comparadas entre grupos de indivíduos “saudáveis” e coortes de pacientes com diferentes patologias, tais como no cancro, surgem padrões ^(8, 11).

Através de estudos de sequenciação metagenômica da microbiota intestinal, de adultos, foi possível identificar como filos dominantes as *Firmicutes* e *Bacteroidetes* e, em menor quantidade as *Actinobacteria*, *Proteobacteria* e *Verrucomicrobia*^(1, 6, 9). Outras bactérias podem também fazer parte da microbiota, como as *Eubacterium*, *Bifidobacterium*, *Fusobacterium*, *Lactobacilos*, *Enterococci*, *Streptococci* e *Enterobacteriaceae*⁽¹⁰⁾.

A microbiota intestinal tem uma interação simbiótica com o hospedeiro desempenhando um papel determinante na homeostasia, fisiologia, metabolismo e resposta imunológica^(1, 2, 10, 12). Relativamente à sua importância metabólica, a microbiota intestinal maximiza a disponibilidade calórica dos nutrientes não digeridos através da extração adicional de calorias a partir de oligossacárideos não digeríveis (como a pectina)^(1, 10) ou não digeridos (dextrinas) e através da modulação da capacidade de absorção do epitélio intestinal⁽¹⁾. Para além disso, as bactérias da microbiota contribuem com enzimas que estão ausentes nos humanos e que vão permitir o catabolismo de fibras e dos glicídeos complexos⁽¹⁾ e participam na síntese de vitaminas do complexo B (entre elas: ácido fólico, biotina, B₂, B₁₂)⁽¹³⁾ e K^(10, 13) e de aminoácidos. Ainda influenciam a absorção de iões⁽⁶⁾, participam no metabolismo de compostos polifenólicos⁽⁶⁾ modificando a sua bioatividade e/ou biodisponibilidade e biotransformam os ácidos biliares⁽⁶⁾ e os xenobióticos bioativando ou bioinativando alguns carcinogénios alimentares.

A microbiota intestinal é também essencial para o desenvolvimento do sistema imunológico contribuindo para a manutenção da barreira intestinal e participando na resposta imunológica adequada a agentes patogénios⁽⁶⁾.

No entanto, variações no microambiente intestinal podem provocar alterações na homeostasia, desequilibrando o balanço entre a microbiota intestinal e o

hospedeiro e, a esse desequilíbrio é chamado de disbiose. Nesta situação, o hiper crescimento de patógenos oportunistas conduz a um estado de inflamação crónica, que por sua vez induz mutações, inibe a apoptose ou estimula a angiogénese e a proliferação celular. A disbiose causa ainda a biossíntese de genotóxicos que interferem com regulação do ciclo celular, a produção de metabolitos tóxicos ou ativação de aminas heterocíclicas, compostos pro-carcinogénicos alimentares⁽⁶⁾ que conduzem ao início e progressão de doenças digestivas inflamatórias, obesidade e cancro, incluindo o cancro do colo-rectal (CCR)^(12, 14). Esta última associação entre a disbiose e o CCR foi verificada por Canha *et al.*, numa revisão sistemática, a partir da análise de várias evidências científicas⁽¹⁵⁾.

Cancro do colo-rectal (CCR)

O Cancro do Colo-Rectal (CCR) é o mais comum dos cancros gastrointestinais. É o terceiro tipo de cancro mais diagnosticado nos países ocidentais e tem vindo a aumentar nos países em desenvolvimento sendo uma das maiores causas de morte por cancro no mundo⁽¹⁶⁾. A maioria dos casos são esporádicos^(10, 12) e, por isso assume-se que podem ser prevenidos ou então, podem desenvolver-se gradualmente com o aparecimento de pólipos adenomatosos no epitélio colmatando com o carcinoma invasivo. O CCR é resultado de um processo multifatorial em que a sua progressão está associada a uma acumulação gradual de mutações genéticas e epigenéticas. Para além dos fatores genéticos, a incidência está também associada a fatores de risco como a dieta, sexo, idade, fatores ambientais, estilo de vida (obesidade, hábitos tabágicos e alcoólicos e sedentarismo)⁽¹⁶⁾, processos inflamatórios e com a microbiota intestinal^(7, 12, 14).

