

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE - UNESC
PÓS-GRADUAÇÃO ESPECIALIZAÇÃO EM NUTRIÇÃO CLÍNICA**

ALINI MELO NASPOLINI

**PROBIOTICOS E PREBIOTICOS E SUA RELAÇÃO COM CANCER
COLORRETAL**

CRICIÚMA

2012

ALINI MELO NASPOLINI

**PROBIOTICOS E PREBIOTICOS E SUA RELAÇÃO COM CANCER
COLORRETAL**

Monografia apresentada ao setor de Pós-Graduação da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC, para a obtenção do título de especialista em Nutrição Clínica.

Orientador(a): Prof. MSc Telma Búrigo.

CRICIÚMA

2012

Dedico este trabalho a meus pais, aos quais devo toda a educação e formação que hoje possuo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelas oportunidades que me concedeu e pelo meu discernimento em optar pelo melhor caminho.

Agradeço também a minha orientadora pela paciência e adequada condução deste trabalho.

Agradeço ainda minha família: meus pais, meu irmão e minha irmã por todo incentivo dado a mim.

Por fim agradeço a meu namorado por sua inestimável compreensão e auxílio que me ergueram e me conduziram na busca da realização dos meus objetivos.

"Meia saúde e meia doença, eis o estado normal da vida."

Carlos Drummond de Andrade

RESUMO

O câncer é uma patologia que se caracteriza por um crescimento desordenado de uma população de células que escapam da regulação normal de crescimento, replicação e diferenciação possuindo a capacidade de invadir tecidos circundantes ou distantes. O câncer colorretal (CCR) origina-se primariamente de pólipos colorretais, que são projeções ou elevações da superfície da mucosa colorretal, originando-se de qualquer camada da parede intestinal. A epidemiologia do CCR envolve uma complexa interação entre fatores genéticos, individuais e fatores de ordem ambiental, principalmente a dieta. Um dos principais componentes dietéticos vinculados ao CCR são os prebióticos, probióticos e simbióticos, sendo o objetivo deste estudo a realização de uma revisão bibliográfica a respeito da utilização terapêutica de prebióticos e probióticos para prevenção e tratamento de neoplasias malignas de cólon e reto. Inúmeras evidências relevam a importância da manutenção de uma microbiota intestinal saudável como forma de prevenção ao desenvolvimento do câncer colorretal, sendo que a administração de simbióticos parece obter resultados mais expressivos em relação à administração de prebióticos ou probióticos de forma isolada. A inulina e os microorganismos da família dos *Lactobacillus* são os prebióticos e probióticos, respectivamente, mais utilizados em estudos vinculados ao CCR. O consumo de probióticos e prebióticos de forma conjunta aumenta os efeitos benéficos de cada um deles, uma vez que o estímulo de determinadas cepas probióticas são determinadas por substratos prebióticos específicos. No entanto, a maioria dos estudos existentes revelam conclusões a partir de pesquisas realizadas *in vitro* ou em animais, demonstrando a necessidade de estudos conclusivos realizado em humanos, para que a prática terapêutica possa ser mais eficiente.

Palavras-chave: prebióticos; probióticos; simbióticos; câncer colorretal.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGCC	Ácido graxo de cadeia curta
ANVISA	Agência de Vigilância Sanitária
CCR	Câncer colorretal
FCA	Foco de cripta aberrante
FOS	Fruto-oligossacarídeo
Ig-A	Imunoglobulina-A
INCA	Instituto Nacional de Câncer
NK	Natural killer
TGI	Trato gastrointestinal
TNF- α	Fator de necrose tumoral
UFC	Unidade formadora de colônia

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 METODOLOGIA	12
3 REFERENCIAL TEÓRICO	13
3.1 EPIDEMIOLOGIA E ETIOLOGIA DO CANCER	13
3.2 PREBIÓTICOS	15
3.2.1 Funções e fontes dos prebióticos	17
3.3 PROBIÓTICOS	18
3.3.1 Funções e fontes dos probióticos	20
3.4 RELAÇÃO ENTRE PREBIÓTICOS, PROBIÓTICOS E SIMBIÓTICOS COM CANCER COLORRETAL	22
3.5 ESTUDOS ENVOLVENDO PROBIÓTICOS COM CANCER COLORRETAL	25
3.6 ESTUDOS ENVOLVENDO PREBIÓTICOS COM CANCER COLORRETAL	28
4 CONCLUSÃO	31
REFERENCIAS	32

1 INTRODUÇÃO

As neoplasias malignas são umas das causas mais importantes de morbidade e mortalidade entre homens e mulheres e sua incidência vem aumentando nos últimos anos. Dentre as neoplasias, o câncer colorretal (CCR) destaca-se por sua alta incidência e sua relação com a integridade intestinal. Diante deste quadro, salienta-se a necessidade de medidas que diminuam a ocorrência desta patologia.

Está suficientemente documentado a estreita ligação entre microbiota intestinal e o maior risco para desenvolvimento de CCR. Do mesmo modo, sabe-se que uma microbiota saudável é dependente de uma dieta equilibrada que forneça ao intestino substratos capazes de promover a proliferação de bactérias benéficas, em detrimento de colônias patogênicas.

Dentre os componentes alimentares responsáveis pela saúde do intestino, destacam-se os prebióticos e os probióticos. Os prebióticos são nutrientes pertencentes ao grupo das fibras alimentares que não sofrem processo de digestão completa, mas são fermentados por bactérias intestinais. O resultado desta fermentação são substratos que propiciam proteção ao intestino contra a ocorrência de diversas patologias, dentre as quais lesões pre-neoplásicas.

As bactérias capazes de fermentar os prebióticos são denominadas probióticos, sendo caracterizados por gêneros específicos de bactérias benéficas que além da fermentação, impedem a colonização do intestino por bactérias patogênicas.

Estes compostos podem ser administrados de forma oral, suplementando a dieta. O consumo de probióticos e prebióticos de forma conjunta aumenta os efeitos benéficos de cada um deles, em uma interação simbiótica, uma vez que o estímulo de determinadas cepas probióticas são determinadas por substratos prebióticos específicos. Neste caso, podemos chamar de simbióticos os compostos que contem os dois substratos.

Uma adequada microbiota intestinal é fundamental para a manutenção da saúde, diminuindo o risco de aparecimento de alergias alimentares e doenças inflamatórias intestinais. Por outro lado, alterações no epitélio intestinal, causadas pelo desequilíbrio da microbiota, está intimamente correlacionado com o maior risco

de desenvolvimento do CCR. Sendo assim, a administração de simbióticos revela-se como potente fator protetor à ocorrência do câncer de cólon.

Diante do exposto, este trabalho tem como objetivo a realização de uma revisão bibliográfica a respeito da utilização terapêutica de prebióticos e probióticos para prevenção e tratamento de neoplasias malignas de cólon e reto.

2 METODOLOGIA

A busca bibliográfica para realização da presente revisão foi realizada pela própria pesquisadora no período entre março e maio de 2012 por meio de rastreamento de artigos científicos que enfocam a relação dos prebióticos e probióticos com o câncer de colorretal, publicados nas bases de dados eletrônicos (Bireme, Science Direct, Scielo).

O critério de seleção dos artigos considerou conter em seu título as palavras chaves: prebióticos e câncer colorretal (prebiotics and colorectal cancer), probióticos e câncer colorretal (probiotics and colorectal cancer) e prebióticos e probióticos no câncer colorretal (prebiotics and probiotics in colorectal cancer). Foram selecionados artigos na língua portuguesa e inglesa.

