

# REVISÃO BIBLIOGRÁFICA DOS PRINCIPAIS MAR- CADORES MICROBIANOS PARA DIAGNÓSTICO DE CÂNCER COLORRETAL

## LITERATURE REVIEW OF THE MAIN MICROBIAL MARKERS FOR DIAGNOSIS OF COLORECTAL CANCER

Eduardo Bueno Carneiro<sup>1</sup>

Junio Cesar da Silva<sup>2</sup>

Jonas Souza da Silva<sup>3</sup>

Juliana Marcon Henke<sup>4</sup>

Anderson Iacer Bueno<sup>5</sup>

**Resumo:** O objetivo do presente trabalho é promover uma revisão dos principais marcadores microbianos para detecção de câncer colorretal (CCR), bem como explicar as dificuldades envolvidas em sua padronização. Diversos estudos mostram eleva-

ção de certos micro-organismos em detrimento ao microbioma intestinal durante o desenvolvimento do CCR e um dos motivos que os favorecem são os fatores de virulência. *Streptococcus gallolyticus* subs. *gallolyticus* e *Clostridium symbosium* estão

- 
- 1 Universidade Cruzeiro do Sul
  - 2 Universidade Cruzeiro do Sul
  - 3 Universidade Cruzeiro do Sul
  - 4 Universidade Cruzeiro do Sul
  - 5 Universidade Cruzeiro do Sul



dentre os principais marcadores microbianos. Entretanto, isolados não demonstram a sensibilidade e especificidade ideais para detecção de CCR, sendo o resultado otimizado associando alguns marcadores com os já usuais, como a hemoglobina fecal humana (F-HB). Estes marcadores se mostram promissores havendo, porém, necessidade de maiores estudos para sua padronização.

Palavras chaves: Marcadores microbianos. Câncer colorretal. Microbioma.

Abstract: The objective of the present work is to promote a review of the main microbial markers for detection of colorectal cancer (CRC), as well as to explain the difficulties involved in their standardization. Several studies show the elevation of certain microorganisms to the

detriment of the intestinal microbiome during the development of CRC and one of the reasons that favor them are virulence factors. *Streptococcus gallolyticus* subs. *gallolyticus* and *Clostridium symbiosum* are among the main microbial markers. However, isolates do not demonstrate the ideal sensitivity and specificity for CCR detection, and the result is optimized by associating some markers with the usual ones, such as human fecal hemoglobin (F-HB). These markers are promising, however, there is a need for further studies for their standardization.

**Keywords:** Microbial markers. Colorectal cancer. Microbiome.

## INTRODUÇÃO

Métodos usuais para triagem de câncer colorretal



(CCR), como colonoscopia e hemoglobina fecal humana (F-Hb), podem apresentar limitações como desconforto e sensibilidade insuficiente em alguns tipos de amostras. Assim, marcadores microbianos demonstram uma alternativa promissora quando associados entre eles e com o F-Hb e o uso está justificado pela alteração do microbioma intestinal durante o desenvolvimento do CCR, elevando algumas espécies mencionadas em diversos estudos como *Clostridium symbiosum* e *Streptococcus gallolyticus* subs. *gallolyticus* devido aos fatores de virulência envolvidos.

## DESENVOLVIMENTO

O câncer colorretal (CCR) é desenvolvido na porção em que se localiza o intestino grosso, reto ou ânus, sendo classificado a partir da localização

anatômica primária do tumor em: 1. câncer de cólon esquerdo (CCE), 2. câncer de cólon direito (CCD), 3. câncer retal (CR), quando existe acometimento do canal retal. Na atualidade o CCR é considerado como a terceira neoplasia mais frequente no mundo, e a quarta com maior índice de mortalidade. De acordo com o Instituto Nacional do Câncer (INCA) é a terceira neoplasia mais predominante no sexo feminino e a quarta mais incidente no sexo masculino. Geralmente é observado como sintomas a constipação intestinal de evolução progressiva, diarreia, tenesmo, alteração do aspecto e coloração das fezes, fraqueza, dor e perda de peso.