Microbiota intestinal em doentes com cancro colo-rectal

A primeira observação a relacionar a microbiota com o CCR foi em 1975 em ratos germ-free que desenvolveram menos efeitos químicos quando induzidos com células tumorais de CCR do que ratos convencionais. Posteriormente, surgiram algumas hipóteses para explicar o contributo da microbiota no CCR, desde a da comunidade microbiana disbiótica com características pró-carcinogénicas que era capaz de modular a microbiota e conduzir a respostas pró-inflamatórias e transformação de células epiteliais promovendo a carcinogénese⁽²⁾, até ao modelo dinâmico proposto, em 2012, por Tjalsma *et al.*, ao qual chamaram “bactérias condutoras-passageiras”, em que bactérias intestinais - " bactérias condutoras ", iniciavam o CCR através da indução de danos no ADN epitelial e a tumorigénese, e por sua vez, promoviam a proliferação de bactérias passageiras que têm a vantagem de crescerem em microambiente tumoral⁽¹⁷⁾.

Inicialmente, o CCR foi associado a certas bactérias patogénicas como *Streptococcus gallolyticus/ bovis*, *Escherichia coli*, ou *Helicobacter pylori*. No entanto, na última década surgiram muitos estudos que confirmam que para além destas, muitas outras espécies bacterianas contribuem para o CCR. Estes estudos mostraram que a microbiota de pacientes com CCR quando comparada com controlos saudáveis, estava enriquecida com bactérias patogénicas oportunistas e pró-inflamatórias que podem inibir, perturbar ou exagerar a resposta normal do hospedeiro levando a uma apoptose anormal, proliferação celular e inflamação⁽¹⁰⁾, como as *Fusobacterium (F.nucleatum)*, *Bacteroidetes (B. fragilis)*, *Enterococcus (E. faecalis)*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Campylobacter*, *Erysipelotrichaceae*, *Collinsella*, *Peptostreptococcus*, *Anaerotruncus*, *Porphyromonas* e *Mogibacterium*

e que, por outro lado, estava diminuída de padrões bacterianos estratégicos que preservam a homeostasia da microbiota intestinal, como as bactérias produtoras de butirato do grupo *Clostridium IV e XIV* como as *Faecalibacterium prausnitzii* e *Roseburia* - e as bifidobactérias, como as *Bifidobacterium*. ^(6, 15)

Das bactérias patogénicas referidas anteriormente algumas distinguem-se pela maior consistência de evidência e, por isso merecem algum destaque.

Relativamente ao *S. gallolyticus/ bovis*, os mecanismos ainda são pouco claros, mas supõem-se três hipóteses: adesão a células epiteliais normais e tumorais, vantagem competitiva de crescimento no microambiente tumoral por se alimentarem dos metabolitos tumorais e por induzirem inflamação e/ou vias pró-carcinogénicas, levando à progressão do tumor, especialmente de tumores pré-malignos. Está também associada ao aumento da expressão de genes pró-inflamatórios, tais como Interleucina 1 (IL-1), Interleucina 8 (IL-8) e Cicloxigenase 2 (COX-2)^(2, 18). O aumento do número desta bactéria provavelmente ocorre numa etapa inicial da carcinogénese podendo ser útil na deteção precoce de CCR⁽²⁾. Na maioria dos casos, amostras de pacientes com CCR apresentam *E. coli* na mucosa do colon que pode expressar genes (ex. ciclomodulinas) que conferem características que são relevantes para a patogénese, incluindo translocação de células M, angiogénese e genotoxicidade. As ciclomodulinas como a colibactina são toxinas que interferem com o ciclo celular e induzem danos ao ADN e instabilidade genómica, e estão envolvidas no CCR. O CCR associado à *E. coli* pode induzir a expressão do gene pró-inflamatório COX-2 em macrófagos, apoiando a modulação bacteriana na inflamação do CCR⁽²⁾. A *H. pylori* está claramente associada ao cancro gástrico no entanto, ainda existe alguma controvérsia relativamente à associação com o CCR. Uma das hipóteses