Foram selecionados 56 artigos relacionados com o tema pesquisado e após a seleção, foi realizada análise e discussão dos mesmos.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 EPIDEMIOLOGIA E ETIOLOGIA DO CÂNCER

O câncer é uma patologia que se caracteriza por um crescimento desordenado de uma população de células que escapam da regulação normal de crescimento, replicação e de diferenciação e que possuem a capacidade de invadir tecidos circundantes ou distantes. Essencialmente, as neoplasias resultam da função celular anormal, sendo estas anormalidades decorrentes de alterações na estrutura nucleotídica do DNA, conhecidas como mutações (WISEMAN, 2011).

O câncer colorretal (CCR) origina-se primariamente de pólipos colorretais, que são projeções ou elevações da superfície da mucosa colorretal, originando-se de qualquer camada da parede intestinal. Dividem-se de acordo com a sua histologia em: neoplásicos, hamartomatosos, inflamatórios e hiperplásicos. Estas alterações no epitélio colônico conhecidas como lesões benignas, evoluem para lesões malignas, denominados adenocarcinomas (ROSSI et al 2004; BODGER, 2000).

A etiologia do CCR tem sido melhor compreendida devido ao desenvolvimento em genética e biologia celular. Esta etiologia envolve uma complexa interação entre fatores genéticos individuais e fatores de ordem ambiental, principalmente a dieta. O denominado grupo de risco para o desenvolvimento de CCR inclui: indivíduos com idade superior a 40 anos com histórico pessoal ou familiar de adenoma ou adenocarcinoma colorretal; antecedentes de câncer no trato gastrointestinal, ginecológico ou na mama; portadores de doenças inflamatórias intestinais ou doenças genéticas ou lesões actínicas colorretais (CAMPOS et al, 2006).

De acordo com o Instituto Nacional do Câncer (INCA, 2007) os fatores nutricionais relacionados ao aumento do risco de desenvolvimento do câncer colorretal são: dieta com base em gordura animal, baixa ingestão de frutas, vegetais e cereais (alimentos ricos em fibra), além do consumo excessivo de álcool e tabagismo.

Devido a sua crescente incidência, o câncer consolidou-se um problema de saúde pública. De acordo com o Fundo Mundial para Pesquisas em Câncer (World Cancer Research Fund - 2011), no ano de 2008 houveram cerca de 12,7 milhões de casos de câncer em todo o mundo, destes, 6,6 milhões acometendo o sexo masculino e 6 milhões o sexo feminino. Estima-se que no ano de 2030 hajam 21 milhões de novos casos confirmados da doença. No Brasil, de acordo com o INCA (2011), estima-se cerca de 520 mil novos casos da doença para o ano de 2012. Os tipos de câncer mais incidentes nas regiões brasileiras são: de pele não melanona, próstata, mama e pulmão.

Em relação ao câncer colorretal (CCR), a estimativa para novos casos no Brasil, para o ano de 2012, é de 14.180 em homens e 15.960 em mulheres. Estes valores correspondem a um risco estimado de 15 casos novos a cada 100 mil homens e 16 a cada 100 mil mulheres. À nível mundial, o CCR é o terceiro tipo de câncer mais comum entre homens e o segundo entre o sexo feminino (INCA, 2011).

Sua incidência está aumentando em países onde o risco era considerado baixo, como Japão e outros países asiáticos. Por outro lado, em países sabidamente com alto risco para o desenvolvimento desse tipo de câncer, a sua incidência apresenta estabilidade ou até mesmo declínio, como é o caso dos países da Europa Ocidental, do norte Europeu, da América do Norte e da Austrália (INCA, 2011).

Este tipo de neoplasia é considerada de bom prognóstico quando diagnosticada em estágios iniciais. A sobrevivência média global em 5 anos se encontra em 55% nos países desenvolvidos e 40% para países em desenvolvimento. De igual modo à incidência, as taxas de mortalidade são mais baixas em mulheres do que em homens, exceto na região do Caribe (INCA, 2011).

Com relação à gênese do CCR, dentre os fatores dietéticos, destaca-se a dieta derivada ocidental, rica em gordura, proteína animal, calorias e pobre em fibras. Carne vermelha, carne processada e carboidratos refinados contribuem para maior risco. Outros fatores de risco incluem: álcool, aminas heterocíclicas e hidrocarbonetos aromáticos, estes últimos formados principalmente durante o processo de defumação e por exposição de alimentos a altas temperaturas, ao assar, fritar ou cozinhar os alimentos por longo períodos, principalmente os ricos em proteínas, como carnes e pescados. Estas substâncias são consideradas altamente carcinogênicas e genotóxicas (CAMPOS et al, 2006; MARQUES et al, 2009).

O mecanismo de ação das fibras no epitélio colônico envolve eventos físicos: alteração do tempo de trânsito intestinal, diluição do bolo fecal, aderência física ou química de agentes mutagênicos e efeitos secundários: geração de produtos da fermentação bacteriana e alteração do pH luminal (COPPINI et al, 2000).

A microbiota intestinal auxilia a conversão de fibras da dieta em AGCC e gases. O ácido butírico ou butirato é o alimento preferido dos colonócitos e é produzido pela ação da fermentação das bactérias intestinais sobre a fibra da dieta, particularmente os prebióticos. Reconhece-se que os AGCC exercem papel fundamental na fisiologia normal do cólon, no qual constituem a principal fonte de energia para os enterócitos e colonócitos, estimulam a proliferação celular do epitélio, o fluxo sanguíneo visceral e intensificam a absorção de sódio e água, ajudando a reduzir a carga osmótica de carboidrato acumulado (ALMEIDA et al, 2009).

Ainda conforme Coppini et al (2000), a carência de fibras aumenta o tempo de trânsito intestinal, elevando a concentração do conteúdo luminal e permitindo maior contato de agentes nocivos e carcinógenos eventualmente presentes na luz com a mucosa colônica. Dentre estes agentes, os metabólicos dos ácidos graxos (sais biliares) gerados pelo metabolismo de gorduras e proteínas animais seriam os elementos determinantes de alterações epiteliais, podendo culminar com o desenvolvimento de células neoplásicas no cólon.

Diante de sua gravidade, salienta-se a importância de se reconhecer medidas que possam ter influências na diminuição do risco para o desenvolvimento do CCR, assim como interferências terapêuticas em seu tratamento. Dentre estas medidas dietéticas, destacam-se a utilização de alimentos prebióticos e probióticos (INCA, 2003).

3.2 PREBIÓTICOS

O termo prebiótico refere-se a elementos não digeríveis que afetam benéficamente o hospedeiro por estimularem seletivamente a proliferação ou atividade de populações de bactérias desejáveis no cólon, podendo ainda atuar na

inibição da multiplicação de patógenos. Estes componentes alimentares atuam mais frequentemente no intestino grosso, no entanto, podem ter ação sobre os microrganismos do intestino delgado (SAAD, 2006).

Os prebióticos são carboidratos complexos, considerados fibras, resistentes às ações das enzimas salivares e intestinais, não sofrendo digestão e absorção no trato gastrointestinal superior, sendo fermentados no intestino grosso. A fermentação é realizada por bactérias anaeróbicas do cólon, levando à produção de ácido lático, ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e gases. Conseqüentemente, ocorre diminuição do pH do lúmen e estimulação da proliferação de células epiteliais do cólon (BORGES, 2001; SAAD, 2006).