O prognóstico do câncer colorretal (CCR) está sujeito majoritariamente ao estágio do tumor no momento do diagnóstico. (Hong-Xie et al, 2017). Métodos



usuais de triagem são baseadas principalmente na detecção de hemoglobina fecal humana (F-Hb) e colonoscopia, sendo esta última demorada, cara e desconfortável para o paciente (Hong-Xie et al, 2017). Os testes para imunológica F-Hb (FIT) são, no entanto, pobres na detecção de lesões não hemorrágicas e não têm sensibilidade o suficiente para detectar adenoma avançado ou câncer. (Hong-Xie et al, 2017).

A população bacteriana comensal possui papel fundamental para o hospedeiro não apenas quanto ao fornecimento de nutrientes quanto pela proteção às bactérias patogênicas (Boleij et al, 2011). Estudos recentes destacaram a disbiose do intestino aumenta o risco de desenvolver CCR, e ainda apontaram uma segregação estrutural de espécies bacterianas entre os pacientes com CCR e indivíduos saudáveis

(Hong-Xie et al, 2017). Algumas bactérias são alteradas ou mais frequentemente presentes em pacientes com CCR, enquanto algumas espécies são suprimidas em comparação com indivíduos não acometidos pela doença. (Hong-Xie et al, 2017). Ultimamente, um modelo microbiano passageiro para carcinogênese tem sido sugerido, em que algumas bactérias promovem câncer enquanto outras se acumulam devido a uma maior densidade no sangue resultante do microambiente alterado (Hong-Xie et al, 2017).

O sistema digestório é composto por diferentes espécies de micro-organismos cuja concentração varia conforme o segmento (Boleij et al, 2011). O cólon é o segmento do intestino que possui a maior colonização bacteriana, e é também o mais acometido pela neoplasia (146,970 casos nos Estados Uni-



dos) sendo o *Streptococcus bovis* um dos micro-organismos correlacionados ao Câncer Colorretal (CCR) e a endocardite, atualmente denominado por Schlegel como *Streptococcus gallolyticus* subsp *gallolyticus* (Boleij et al, 2011). Fato também observado por Villéger et al (2020) o enriquecimento da população de *Streptococcus gallolyticus* subsp *gallolyticus*, bactérias do gênero *Fusobacterium* e *P. micra*.

Neste caso, o *Streptococcus gallolyticus* subsp *gallolyticus* se comporta como um micro-organismo oportunista, uma vez que as barreiras protetórias físicas alteradas comprometem a concentração de bactérias comensais (Boleij et al, 2011). As células caliciformes dentro do epitélio secretam muco para proteger o mesmo e para contribuir o fluxo do conteúdo intestinal, e os enterócitos secretam peptíde-

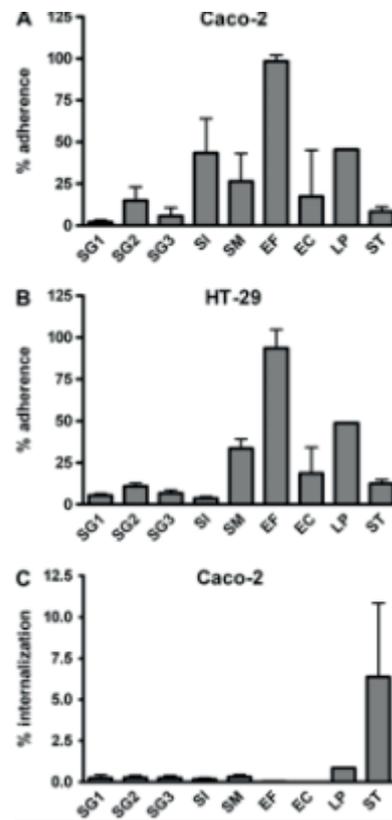
os antimicrobianos e moleculares e ambas com as funções afetadas somada a diminuição da permeabilidade das junções apertadas contribuem para o desenvolvimento do micro-organismo (Boleij et al, 2011).