propostas para esta associação é a produção direta e indireta de espécies pró-oxidativas reativas de oxigênio (ROS) e azoto (NOS) por algumas espécies de *H. pylori* envolvidas no CCR. A *F. nucleatum* está sobre representada em pacientes com CCR e, mais do que estar simplesmente associada ao CCR, atua na fase inicial da promoção da carcinogênese. Ela produz o fator de virulência FadA e molécula adesão que apresentam propriedades invasivas e promovem respostas inflamatórias e pró-carcinogênicas e estimulam o crescimento das células epiteliais. Estas moléculas também servem de sinalização e de regulação de várias vias principais e de genes incluindo, β -catenina e vias Wnt que estão relacionadas com a pró-inflamação e o desenvolvimento de CCR⁽¹⁸⁾. A maioria das espécies enterotoxigênicas de *B. fragilis* detetadas em amostras da mucosa dos pacientes com CCR continha o gene *bft*, que codifica a toxina bacteriana B. fragilis toxina (BFT). A relação entre a BFT na carcinogênese colo-rectal torna-se cada vez mais evidente, já que esta toxina afeta diretamente as vias que levam ao aumento da proliferação celular, libertação epitelial de efetores pró-inflamatórios e danifica o ADN em diferentes modelos experimentais de CCR⁽¹⁸⁾. Por último o *E. faecalis*, em que certas espécies produzem espécies pró-oxidativas de ROS, que danificam o ADN, causando instabilidade cromossômica em células animais e induzem os macrófagos a produzir trans-4-hidroxi-2-nonenal (HNE) através de COX-2, contribuindo assim, para o desenvolvimento de CCR.⁽¹⁸⁾

No entanto, ainda se desconhece a identificação das bactérias mais positivamente associadas ao CCR, se será uma bactéria específica, se uma comunidade microbiana, ou se ambos, que atuam sequencialmente ou em sinergia⁽¹⁰⁾.

Existem muitos mecanismos possíveis de estarem envolvidos na associação entre bactérias patogênicas e o CCR e, de serem partilhados por diferentes espécies. Esses mecanismos incluem a produção de compostos genotóxicos, produtos derivados do metabolismo bacteriano, modulação das defesas do hospedeiro e vias de inflamação, indução do stresse oxidativo e regulação de defesa antioxidante⁽²⁾. Para além dos fatores de virulência bacteriana, como a produção de genotóxicos, tem-se demonstrado que os produtos derivados do metabolismo bacteriano têm um forte impacto no CCR.

Dieta, microbiota e cancro colo-rectal

Vários estudos têm sido realizados para mostrar a influência da dieta na microbiota e, desta com o CCR. Como a incidência do CCR está a aumentar rapidamente em regiões onde anteriormente não era um problema, tais como o leste da Ásia ou da Europa Oriental e em Países Mediterrânicos, acredita-se que as alterações da dieta possam ser responsáveis por esta tendência⁽¹⁰⁾. Embora sejam consumidos nestas regiões grandes quantidades de hortofrutícolas, os hábitos alimentares têm recentemente sido alterados para uma dieta mais ocidentalizada, caracterizada por uma grande abundância de carne vermelha (carne bovina, porco, cordeiro, cabra) e processada e gordura animal⁽¹⁰⁾ e baixo consumo de fibras^(6, 9, 19).

Estudos clínicos e pré-clínicos têm vindo a suportar a teoria que a alteração para uma dieta ocidentalizada explica o aumento do CCR⁽²⁰⁾.

De acordo com Ou *et al*, a dieta influencia o risco de desenvolver CCR e, este ser mediado pela microbiota através de seus metabolitos. Neste estudo, compararam

amostras fecais de nativos africanos rurais (que consumiam uma dieta rural, composta por: 17% gordura, 15% proteína, 68% glicídios, 21 g de fibra por 1000 kcal)⁽²⁰⁾ com afro-americanos (que consumiam uma dieta ocidentalizada, composta por: 51% gordura, 27% proteína, 20% glicídios, 3 g fibra por 1000 kcal)⁽²⁰⁾, e concluíram que a composição da microbiota era influenciada pela dieta e que os afro-americanos tinham um risco 10 vezes superior de desenvolverem CCR. Apesar de pertencerem à mesma etnia os resultados foram distintos havendo um predomínio de *Prevotella*, *Succinivibrio* e *Oscillospira*, nas amostras dos nativos africanos e de *Bacteroidetes* tais como *B. fragilis*, nos afro-americanos. Estas diferenças foram explicadas pelo facto dos afro-americanos terem tendência de consumir mais carne vermelha e processada e gordura animal do que nativos africanos rurais^(10, 19).