Os principais prebióticos abordados na literatura científica relaciona-se aos fruto-oligossacarídeos (FOS) e a inulina, sendo que a inulina e o fruto-oligofrutose pertencem a uma classe de carboidratos denominados frutanos, que são considerados ingredientes funcionais, por exercerem influência sobre processos fisiológicos e bioquímicos no organismo, resultando em otimização da saúde e redução no risco de ocorrência de diversas doenças (SAAD, 2006).

O termo frutano é empregado para descrever todos os oligo ou polissacarídeos de origem vegetal e refere-se a qualquer carboidrato em que uma ou mais ligações frutossil-frutose predominam dentre as ligações glicosídicas. São os polissacarídeos não-estruturais mais abundantes na natureza, depois do amido. Estes estão presentes em grandes variedades de vegetais e, também, em algumas bactérias e fungos (SAAD, 2006).

Os frutanos do tipo inulina subdividem-se em 2 grupos gerais, sendo o primeiro grupo composto pela inulina e os compostos a ela relacionados e o segundo grupo composto pela oligofrutose e os fruto-oligossacarídeos (FOS). A inulina, oligofrutose e os FOS são quimicamente similares, sendo a única diferença o grau de polimerização, ou seja, o número de unidades de monossacarídeos que compõem a molécula (DAVIDSON; CARVALHO, 2007).

A inulina é um carboidrato polidisperso, constituído de subunidades de frutose (2 a 150), ligadas entre si e a uma glicose terminal, apresentando um grau médio de polimerização de 10 ou mais unidades. A oligofrutose e os FOS são termos sinônimos utilizados para denominar frutanos do tipo inulina com grau de polimerização inferior a 10. O termo oligofrutose é mais comumente empregado para

descrever inulinas de cadeia curta, obtidas por hidrólise parcial da inulina da chicória (SAAD, 2006).

Os FOS são carboidratos de cadeia curta (oligossacarídeos), sendo misturas de frutanos do tipo inulina de cadeia curta, constituídos por uma molécula de sacarose unida a uma ou mais unidades de frutose. São obtidos a partir da hidrólise da inulina pela enzima inulase, sendo na indústria sintetizados a partir da sacarose por ação da enzima frutossiltransferase. Estão naturalmente presentes em alimentos como cebola, alho, tomate, banana, cevada, aveia, trigo, mel e cerveja (SAAD, 2006; DAVIDSON, CARVALHO, 2007).

Os frutanos são fermentados pelas bactérias benéficas (bifidobactérias) do intestino grosso preferencialmente a outras fontes de carboidratos, como o amido, a pectina ou a polidextrose sendo estimuladas a crescer (efeito bifidogênico), causando alterações significantes na composição da microbiota intestinal pelo aumento de bactérias benéficas e consequente diminuição do número de bactérias potencialmente patogênicas (SAAD, 2006; DAVIDSON, CARVALHO, 2007).

3.2.1 FUNÇÕES E FONTES DOS PREBIÓTICOS

Dentre as funções fisiológicas do FOS destacam-se a alteração do trânsito intestinal contribuindo para o aumento da concentração de bifidobactérias no cólon. Os FOS interferem ainda em funções fisiológicas, como absorção de cálcio, metabolismo lipídico, modulação da composição da microbiota intestinal e diminuição do risco de câncer de colón (ROBERFROID, 2002; GIBSON, ROBERFROID, 1995).

Os prebióticos estimulam o crescimento de bactérias benéficas no intestino grosso, modificando favoravelmente a composição da microbiota intestinal, aumentando a atividade metabólica destas bactérias. Os prebióticos atuam ainda alterando o trânsito intestinal, reduzindo metabólitos tóxicos, prevenindo a diarreia e a obstipação (SAAD, 2006).

Os produtos finais da fermentação de substâncias prebióticas (ácido láctico e os ácidos graxos de cadeia curta, em especial o acetato, propionato e butirado) são responsáveis pela redução do pH no intestino grosso. Esta redução promove o

aumento de bactérias benéficas, por serem resistentes em meio ácido, ao passo que as bactérias patogênicas, sensíveis à acidez, têm seu número diminuído. As bactérias benéficas produzem e secretam bacteriocinas, substâncias antibacterianas que exercem efeito sobre a microbiota patogênica (MELO, 2004).

Em um estudo realizado com intuito de determinar os efeitos do FOS da chicória e inulina de cadeia longa na apoptose associada com carcinogênese, Hughes; Howland (2001) alimentaram 18 ratos divididos em 3 grupos com: dieta basal; dieta basal com FOS (5%) ou dieta basal com a inulina (5%), durante 3 semanas. A média do número de apoptose foi consideravelmente maior no cólon dos ratos alimentados com FOS ($p=0.049$) e com inulina ($p=0.017$) em comparação ao grupo alimentado somente com dieta basal. Este achado sugere que tanto a inulina de cadeia longa quanto o FOS exercem efeitos protetores nos estágios iniciais do desenvolvimento de câncer de cólon.

O consumo de alimentos prebióticos fornecem substratos para as bactérias benéficas e neste processo alguns nutrientes são formados como vitamina K, vitamina B₁₂, tiamina e riboflavina, além de gases e AGCC (BEYER, 2005).

Um dado importante em relação os fruto-oligosacarídeos (FOS) e a inulina, refere-se à quantidade administrada. Manning; Gibson (2004) estimaram que o consumo individual fosse de 4-8g/dia de FOS para que haja aumento significativo do número de Bifidobactérias no intestino humano.

Gostner et al (2006) realizaram um estudo duplo-cego, placebo-controlado e cruzado, no qual o consumo de 30g de isomalte (açúcar modificado produzido a partir da beterraba possuindo propriedades prebióticas) por 4 semanas levou a um aumento de 65% na proporção de Bifidobactérias e a um aumento de 47% no total de Bifidobactérias comparadas à administração de sacarose.

3.3 PROBIÓTICOS

A definição internacional de probióticos é dada pela Organização Mundial de Saúde (FAO, 2001): são microorganismos vivos, administrados em quantidades adequadas, que conferem benefícios a saúde do hospedeiro. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2002) define probióticos como microrganismos vivos

capazes de melhorar o equilíbrio intestinal, produzindo efeitos benéficos à saúde do indivíduo.

A microbiota intestinal apresenta um complexo equilíbrio entre microrganismos que normalmente residem no trato gastrointestinal (TGI). Este equilíbrio é conferido pela interação entre: (1) bactérias probióticas: microrganismos que exercem benefícios sobre a saúde, representando pequeno percentual da microbiota, entre 11 e 13%; (2) bactérias comensais: representam a maior quantidade das bactérias podendo equilibrar ou desequilibrar as funções do TGI e (3) bactérias patogênicas: responsáveis pelo desenvolvimento de doenças agudas ou crônicas, normalmente presentes em pequenas quantidades. Quando o meio é adequado proliferam, produzindo toxinas que podem lesionar a mucosa intestinal (DAVIDSON, CARVALHO, 2007).

A população de bactérias varia de acordo com a área do trato gastrointestinal humano. A microbiota do intestino delgado consiste em 10^3 - 10^4 UFC (unidades formadoras de colônia)/ml no íleo proximal, com predominância de bactérias gram-positivas aeróbicas, e 10^{11} - 10^{12} UFC/ml no íleo distal, com concentração de bactérias gram-negativas anaeróbicas. O curto espaço de trânsito através do intestino delgado não permite que haja maior crescimento bacteriano. Ao contrário, no cólon, onde o tempo de trânsito é mais prolongado, ocorre o estabelecimento de uma microbiota com número mais acentuado de bactérias (McFARLAND, 2000).