O metabolismo no cólon ocorre quando alimentos não digeríveis, e/ou não digeridos, atingem o intestino grosso e são fermentados pelas bactérias residentes. A relação entre a dieta e o CCR pode ser, em parte, explicada pelas atividades da microbiota intestinal, nomeadamente através da fermentação proteolítica, dos aminoácidos aromáticos e dos glicídeos complexos e através do metabolismo dos ácidos biliares^(7, 11).

Uma das primeiras e mais amplas associações conhecidas entre dieta e o CCR envolve o consumo de carne vermelha e processada (carne conservada em fumeiro, cura ou salga ou com adição de conservantes químicos, incluindo os contidos nos alimentos processados). Para esta associação têm sido propostos vários mecanismos que incluem a exposição a aminas heterocíclicas (HCAs), hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs), nitrato/nitrito e compostos N-

nitroso (NOCs), alterações na microbiota intestinal, ferro heme e, a ingestão de gordura animal.

Os HCAs e os PAHs são compostos presentes na carne, formados durante a confeção, que podem aumentar risco de CCR, devido à alquilação da base ADN e consequentemente formação de adutos de ADN ⁽²⁰⁾. Mais, a ingestão de carnes processadas, pode ter ainda uma íntima associação à mutagenicidade provocada pelas NOCs, que podem ser formados da ação proteolítica bacteriana ⁽²¹⁾.

Um dos efeitos do aumento do consumo de carnes vermelhas e processadas são as alterações na composição da microbiota, para uma mais enriquecida em bactérias patogénicas⁽¹⁰⁾. Como foi referido anteriormente, as bactérias do género *Bacteroidetes* estão significativamente aumentadas nos pacientes com CCR. Vários estudos mostraram uma relação entre estas bactérias e a proteína e gordura animal, o que sugere que o aumento do consumo de proteínas e gordura animal, características de uma dieta ocidentalizada, possam estar relacionados com o enriquecimento destas bactérias. Outra consequência do consumo de carne vermelha e processada é a promoção do crescimento de bactérias sulfato-redutoras (SRBs), como as *Desulfovibrio vulgaris* e *Desulfomonas spp.* ⁽⁷⁾ que convertem o gás H₂ num produto final inflamatório e genotóxico, sulfeto de hidrogénio (H₂S), também produzido pelo *Fusobacterium nucleatum*, em resposta ao consumo de carnes vermelhas. O H₂S inibe a oxídase do citocromo, inibe a síntese de mucina, suprime a utilização de butirato e promove a metilação do ADN através da geração de radicais. As SRBs também suprimem o crescimento das bactérias metanogénicas como *Archaea metanogénica (Methanobrevibacter smithii)* que bioinativa o H₂ em gás metano, não tóxico ⁽²⁰⁾. Outro subgrupo bacteriano, que inclui várias espécies do género *Bacteroides* e alguns *Firmicutes*,

são responsáveis pela fermentação de aminoácidos aromáticos levando à formação de potenciais produtos bioativos, como o ácido fenilacético, fenóis, indóis e p-cresol. Para além destes efeitos dos metabolitos finais, a carne vermelha contém o ferro heme que é mal absorvido pelo intestino delgado e por isso é metabolizado no colon, favorecendo a formação de compostos carcinogénicos, como NOCs, citotóxicos e aldeídos genotóxicos por peroxidação lipídica, o que causa danos na mucosa, inibe a apoptose, aumenta a hiperplasia das criptas e promove a proliferação das células epiteliais^(5, 20).

Geralmente o consumo de carnes vermelhas e processadas está associado ao consumo de gordura animal, que estimula a secreção de colesterol que é utilizado pelo fígado para produzir os ácidos biliares primários, como o ácido cólico (CA) e ácido quenodesoxicólico (CDA). Um elevado consumo de gordura, faz com que elevadas concentrações de CA e CDA alcancem o cólon onde bactérias específicas, como a *Clostridial spp.*⁽²⁰⁾, os desconjugam através de hidrolases (7- α hidroxilase) e convertem-nos via desidrogenação ou desidroxilação⁽²²⁾, em ácidos biliares secundários (SBAs), o ácido desoxicólico (DCA) e o ácido litocólico (LCA), respectivamente^(6, 7, 20). Esta transformação aumenta a hidrofilia destes ácidos biliares secundários, que danificam a mucosa do trato intestinal e contribuem para um aumento de ROS⁽⁶⁾ e de NOS⁽²⁾, estando negativamente correlacionados com os níveis de compostos anticarcinogénicos no cólon, tais como ácidos gordos de cadeia curta (AGCC)⁽²³⁾, danificam o ADN e consequentemente geram instabilidade genómica⁽²⁾ e beneficiam o crescimento tumoral – um processo que pode ser a chave do efeito de ácidos biliares na carcinogénese de cólon^(6, 7, 20).

Vários compostos carcinogénicos, incluindo os que são formados durante a confeção, são inativados no fígado pela conjugação do ácido glicurónico e são

excretados via biliar. No cólon, este processo pode ser revertido pela atividade da β -glicuronidase, que pode levar ao início e progressão do CCR via reativação de compostos tóxicos, para além de que a β -glicuronidase tem um papel importante no metabolismo dos genotóxicos e afeta a atividade e os efeitos secundários de alguns medicamentos anticancerígenos⁽²⁾.

Em 2007, o World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research (WCRF/AICR) e posteriormente, em 2011 o Continuous Update Project declararam que havia evidência convincente da associação entre o elevado consumo de carne vermelha e processada com um risco aumentado de CCR^(24, 25). Em 2007, 100 g/dia de ingestão de carne vermelha aumentava 29% o risco CCR enquanto no relatório 2011 a estimativa caiu para 17%. Relativamente à carne processada, as estimativas foram bastante estáveis (para 50 g/dia aumentava: 21% em 2007 e 18% em 2011).^(24, 25)

Uma meta análise, baseada em estudos prospetivos, realizada por Chan *et al.* concluiu que carne vermelha e processada estava associada a um aumento, de aproximadamente 20%, do risco de CCR, pelo aumento de 100 g/dia de carne vermelha e 50 g/dia de carne processada e, verificou uma relação linear com risco para uma ingestão de carnes vermelhas e processadas até 140 g/dia⁽²¹⁾.

Em 2015, o IARC Monographs Programme classificou, o consumo de carne vermelha como um provavelmente carcinogénico para humanos mas, a carne processada foi classificada como carcinogénica e o seu consumo promotor de CCR⁽²⁶⁾.

Dieta, microbiota e prevenção do cancro colo-rectal

Da mesma forma que a microbiota intestinal pode ser um fator de risco é legítimo discutir que também pode ser modulada a favor do hospedeiro, limitando a abundância de patogénios, impedindo infeções promotoras da carcinogénese⁽²²⁾ e promovendo o desenvolvimento precoce do sistema imunológico da mucosa intestinal. Neste sentido, modificações de hábitos alimentares e os probióticos parecem ser estratégias terapêuticas promissoras no CCR⁽¹⁰⁾. Assim, alguns componentes da dieta são metabolizados pela microbiota intestinal simbiótica em componentes alimentares bioativos que podem prevenir o cancro⁽²²⁾.

Existe evidência robusta que o consumo de alimentos contendo fibras protege do CCR⁽²⁵⁾. Define-se fibra como a parte comestível das plantas ou os seus extratos ou análogos glicídicos, que são resistentes a digestão e absorção no intestino delgado, mas são utilizados após fermentação completa ou parcial no intestino grosso pela microbiota residente. As fibras incluem polissacarídeos, oligossacarídeos e ligninas⁽²²⁾. A fibra dilui o conteúdo fecal, diminui o tempo de trânsito intestinal e aumenta o peso de fezes⁽²⁵⁾. Uma dieta rica em fibras estimula a fermentação sacarolítica e a produção AGCC, especialmente o butirato. Este metabolito tem propriedades anti-inflamatórias, anti-proliferativas e anticancerígenas^(9, 27). Ele atua como inibidor de desacetilases das histonas, regulando desta forma múltiplos genes, aumentando a proliferação celular facilitando a renovação do epitélio ou, em caso de inflamação, quando as células estão mutadas é um ativador de apoptose⁽²²⁾ inibindo assim a progressão das células tumorais. Interfere ainda com o sistema imunitário ajudando a suprimir o tumor⁽²⁰⁾. As bactérias produtoras de butirato, incluem o grupo *Clostridium IV* (*Faecalibacterium prausnitzii*) e XIVa, *Roseburia spp.*, *Butyricoccus*, bactérias