No colon, há três níveis distintos que podem ser observados: a microbiota dominante (10^9 - 10^{11} UFC/ml de conteúdo), constituída somente por bactérias anaeróbias estritas: *Bacteróides*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Bifidobacterium*; a microbiota subdominante (10^7 - 10^8 UFC/ml de conteúdo); predominantemente anaeróbia facultativa: *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* e algumas vezes *Lactobacillos* e a microbiota residual ($<10^7$ UFC/ml de conteúdo), contendo uma ampla variedade de microrganismos procarióticos: *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas*, *Veillonella*, além dos eucarióticos: leveduras e protozoários (NICOLI, 2003).

A ação bacteriana é mais intensa no intestino grosso. As bactérias colônicas contribuem para formação de gases e ácidos orgânicos (AGCC). Das variadas espécies de microrganismos considerados probióticos as mais utilizadas

são as espécies *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*. Estas espécies estão presentes em iogurtes, produtos lácteos e suplementos alimentares (CARUSO, 2005).

O gênero *Lactobacillus* é normalmente predominante no intestino delgado, sendo bactérias anaeróbias facultativas, possuem mais de 100 espécies. As *Bifidobacterium* são normalmente aeróbias estritas ou anaeróbias, predominando no intestino grosso, possuindo mais de 30 espécies (DAVIDSON, CARVALHO, 2007).

Dentre as bactérias pertencentes ao gênero *Bifidobacterium*, destacam-se *B. bifidum*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. lactis*, *B. animalis*, *B. longum* e *B. thermophilum*. Dentre as bactérias lácteas do gênero *Lactobacillus*, destacam-se: *Lb. acidophilus*, *Lb. helveticus*, *Lb. casei* – subsp. *paracasei* e subsp. *tolerans*, *Lb. fermentum*, *Lb. reuteri*, *Lb. johnsonii*, *Lb. plantarum*, *Lb. rhamnosus* e *Lb. salivarius* (SAAD, 2006).

3.3.1 FUNÇÕES E FONTES DOS PROBIÓTICOS

A microbiota intestinal saudável forma uma barreira contra os microrganismos patógenos, potencializando os mecanismos de defesa do organismo, melhorando a imunidade intestinal pela aderência à mucosa e estimulando as respostas imunes locais. Além disso, ela também compete por combustíveis intraluminais, prevenindo o crescimento das bactérias patogênicas (MATHAI, 2002).

Atua também na síntese de vitaminas do complexo B e vitamina K, participando de forma importante para o pool desta vitamina no organismo. Apresentam ainda importantes funções metabólicas e nutricionais, incluindo a hidrólise de ésteres de colesterol, de andrógenos, estrógenos e de sais biliares (BEYER, 2005; DAVIDSON, CARVALHO, 2007).

Sugere-se ainda como mecanismos da atuação dos probióticos: estímulo da resposta imune do hospedeiro, devido ao aumento da atividade fagocitária, da síntese de IgA e da atividade de linfócitos T e B; produção de compostos antitumorígenos ou antimutagênicos no cólon (butirato) e alterações nas condições físico-químicas do cólon, com diminuição do pH local (DENIPOTE et al, 2010).

Para que os probióticos possam ter sua atividade otimizada, é necessário que haja nutrientes para seu crescimento e reprodução, sendo o colon o local onde estas bactérias encontram os substratos ideais. Estes incluem todos os alimentos ingeridos que não foram absorvidos e que ultrapassam a válvula ileocecal, principalmente os prebióticos (DAVIDSON, CARVALHO, 2007).

O desequilíbrio na microbiota intestinal conhecido como disbiose intestinal, na qual ocorre predomínio das bactérias patogênicas sobre as bactérias benéficas, pode ser atribuído a diversos fatores, tais como: uso indiscriminado de antibióticos, que tanto atuam em bactérias nocivas como nas benéficas; uso de anti-inflamatórios hormonais e não-hormonais; abuso de laxantes; consumo excessivo de alimentos processados; excessiva exposição a toxinas ambientais; estresse e diverticulose. Outros fatores incluem ainda: idade avançada, tempo de trânsito, pH intestinal, disponibilidade de material fermentável e estado imunológico do indivíduo (ALMEIDA et al, 2009).

Os probióticos são fornecidos por alimentos processados ou por suplementos dietéticos com bactérias vivas. O iogurte é o alimento probiótico mais comum, no entanto, queijo, leites fermentados, sucos, barras nutritivas e fórmulas infantis também são veículos para a ingestão de probióticos. Os principais suplementos à disposição no mercado utilizam lactobacilos, estreptococos e bifidobactérias que são os constituintes normalmente encontrados na microflora gastrointestinal humana (DAVIS, MILNER, 2009).

Os leites fermentados são uma opção para ingestão oral de probióticos, sendo que sua ingestão pode alterar a função dos macrófagos e ativar células T e células B, provocando alterações imunológicas. Além disso, o leite fermentado tem ação anti-inflamatória e reguladora do intestino, devido ao aumento dos níveis de citocinas, imunoglobulinas e da atividade fagocitária (PIMENTEL; BARBALHO. 2007).

Com o objetivo de assegurar que os alimentos probióticos disponíveis no mercado possuam de fato viabilidade no intestino humano, a ANVISA (2008) determina que a quantidade mínima viável para os probióticos deve estar na faixa de 10^8 a 10^9 UFC na recomendação diária do produto pronto para consumo.

Para verificar a disponibilidade real de lactobacilos em produtos comerciais, em um estudo realizado por Hungria; Longo (2009) avaliaram um produto cujo rótulo indicava "Leite Fermentado Desnatado adoçado 80g" contendo

Lactobacillus casei na quantidade de 10^{10} a 10^{11} UFC. Foi analisada a viabilidade das bactérias 10 dias antes da data de validade, no dia do vencimento e dez dias após a data de validade. Os resultados mostraram que 10 dias antes da data de validade a quantidade era de $2,55$ a 8×10^7 UFC/ml; na data de validade era de 3 a $5,6 \times 10^5$ UFC/ml e dez dias após a data de validade era de $1,66 \times 10^4$ UFC/ml. Este estudo demonstrou que a quantidade indicada na embalagem não refletia a real quantidade contida no produto, apresentando somente a quantidade mínima necessária de acordo com o PIQ de Leite Fermentados, porém abaixo da recomendada pela ANVISA. Além disso, apresentou decréscimo na quantidade de microorganismos conforme a progressão tempo-prateleira, indicando que o consumo de ser realizado no maior tempo possível antes de sua data de validade.

Um estudo similar, conduzido por Pitino et al (2012), em humanos, avaliou a viabilidade de sete cepas de *Lb. Rhamnosus* utilizando queijo inoculado com os probióticos. Foi observada boa viabilidade para todas as amostras testadas, tanto em relação à digestão gástrica quanto à digestão no duodeno.

3.4 RELAÇÃO ENTRE PREBIOTICOS, PRÓBIOTICOS E SIMBIOTICOS COM CANCER COLORRETAL

A ligação entre desequilíbrio da microbiota intestinal e o desenvolvimento de câncer colorretal concentra-se na idéia de que agentes potencialmente carcinogênicos (corantes de alimentos, aflatoxinas, pesticidas, nitritos) e agentes causadores de câncer de fonte não-alimentar, como tabaco, são bioativados por sistemas de enzimas das bactérias intestinais. Estas bioativações podem levar a ocorrência de câncer numa velocidade maior em intestinos com populações microbianas desequilibradas (MATHAI, 2002).