ácido lácticas (BAL), maioritariamente *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*⁽²⁰⁾, sendo as principais bactérias produtoras a *Faecalibacterium prausnitzii* e *Eubacterium rectale*.⁽¹²⁾

Geralmente *Bacteroides* estão presentes em dietas ricas em produtos de origem animal, predominantemente relativo a uma dieta ocidentalizada, já os *Bacteroidetes*, *Prevotellaceae* e *Prevotella* predominam numa dieta de padrão mediterrânico⁽²⁸⁾, assim como a *Prevotella* predomina numa dieta à base de produtos de origem vegetal dominada numa sociedade rural^(7, 9). De acordo com a revisão sistemática de Tuan *et al.* o elevado consumo de fibras e o baixo consumo de carne vermelha ou processada têm sido associados a um menor risco de CCR⁽²⁹⁾.

Como foi referido anteriormente, outra forma de modular a microbiota e restabelecer a homeostasia da microbiota é através do consumo de probióticos. Estudos experimentais sugerem que o consumo regular de probióticos pode melhorar o perfil quantitativo e qualitativo da microbiota intestinal.⁽¹²⁾ O interesse no uso de bactérias vivas, probióticos, microrganismos vivos que quando administrados em quantidades adequadas conferem benefícios para a saúde do hospedeiro^(30, 31), remonta ao início do século passado. As espécies mais usadas como probióticos são as *BAL*, das quais fazem parte as *Bifidobactérias*, *Lactobacilos*, *Enterococos*⁽⁹⁾. Estas bactérias representam um grupo heterogéneo de microrganismos que estão presentes tanto na dieta como no trato gastrointestinal. Existe evidência crescente que as *BAL*, têm efeitos anticarcinogénicos e propriedades anti-oxidantes, inibindo a atividade enzimática das bactérias que são importantes para a ativação pró-carcinogénica⁽⁷⁾, diminuírem a expressão da COX-2⁽¹²⁾, têm a capacidade de ativar macrófagos, as

células natural Killer (NK), linfócitos T e estimular a geração de uma série de citocinas⁽³²⁾, o que sugere que possam ser usadas na prevenção do CCR⁽³³⁾. Numa revisão mais recente, Reis A. *et al* avaliaram, em estudos *in vitro* e experimentais, os possíveis mecanismos de ação dos probióticos na prevenção do CCR. Os mecanismos consistiam na modificação da composição da microbiota intestinal, alterações na atividade metabólica da microbiota intestinal, ligação e degradação de compostos carcinogénicos presentes no lúmen intestinal, produção de compostos com atividades anticarcinogénicas, tais como AGCC e CLA, imunomodulação, melhoria da barreira intestinal, mudanças na fisiologia do hospedeiro e inibição da proliferação celular e indução da apoptose em células tumorais. Vários estudos mostram que *Bifidobacterium* e os *Lactobacillus* promovem a fermentação das fibras alimentares e aumentam os níveis de compostos anticancerígenos, como AGCC, ao promover um ambiente ácido, dificultam a formação de elevados níveis de ácidos biliares secundários e reduzem a incidência e a multiplicidade de células neoplásicas no cólon. Relativamente às propriedades antioxidantes das *LAB*, podem ser atribuídas à capacidade de eliminação de ROS através de mecanismos enzimáticos como o sistema acoplado NADH oxidase/peroxidase e catalase, à inibição enzimática e à diminuição da atividade ou inibição da auto-oxidação de ascorbato no intestino neutralizando radicais. Algumas bactérias probióticas, como a *L. casei* e *L. acidophilus* podem reduzir atividade das enzimas bacterianas de risco para o CCR, como a β -glicuronidase, azoredutase e nitroreductase. ⁽²³⁾ As *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* podem ainda evitar que ocorram danos no ADN e diminuir a atividade de agentes carcinogénicos tais como N-metil-N'-nitro-N-nitrosoguanidina (MNNG), 1,2-dimetilhidrazina (DMH) e Azoximetano (AOM) por eliminação de

intermediários reativos e pela produção de desactivadores carcinogénicos e enzimas antioxidantes, como a S-transferase da glutathione (GST), redutase da glutathione, peroxidase da glutathione, dismutase do superóxido e catalase.