Sabe-se que substâncias potencialmente carcinogênicas estando em contato prolongado com a mucosa colônica são capazes de iniciar e promover câncer colorretal. O maior volume de massa fecal teria efeito diluente e o trânsito intestinal mais rápido reduziria o tempo de contato de carcinógenos com o epitélio. A ingestão diária de polissacarídeo não-amido (fibra prebiótica) aumenta o peso das

fezes, onde ocorre relação inversa entre peso das fezes e incidência de câncer de cólon (MARQUES; WAITZBERG, 2000).

Além disso, as fibras poderiam agir na dinâmica do ciclo das células epiteliais intestinais. Ao sofrerem fermentação no cólon, os prebióticos produzem AGCC, sendo que o butirato sódico tem a capacidade de induzir o fenômeno da apoptose, ou morte celular programada, e também reduzir o pH intestinal. Os prebióticos em concentrações altas e em tempo prolongado em contato com a mucosa, poderia afetar o processo de proliferação compensatória celular colônica (MARQUES, WAITZBERG, 2000).

O papel desempenhado pelos prebióticos (inulina e oligofrutose) na redução da formação das criptas aberrantes, marcador pré-neoplásico precoce do potencial maligno no processo de carcinogênese do cólon, sugere que elas também tenham potencial para suprimir tal evento, por meio da modificação da microbiota do cólon (MARQUES, WAITZBERG, 2000).

Já os probióticos agem protegendo o hospedeiro contra a atividade carcinogênica, por meio de três mecanismos: (1) os probióticos teriam capacidade de inibir as bactérias responsáveis por converter substâncias pré-carcinogênicas, como hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e nitrosaminas, em carcinogênicos; (2) inibição direta à formação de células tumorais e (3) capacidade de ligação e/ou inativação carcinogênica (ORRHAGE et al, 1994; ROWLAND, 1975).

Além do efeito protetor ao CCR, os probióticos parecem ainda otimizar o sistema imunológico e inibir o crescimento de tumores já existentes. A administração de *Lactobacillus casei* relaciona-se com a indução de uma resposta antitumoral mediada por células T e a ativação de macrófagos, assim como a supressão da formação de tumores de cólon em camundongos. Já a ingestão de *Lactobacillus casei Shirota*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium longum*, aumentam o número de células que produzem IgA, aumentam a produção de macrófagos, anticorpos específicos contra determinados patógenos e fortalece a barreira da mucosa intestinal (PIMENTEL, BARBALHO, 2007).

Os mecanismos responsáveis pelos efeitos anti-tumorais dos *Lactobacillus* incluem a inibição da atividade das enzimas relacionadas a carcinogênese produzidas pelas bactérias intestinais. Já o efeito anti-tumoral do *L. Casei Shirota* pode ser explicado por meio de efeito imunopotencializador (PIMENTEL, BARBALHO. 2007).

A formação de AGCC pela fermentação colônica beneficia o epitélio intestinal, prevenindo a apoptose e conseqüentemente a atrofia da mucosa. No entanto, em células com carcinoma, o ácido graxo butirato tem demonstrado estimular a diferenciação, além de inibir a proliferação celular e induzir apoptose e inibir a angiogênese (DAVIS; MILNER, 2009).

Além disso, o butirato protege as células do colón contra o dano ao DNA, que em nível molecular, tem demonstrado afetar a expressão gênica via fosforilação e acetilização de proteínas histonas, particularmente H3 e H14. A hiperacetilização das histonas interrompe as interações iônicas com a espinha dorsal adjacente do DNA, criando cromatinas menos densas ou eucromatina e permite aos fatores de transcrição ativar genes específicos de proteção contra danos (DAVIS, MILNER, 2009).

Somado ao butirato, as bactérias também estão envolvidas na formação de outro grupo de ácidos graxos benéficos, chamados ácidos graxos linoléico conjugados. Esse grupo de isômeros do ácido linoléico possui propriedades anti-inflamatórias e preventivas ao câncer. Bactérias probióticas têm demonstrado a capacidade de converter ácido linoléico em acidolinoléico conjugado, diminuindo a viabilidade de células cancerígenas e induzindo a apoptose (WONG et al, 2005).

Segundo Denipote et al (2010), a administração conjunta de prebióticos e probióticos (simbióticos) possui efeito superior do que quando administrados separadamente.

Diversos biomarcadores para CCR podem ser favoravelmente alterados por intervenção simbiótica, conforme concluiu Rafter (2007). Seu estudo utilizou um composto simbiótico (inulina enriquecida com oligofrutose + *Lactobacillus rhamnosus* GG + *Bifidobacterium lactis* Bb12) em pacientes com câncer de cólon e polipectomizados. Esta intervenção simbiótica resultou em *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* aumentados e *Clostridium perfringens* diminuídos nas fezes, além de: reduzir consideravelmente a proliferação colorretal e a capacidade da água fecal em induzir necrose em células do cólon; aumentar a barreira funcional e diminuir a exposição a genotoxinas; prevenir o aumento na secreção de interleucina-2 pelas células sanguíneas mononucleares periféricas e aumentar a produção de interferon λ nos pacientes com câncer.

Em outro estudo com humanos sugerem que a administração de *Lactobacillus casei* diminui a recorrência de pólipos colônicos atípicos. A utilização

do simbiótico composto por *Lactobacillus Rhamnosus* e *Bifidobacterium Lactis* com inulina demonstrou ser eficaz na redução do dano ao DNA, proliferação de colonócitos e genotoxicidade da água nas fezes (biomarcador para risco de CCR) (DAVIS, MILNER, 2009).

3.5 ESTUDOS ENVOLVENDO PROBIÓTICOS COM CANCER COLORRETAL

Perdigón et al (1998) realizaram um estudo para avaliar os efeitos do iogurte em otimizar algumas funções do hospedeiro. Em seu estudo encontraram que a administração de iogurte induziu uma considerada diminuição da resposta imune inflamatória e inibiu o crescimento tumoral em ratos. Além disso, eles observaram um aumento de células secretoras de Ig-A e linfócitos T CD4+.

Urbanska et al (2009) estudaram as propriedades de células bacterianas probióticas microencapsuladas em uma formulação de iogurte em ratos portadores de linhagem germinativa com mutação APC. A administração oral diária do iogurte contendo *L. acidophilus* microencapsulado resultou em significativa supressão da incidência de tumor de cólon, multiplicidade e tamanho do tumor. Além disso, os animais tratados exibiram menos neoplasia intra-epitelial com um menor grau de displasia em tumores. Da mesma forma, Leblanc; Perdigón (2004) concluíram que uma dieta de iogurte oferecida a ratos antes e após o tratamento cancerígeno inibiu a formação de tumores.

Um estudo realizado na Finlândia demonstrou que apesar da alta ingestão de gordura, a incidência de câncer de cólon era menor do que em outros países devido a alta ingestão de leite, iogurte e outros produtos lácteos (RAFTER, 2003).

Um estudo de coorte realizado na Holanda demonstrou que a ingestão de produtos lácteos fermentados não foi associado de forma significativa ao risco de desenvolvimento do CCR em uma população de idosos com uma variação relativamente ampla no consumo de produtos lácteos. Após 1 semana de administração, nenhuma associação inversa com câncer foi encontrada. Aparentemente, os estudos de caso controle indicam efeitos protetores enquanto estudos prospectivos não (RAFTER, 2003).

Os mecanismos precisos pelos quais os probióticos inibem o câncer de cólon pode envolver múltiplas vias, incluindo o ciclo celular, espécies reativas de oxigênio, apoptose, produção de enzimas bacterianas específicas e efeitos sobre o metabolismo do indivíduo (ZHU et al, 2011).