Estabelecida a relação entre inflamação crónica e a carcinogénese é possível assumir a supressão do processo inflamatório através dos probióticos. Estes podem reforçar a atividade fagocítica dos macrófagos e regular as respostas imunitárias do organismo ⁽³²⁾.

Conclusão

A incidência do CCR tem vindo a aumentar não só nos países ocidentais mas também nos países em desenvolvimento. Supõem-se que associado a este aumento possa estar a adoção de uma dieta ocidentalizada caracterizada por um aumento de consumo de carnes vermelhas e processadas e gordura animal e uma diminuição do consumo de fibras. Este tipo de dieta pode provocar alterações na simbiose entre a microbiota intestinal e o hospedeiro levando à disbiose, que por sua vez conduz ao CCR. São necessários mais estudos em humanos e em modelos animais para descodificar e entender os mecanismos subjacentes à interação entre a dieta, CCR e microbiota.

Para a prevenção do CCR está identificado o papel das fibras alimentares bem como de probióticos. No entanto, são indispensáveis mais ensaios clínicos para elucidar quais os mecanismos mais eficazes, identificar outras potenciais espécies probióticas, a sua dose e via de administração e os seus metabolitos específicos ^(18, 34), os resultados do seu uso são promissores. Além disso, considera-se que existe falta de evidência sobre efeitos adversos associado ao seu consumo.

Referências Bibliográficas

1. Aziz Q, Dore J, Emmanuel A, Guarner F, Quigley EM. Gut microbiota and gastrointestinal health: current concepts and future directions. *Neurogastroenterology and motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society*. 2013; 25(1):4-15.
2. Gagniere J, Raisch J, Veziant J, Barnich N, Bonnet R, Buc E, et al. Gut microbiota imbalance and colorectal cancer. *World journal of gastroenterology*. 2016; 22(2):501-18.
3. Vogtman E, Hua X, Zeller G, Sunagawa S, Voigt AY, Hercog R, et al. Colorectal Cancer and the Human Gut Microbiome: Reproducibility with Whole-Genome Shotgun Sequencing. *PloS one*. 2016; 11(5):e0155362.
4. Prakash S, Rodes L, Coussa-Charley M, Tomaro-Duchesneau C. Gut microbiota: next frontier in understanding human health and development of biotherapeutics. *Biologics : targets & therapy*. 2011; 5:71-86.
5. Pope JL, Tomkovich S, Yang Y, Jobin C. Microbiota as a mediator of cancer progression and therapy. *Translational research : the journal of laboratory and clinical medicine*. 2017; 179:139-54.
6. Nistal E, Fernandez-Fernandez N, Vivas S, Olcoz JL. Factors Determining Colorectal Cancer: The Role of the Intestinal Microbiota. *Frontiers in oncology*. 2015; 5:220.
7. Manzat-Saplacan RM, Mircea PA, Balacescu L, Chira RI, Berindan-Neagoe I, Balacescu O. Can we change our microbiome to prevent colorectal cancer development? *Acta oncologica (Stockholm, Sweden)*. 2015; 54(8):1085-95.
8. Ursell LK, Clemente JC, Rideout JR, Gevers D, Caporaso JG, Knight R. The interpersonal and intrapersonal diversity of human-associated microbiota in key body sites. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2012; 129(5):1204-8.
9. Sun J, Kato I. Gut microbiota, inflammation and colorectal cancer. *Genes & diseases*. 2016; 3(2):130-43.
10. Marmol I, Sanchez-de-Diego C, Pradilla Dieste A, Cerrada E, Rodriguez Yoldi MJ. Colorectal Carcinoma: A General Overview and Future Perspectives in Colorectal Cancer. *International journal of molecular sciences*. 2017; 18(1)
11. Gao Z, Guo B, Gao R, Zhu Q, Qin H. Microbiota dysbiosis is associated with colorectal cancer. *Frontiers in microbiology*. 2015; 6:20.
12. Dos Reis SA, da Conceicao LL, Siqueira NP, Rosa DD, da Silva LL, Peluzio MD. Review of the mechanisms of probiotic actions in the prevention of colorectal cancer. *Nutrition research (New York, NY)*. 2017; 37:1-19.
13. Wang B, Yao M, Lv L, Ling Z, Li L. The Human Microbiota in Health and Disease [Review]. *Engineering* 2017; 3 (2017):71-82.
14. Oke S, Martin A. Insights into the role of the intestinal microbiota in colon cancer [Review]. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*. 2017
15. Borges-Canha M, Portela-Cidade JP, Dinis-Ribeiro M, Leite-Moreira AF, Pimentel-Nunes P. Role of colonic microbiota in colorectal carcinogenesis: a systematic review. *Revista espanola de enfermedades digestivas : organo oficial de la Sociedad Espanola de Patologia Digestiva*. 2015; 107(11):659-71.
16. Vogtman E, Goedert JJ. Epidemiologic studies of the human microbiome and cancer. *British journal of cancer*. 2016; 114(3):237-42.