Dentre as influências dos probióticos relacionadas ao ciclo celular, destaca-se a sua relação com a biossíntese das poliaminas, sendo estas substâncias cátions orgânicos com múltiplas funções relacionadas com a proliferação e diferenciação celular. Estes compostos desempenham importante papel em praticamente todas as etapas da tumorigênese colorretal. Portanto, para que a funcionalidade da célula esteja preservada, torna-se necessário que a quantidade de poliamina intracelular seja estritamente controlada. A administração de probióticos revela-se como importante meio de controle da síntese de poliaminas (ZHU et al, 2011).

Este achado foi encontrado por Orlando et al (2009) cujo estudo revelou que a administração de *Lactobacillus GG* induziu uma diminuição significativa na biossíntese de poliamina em células cancerígenas. O efeito antiproliferativo dos microorganismos probióticos foi observado 24 horas após o início do tratamento. A capacidade antiproliferativa dos probióticos também foi relacionada a sua habilidade de aderir a células. Da mesma forma, o estudo de Lee et al (2007) revelou a capacidade do probiótico *Bacillus polyfermenticus SCD* em aderir fortemente a células Caco-2 e inibir o crescimento de células de câncer de cólon em dose dependente.

Kim et al (2008) avaliaram a atividade anticancerígena e inibição da enzima bacteriana do *Bifidobacterium adolescentis* SPM0212. A cepa inibiu a proliferação de 3 tipos de células cancerígenas humanas: HT-29, SW480 e Caco-2 e também inibiu em dose dependente a produção de TNF- α e mudanças na morfologia celular. Esta cepa de bactérias específica poderia inibir enzimas fecais nocivas, incluindo β -glucuronidase, β -glucosidase, triptofanase e urease.

Muitos xenobióticos são desintoxicados pelo fígado por meio da formação de glucuronídeos, antes de entrar no intestino via bile. Devido à alta especificidade ao substrato, a enzima bacteriana β -glucuronidase tem a habilidade de hidrolisar muitos glucuronídeos, podendo assim liberar agliconas carcinogênicas no lúmen intestinal. Outras enzimas bacterianas possuem a mesma característica. A suplementação com probióticos que produzem ácido lático diminuiu

significativamente as atividades de algumas destas enzimas em estudo realizado com roedores. Este resultado foi igualmente encontrado em estudos realizados com humanos (RAFTER, 2003).

Os probióticos contribuem para o desenvolvimento do sistema imune da mucosa por influenciar a resposta inflamatória inata e reduzir a inflamação da mucosa. Probióticos também agem por meio de efeitos nas células dendríticas, células epiteliais e células T na lâmina própria do intestino, podendo assim influenciar a imunidade adaptativa (ZHU et al, 2011).

Em um estudo placebo-controlado conduzido por Aso et al (1992) envolvendo a administração de *L. casei Shirota* a 125 pacientes resultou no aumento da porcentagem de células T-Helper e células NK (natural killer) em pacientes adultos com CCR, sugerindo que a estimulação do sistema imune pelo probiótico mencionado possa ter importante papel na supressão do desenvolvimento de tumores.

Park et al (2007) avaliaram os efeitos do *B. polyfermenticus* no sistema antioxidante e o processo de carcinogênese de cólon em ratos machos. Os ratos que foram alimentados com *B. polyfermenticus* exibiram menos números de focos de criptas aberrantes (FCA) do que observado no grupo controle. A suplementação com o probiótico reverteu os danos ao DNA leucocitário, o nível de peroxidação lipídica plasmática e a baixa quantidade de antioxidantes plasmáticos. Estes resultados indicam que o *B. polyfermenticus* poderia exercer efeito protetor no sistema antioxidante e no processo de carcinogênese de cólon.

Com o intuito de investigar se a suplementação de *L. acidophilus* possui efeitos antimutagênicos em humanos, onze indivíduos saudáveis receberam uma dieta padronizada composta por carne frita (sabidamente relacionada ao aumento de mutagenicidade fecal), duas vezes ao dia por 3 dias. As dietas foram suplementadas com leite fermentado comum, sem efeito bifidogênico (fase 1) e logo após com *L. acidophilus* (fase 2). A atividade mutagênica foi determinada por meio de exame de urina e fezes. Tanto o exame de fezes quanto o de urina revelaram altos níveis de mutagenicidade na fase 1. Houve um aumento no lactobacilo da microbiota intestinal em 7 dos 11 indivíduos com suplementação de *L. acidophilus* (fase 2) e a atividade mutagênica na urina foi 72% e 55% menor no dia 2 e 3, respectivamente em comparação aos dias 2 e 3 da fase 1. A excreção mutagênica total nas fezes e urina no dia 3 durante a fase 2 foi 47% em comparação ao dia 3 da fase 1. Desta forma, a

administração conjunta de *L. acidophilus* e carne frita diminuíram a excreção mutagênica (LIDBECK et al, 1992).

Marteau et al (1990) mediram a capacidade de leites fermentados contendo *Lactobacillus acidophilus* A1, *Bifidobacterium bifidum* B1, *Streptococcus lactis* e *Streptococcus cremoris* em modificar as atividades metabólicas da microbiota humana. Nove indivíduos que consumiram 100g do referido produto três vezes ao dia por três semanas, mostraram menor concentração fecal de nitroreduases, azoredutases e β -glucuronidase do que exibiram durante os períodos controle, nos quais eles não consumiram nenhum tipo de leite fermentado.

Outros estudos demonstraram claramente a capacidade de probióticos em modificar as atividades enzimáticas bacterianas associadas ao aumento do risco de desenvolvimento de CCR (LING et al, 1992; LING et al, 1994; BOUHNİK et al, 1996).

Estes estudos apontam que a administração de probióticos é eficaz para a saúde intestinal, preservando e estimulando bactérias benéficas, permitindo que o intestino permaneça saudável, diminuindo o risco de desenvolvimento de CCR.

3.6 ESTUDOS ENVOLVENDO PREBIÓTICOS E SIMBIÓTICOS COM O CANCER DE COLORRETAL

A maioria dos resultados experimentais envolvendo prebióticos indica a sua relação de proteção ao CCR. Estes achados baseiam-se na propriedade dos prebióticos em induzir considerável modificação na microbiota intestinal com aumento do número de Bifidobactérias e *Lactobacillus* (KRUSE et al, 1999; BOUHNİK et al, 1999).

Evidências sugerem que simbióticos possam ser eficazes em alterar a composição da microbiota humana. A combinação simbiótica de inulina enriquecida com oligofrutose (SYN1) e *Lactobacillus rhamnosus* GG e *Bifidobacterium lactis* Bb12 por 12 semanas causou um aumento de 16% e 18% no número de *L. rhamnosus* e *B. lactis*, respectivamente, e uma diminuição de 31% no número de *Clostridium perfringens* (RAFTER et al, 2007).

Estudos em animais, conduzido por Deschner et al (1990) demonstraram que a produção de AGCC se correlaciona com a modulação bacteriana, proliferação, diferenciação e apoptose dos colonócitos. Além disso, a distribuição luminal de butirato em altas concentrações diminuiu a formação de criptas aberrantes em 45% dos ratos em comparação aos ratos não tratados com butirato, conforme estudo de Valazquez; Rombeau (1997).

Em ratos inoculados com flora humana e alimentados por uma dieta contendo lactulose, comparados aos alimentados por uma dieta contendo quantidade parecida de sacarose, os colonócitos do primeiro grupo tiveram menos dano ao DNA (ROWLAND et al, 1996).

Investigando a combinação simbiótica do amido resistente, *L. acidophilus* e *B. lactis*, Pool-Zobel et al (1996) identificaram aumento da apoptose de células cancerígenas no cólon de ratos após a administração do simbiótico. Em contraste, probióticos não ofereceram nenhuma proteção quando uma dieta pobre em amido resistente foi oferecida, da mesma forma, o amido resistente não causou nenhuma resposta protetora na ausência do probiótico, conforme relataram Le Leu et al, 2005.

Reconhece-se que a administração de probióticos, prebióticos ou simbióticos possa inibir a formação de criptas aberrantes (FCA). Ratos alimentados por uma dieta hiperlipídica e pobre em fibras suplementada com *B. polyfermenticus* (3×10^8 UFC c/1.3g) tiveram uma redução de 50% na formação de FCA comparados a ratos alimentados com dieta controle (PARK et al, 2007).

O efeito do probiótico em reduzir a formação de FCA parece ser otimizado adicionando-se à dieta, doses de inulina, sendo os simbióticos particularmente mais eficazes na redução de lesões colônicas e pré-neoplásicas em comparação à administração isolada de pré e probióticos (REDDY et al, 1997; RAO et al, 1998).

Este achado foi encontrado por Rowland et al (1998) cujo estudo em ratos apontou que a combinação de inulina e *B. logum* diminuiu a formação de FCA em 80%, enquanto que a inulina administrada isoladamente diminuiu 41% e o *B. logum* isolado diminuiu os FCA em 26%.

Um estudo realizado com humanos foi conduzido para se avaliar o efeito de um produto simbiótico contendo cepas de *L. rhamnosus* GG e *B. lactis* Bb12 e o prebiótico inulina ou um placebo (maltodextrose) em biomarcadores de risco para câncer de cólon em 37 pacientes com câncer de cólon e 43 polipectomizados. O tratamento com o simbiótico em pacientes com pólipos foi mais efetivo em diminuir o

dano ao DNA, a proliferação dos colonócitos e a genotoxicidade da água fecal (usada como biomarcador para risco de câncer de cólon) em relação ao placebo (LEE et al, 2006).

O consumo do simbiótico composto por oligofructose enriquecida com inulina (SYN1) + *L. rhamnosus* GG (LGG) and *B. lactis* Bb12 (BB12) preveniu o aumento na secreção de interleucina-2 pelas células sanguíneas mononucleares periféricas e aumentou a produção de interferon γ em pacientes com câncer (RAFTER et al 2007).

Estes estudos sugerem que simbióticos podem reduzir fatores múltiplos associados com o risco de câncer de cólon em humanos.

4 CONCLUSÃO

Apesar de serem relativamente novos os conceitos de prebióticos, probióticos e simbióticos, a compreensão de como componentes alimentares e sua relação com a microbiota intestinal possam prevenir a ocorrência de neoplasias colorretais tem tido considerável progresso.

Inúmeras evidências científicas relevam a importância da manutenção de uma microbiota intestinal saudável como forma de prevenção ao desenvolvimento do câncer colorretal, sendo que a administração de simbióticos parece obter resultados mais expressivos em relação à administração de prebióticos ou probióticos de forma isolada. São precários também os estudos relacionando os prebióticos, probióticos e simbióticos durante o tratamento deste tipo de câncer.

Em sua maioria, os estudos existentes revelam conclusões a partir de pesquisas realizadas *in vitro* ou em animais, demonstrando a necessidade de estudos conclusivos realizado em humanos, para que a prática terapêutica possa ser mais eficiente.

Devido a isto, mais estudos em humanos são necessários para que se possa estabelecer diretrizes a serem seguidas a fim de contribuir para a prevenção e tratamento nutricional do câncer colorretal.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, L.B. et al. Disbiose intestinal. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**. 2009; 24(1): 58-65.
- ASO, Y. et al. Prophylactic effect of a *Lactobacillus casei* preparation on the recurrence of superficial bladder cancer. **Urol Int** 1992;49:125-129.
- BEYER, P.L. Digestão, absorção, transporte e excreção de nutrientes. In: MAHAN, L.K.; ESCOTT-STUMP, S. **Krause – Alimentos , Nutrição e Dietoterapia**. São Paulo: Roca, 2005.
- BODGER, K. Colorectal câncer. **J R Coll Physicians**. London, 2000; 34:197-201.
- BORGES, V.C. Alimentos funcionais: prebióticos, probióticos, fitoquímicos e simbióticos. In: WAITZBERG, D.L. ed. **Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica**. 3 ed. V.2. São Paulo: Atheneu, 2001.
- BOUHNİK, Y. et al. Effects of *Bifidobacterium* sp. fermented milk ingested with or without inulin on colonic Bifidobacteria and enzymatic activities in healthy humans, **Eur J Clin Nutr**. 50 (1996) 269–273.
- BOUHNİK, Y. et al. Short chain fructo-oligosaccharides administration dose-dependently increases fecal bifidobacteria in healthy humans. **J Nutr** 1999;129:113–6.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n.º 2. **Regulamento técnico de substâncias bioativas e probióticos isolados com alegação de propriedades funcional e ou de saúde**. ANVISA: 7 de janeiro de 2002.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e/ ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos. **IX - Lista de alegações de propriedade funcional aprovadas**. ANVISA: 2008.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produção de Origem Animal. **Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados**. Resolução n 5 de 13 de novembro de 2000. Publicada no Diário Oficial da União, Brasília (DF), 2000. nov. 27; séc.1:9.
- INCA - Instituto Nacional de Câncer. Ministério da Saúde. **Falando sobre o Câncer de intestino**. Rio de Janeiro: INCA, 2003.
- INCA - Instituto Nacional de Câncer. Ministério da Saúde. **Estimativas 2008: Incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA, 2007.

INCA - Instituto Nacional de Câncer. Ministério da Saúde. **Estimativas 2012: Incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA, 2011.

CAMPOS, F.G. et al. Influência da dieta na gênese do câncer colorretal. In: WAITZBERG, D.L. **Dieta, Nutrição e Câncer**. São Paulo: Atheneu, 2006.

CARUSO, L. Distúrbios do trato digestório. In: CUPPARI, L. Guia de nutrição: Nutrição clínica no adulto. 2. ed. Barueri: Manole, 2005.

COPPINI, L.Z. et al. Fibras alimentares e ácidos graxos de cadeia curta. In: WAITZBERG, D.L. ed. **Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica**. 3 ed. São Paulo: Atheneu, 2000.

DAVIDSON, P. CARVALHO, G. Ecologia e disbiose intestinal. In: PASCHOAL V.; NAVES, A.; FONSECA, A.B.B.L. **Nutrição Clínica Funcional: dos princípios à prática clínica**. São Paulo: Valéria Paschoal, 2007.

DAVIS, C.D.; MILNER, J.A. Gastrointestinal microflora, food components and colon cancer prevention. **Journal of Nutritional Biochemistry** 20 (2009) 743–752.

DENIPOTE, F.G. et al. Probióticos e prebióticos na atenção primária ao câncer de cólon. **Arquivos de Gastroenterologia**. vol. 47. n.1. São Paulo. jan/mar. 2010.

DESCHNER, E.E. et al. Dietary butyrate (tributyryn) does not enhance AOM-induced colon tumorigenesis. **Cancer Lett** 1990;52:79–82.

FAO - Food and agriculture organization of the United Nations. WHO - World Health Organization. **Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic and bacteria**. Cordoba, 2001.