17. Tjalsma H, Boleij A, Marchesi JR, Dutilh BE. A bacterial driver-passenger model for colorectal cancer: beyond the usual suspects. *Nature reviews Microbiology*. 2012; 10(8):575-82.
18. Ambalam P, Raman M, Purama RK, Doble M. Probiotics, prebiotics and colorectal cancer prevention. *Best practice & research Clinical gastroenterology*. 2016; 30(1):119-31.
19. Ou J, Carbonero F, Zoetendal EG, DeLany JP, Wang M, Newton K, et al. Diet, microbiota, and microbial metabolites in colon cancer risk in rural Africans and African Americans. *The American journal of clinical nutrition*. 2013; 98(1):111-20.
20. Vipperla K, O'Keefe SJ. Diet, microbiota, and dysbiosis: a 'recipe' for colorectal cancer. *Food & function*. 2016; 7(4):1731-40.
21. Chan D, Lau R, Aune D, Vieira R, Greenwood D, Kampman E, et al. Red and Processed Meat and Colorectal Cancer Incidence: Meta-Analysis of Prospective Studies [Meta-Analysis]. *PloS one*. 2011; 6(6):20456.
22. Bultman SJ. The microbiome and its potential as a cancer preventive intervention. *Seminars in oncology*. 2016; 43(1):97-106.
23. Kahouli I, Tomaro-Duchesneau C, Prakash S. Probiotics in colorectal cancer (CRC) with emphasis on mechanisms of action and current perspectives. *Journal of medical microbiology*. 2013; 62(Pt 8):1107-23.
24. Research WCRFAIfC. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a Global Perspective. 2007.
25. Research WCRFAIfC. Continuous Update Project Report. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Colorectal Cancer. 2011. 2011.
26. Organization TIAfRoC-WH. IARC Monographs evaluate consumption of red meat and processed meat. *Cancer TIAfRo*. Lyon, France; 2015. [atualizado em: 26 October 2015].
27. Goyal S, Nangia-Makker P, Farhana L, Yu Y, Majumdar AP. Racial disparity in colorectal cancer: Gut microbiome and cancer stem cells. *World journal of stem cells*. 2016; 8(9):279-87.
28. Gutierrez-Diaz I, Fernandez-Navarro T, Sanchez B, Margolles A, Gonzalez S. Mediterranean diet and faecal microbiota: a transversal study. *Food & function*. 2016; 7(5):2347-56.
29. Tuan J, Chen YX. Dietary and Lifestyle Factors Associated with Colorectal Cancer Risk and Interactions with Microbiota: Fiber, Red or Processed Meat and Alcoholic Drinks. *Gastrointestinal tumors*. 2016; 3(1):17-24.
30. Food JFWECoeoHaNPoPi. Probiotics in Food Health and nutritional properties and guidelines for evaluation. Rome; 2006.
31. Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, et al. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*. 2014; 11(8):506-14.
32. Djaldetti M, Bessler H. Probiotic strains modulate cytokine production and the immune interplay between human peripheral blood mononuclear cells and colon cancer cells. *FEMS microbiology letters*. 2017
33. Zhong L, Zhang X, Covasa M. Emerging roles of lactic acid bacteria in protection against colorectal cancer. *World journal of gastroenterology*. 2014; 20(24):7878-86.

34. Hakansson A, Molin G. Gut Microbiota and Inflammation [Review]. *Nutrients*. 2011;(3):637-82.