GIBSON, G.R.; ROBERFROID, M.B. Dietary modulation of human colonic microbiota: introducing the concept of the prebiotics. **Journal of Nutrition**.1995; 125:1401-1412.

GOSTNER, A. et al. Effect of isomalt consumption on faecal microflora and colonic metabolism in healthy volunteers. **Br J Nutr** 2006;95:40–50.

HUGHES, R.; ROWLAND, I. Stimulation of apoptosis by two prebiotics chicory fructans in the rat colon. **Carcinogenesis** 2001; 22:43–47.

HUNGRIA, T.D.; LONGO, P.L. Viabilidade de L. casei em alimento probiótico infantil relacionada a vida-de-prateleira. **Revista Saúde** 3(3) 2009

KRUSE, H.P. et al. Effects of inulin on faecal bifidobacteria in human subjects. **Br J Nutr** 1999;82:375–82.

LEE, H.C. et al. Effect of tea phenolics and their aromatic fecal bacteria metabolites on intestinal microbiota. **Res Microbiol** 2006;157:876–84.

LEE, N.K. et al. Adherence and anticarcinogenic effects of *Bacillus polyfermenticus* SCD in the large intestine. **Lett Appl Microbiol.** 44 (2007) 274-278.

LIDBECK, A. et al. Effect of *Lactobacillus acidophilus* supplements on mutagen excretion in faeces and urine in humans. **Microbiol Ecology in Health and Disease.** 1992;5:59-67.

LING, W.H. et al. Colonisation and fecal enzyme activities after oral *Lactobacillus* GG administration in elderly nursing home residents. **Ann Nutr Metab** 26 (1992) 162-166.

LING, W.H. et al. *Lactobacillus* strain GG supplementation decreases colonic hydrolytic and reductive enzyme activities in healthy female adults. **J Nutr** 124 (1994) 18-23.

MANNING, T.S.; GIBSON, G.R. Microbial gut interactions in health and disease. Prebiotics **Best Pract Res Clin Gastroenterol** 2004;18: 287–98.

MARQUES, C.G.; WAITZBERG, D.L. Fibras alimentares e câncer. In: WAITZBERG, D.L. ed. **Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica.** 3 ed. São Paulo: Atheneu, 2000.

MARQUES, A.C. et al. Formação de toxinas durante o processamento de alimentos e as possíveis conseqüências para o organismo humano. **Rev. Nutr.** vol.22 n.2 Campinas Mar./Apr. 2009.

MARTEAU, P. et al. Effect of chronic ingestion of a fermented dairy product containing *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* on metabolic activities of the colonic flora in humans. **Am J Clin Nutr.** 52 (1990) 685–688.

MATHAI, K. Nutrição na idade adulta. In: MAHAN, L.K. editor. ESCOTT-STUMP, S. **Krause – Alimentos, nutrição e dietoterapia.** 10 ed. São Paulo: Roca, 2002.

McFARLAND, L.V. Normal flora: diversity and functions. **Microbiol Ecology in Health and disease.** vol 12, n. 4 dec. 2000. 193-207.

MELO, E.A. Efeitos benéficos dos alimentos probióticos e prebióticos. **Revista de Nutrição Brasileira.** 174-179. 2004.

NICOLI et al. Probiticos: moduladores do ecossistema digestivo. In: MENDONÇA, R.C.S. **Microbiologia de alimentos: qualidade e segurança na produção e consumo.** Viçosa: UFV, 2003.

ORLANDO, A. et al. Effects of *Lactobacillus rhamnosus* GG on proliferation and polyamine metabolism in HGC-27 human gastric and DLD-1 colonic cancer cell lines. **Immunopharmacol Immunotoxicol.** 2009;31(1):108-16.

ORRHAGE, K. et al. Binding of mutagenic heterocyclic amines by intestinal and lactic bacteria. **Mutat Res.** 1994; 311:239-248.

PARK, E. et al. A probiotic strain of *Bacillus polyfermenticus* reduces DMH-induced precancerous lesions in F344 male rat. **Biol Pharm Bull** 30 2007;30:569–74.

PERDIGÓN, G. et al. Antitumour activity of yogurt: study of possible immune mechanisms. **J. Dairy Res.** 65. 1998. 129-138.

PIMENTAL, G.D.; BARBALHO, S.M. Probióticos no tratamento do câncer: aspectos atuais. **Nutrição em Pauta.** ano 15. n.54. mai/jun. 2007.

PITINO, I. et al. Survival of *Lactobacillus rhamnosus* strains inoculated in cheese matrix during simulated human digestion. **Food Microbiol.** 2012 Aug;31(1):57-63. Epub 2012 Mar 3.

POOL-ZOBEL, B.L. et al. *Lactobacillus*- and *bifidobacterium*-mediated antigenotoxicity in the colon of rats. **Nutr Cancer** 1996;26:365–80.

RAFTER, J. Probiotics and colon cancer. **Best Practice Research Clinical Gastroenterology.** Vol. 17. n.5, 2003.

RAFTER, J. et al. Dietary synbiotics reduce cancer risk factors in polypectomized and colon cancer patients. **Am J Clin Nutr** 2007;85:488–96.

RAO, C.V. et al. Prevention of colonic aberrant crypt foci and modulation of large bowel microbial activity by dietary coffee fiber, inulin and pectin. **Carcinogenesis.** 1998;19:1815–9.

REDDY B.S. et al. Effect of dietary oligofructose and inulin on colonic preneoplastic aberrant crypt foci inhibition. **Carcinogenesis** 1997;18:1371–4.

ROBERFROID, M.B. Functional food concept and its application to prebiotics. **Dig Liver Dis.** 2002, 34:105-110.

ROSSI, B.M. et al. Classificação morfológica de pólipos colorretais. IN: NAKAGAVA, W.; FERREIRA, F. **Câncer de cólon, reto e ânus.** São Paulo: Lemar e Tecmed, 2004.

ROWLAND, I.R.; GRASSO, P. Degradation of N-nitrosamines by intestinal bacteria. **Appl Microbiol.** 1975; 29:7-12.

ROWLAND, I.R. et al. The effect of lactulose on DNA damage induced by DMH in the colon of human flora-associated rats. **Nutr Cancer** 1996;26(1):37–47.

ROWLAND, I.R. et al. Effect of *Bifidobacterium longum* and inulin on gut bacterial metabolism and carcinogen-induced aberrant crypt foci in rats. **Carcinogenesis.** 1998;19:281–5.

SAAD, S.M.I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas.** v.42.n.1 jan/mar 2006.

- URBANSKA, A.M. et al. Estimation of the potencial antitumor activity of microencapsulated *Lactobacillus acidophilus* yogurt formulation in the attenuation of tumorigenesis in *Apc* (Min/+) mice. **Dig. Dis. Sci.** 54 (2009) 264-273.
- VALAZQUEZ, O.C.; ROMBEAU, J.L. Butyrate. Potential role in colon câncer prevention and treatment. **Adv Exp Med Biol** 1997;427:169–81.
- WISEMAN, M. Nutrição e câncer. In: MANN, J.; TRUSWELL, A. S. **Nutrição Humana**. vol.2. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.
- WONG, C.S. et al. The influence of specific luminal factors on the colonic epithelium: high-dose butyrate and physical changes suppress early carcinogenesis events in rats. **Dis Colon Rectum**. 2005;48:549-559.
- WORLD CANCER RESEARCH FUND (WRCF) Cancer statistics. Washington, DC. **American Intitute for Cancer Research**, 2011.
- ZHU, Y. et al. Gut microbiota and probiotics in colon tumorigenesis. **Cancer Letters**. 309 (2011).