A estrutura da cápsula aponta em uma maior capacidade de ligação em relação com outras bactérias oportunistas estudadas conforme demonstra a figura 1, porém o trabalho demonstra que o *Streptococcus gallolyticus* subsp *gallolyticus* é incapaz de colonizar um trato intestinal saudável, uma vez que as células utilizadas em estudos de cultivo celular não são responsivas ao patógeno, explicando a importância da baixa resposta imunológica como fator para desenvolvimento do câncer (Boleij et al, 2011). Dessa forma, encontra-se títulos aumentados de anticorpos em pacientes assintomáticos ou



até mesmo presença em corrente sanguínea em pacientes com neoplasia maligna de cólon (Boleij et al, 2011).

Figura 1: Aderência bacteriana e invasão às células epiteliais (Boleij et al 2011).



A, B, Aderência bacteriana e invasão de células epiteliais. A adesão das bactérias intestinais indicadas às células de câncer colorretal Caco-2 (A) e HT-29 (B) foi analisada após 2 h de exposição bacteriana. C, internalização bacteriana após 2 h em células Caco-2. A adesão é apresentada como porcentagem dos inóculos bacterianos e a subsequente internalização bacteriana como porcentagem de bactérias aderentes. EC, *Escherichia coli*; EF, *Enterococcus faecalis*; LP, *Lactobacillus plantarum*; SG1, *Streptococcus gallolyticus subsp gallolyticus* UCN34; SG2, *S. gallolyticus subsp gallolyticus* 1293; SG3, *S. gallolyticus subsp gallolyticus* NTB1; SI, *Streptococcus infantarius subsp infantarius*; SMS, *S. gallolyticus subsp macedonicus*; ST, *Salmonella typhimurium*.

Com isso, compreende-se que para se desenvolver uma infecção hospitalar é necessária a presença de simultânea de colágeno nos sítios de infecção

secundária como nas valvas cardíacas associada a uma baixa resposta imunológica (Boleij et al, 2011). Análises histológicas comprovaram a presença de colágeno



do tipo IV no tecido intestinal concedendo uma vantagem ao *S. gallolyticus* subsp *gallolyticus* (Annemarie Boleij et al, 2011).

Outros fatores de virulência de populações microbianas possuindo gene capaz de alterar a microbiota do trato intestinal que se relacionam com o desenvolvimento de CCR em pacientes são descritas por Yang et al (2020) como reações bioquímicas por síntese, desminização e descarboxilação.

O estudo de Lowenmark et al (2020) utilizou ensaios de qPCR (PCR em tempo real), direcionados para investigar marcadores microbianos fecais para detecção de CCR, com uma segunda coorte maior para validação, constataram abundância de *Parvimonas micra* em amostras fecais de pacientes com CCR em comparação aos controles, com sensibilidade de até 60,5% e es-

pecificidade de até 92,6%, resultados estes aprimorados pela adição de marcadores microbianos *Fusobacterium nucleatum* e bactérias produtoras de colibactina, bem como F-Hb, aumentando-se a sensibilidade da triagem, porém diminuindo a especificidade.

O trabalho de Jun Xu et al (2020) encontrou também *P. micra* em amostras fecais quanto nos tecidos amostras de pacientes com CCR em comparação com os controles, além de também concordar com a potencialização da detecção de CCR através da associação de dois ou mais marcadores, como medições de qPCR de *P. micra* e *F. nucleatum*. Entretanto não houve diferença significativa nos níveis de *P. micra* entre amostras fecais de controles e displasias sugerindo que não está presente em lesões pré-cancerosas e é mais provável que seja um passageiro do que um condutor



da tumorigênese (Jun Xu et al 2020). Ou seja, representa como um marcador de detecção pobre de lesões pré-cancerosas, o que não é ideal do ponto de vista de triagem. (Jun Xu et al 2020).

Outro estudo envolvendo detecção de material genético em amostras fecais bem como em tecidos histológicos intestinais avaliou 242 controles saudáveis, 212 pacientes com adenomas e 327 pacientes com CCR apontou que não foram observados riscos aumentados em pacientes com bactérias por micro-organismos não associados a neoplasias colorretais (Yang et al 2020). Dessa forma, compreende-se o predomínio de *Clostridium symbiosum*, alcançando alto índice dessas bactérias no estadiamento T4 (câncer infiltrado mais profundo) e um aumento significativo gradual de *C. symbiosum* em CCR inicial e CCR avançado, que

também se manteve como uma espécie rara relatada entre várias microbiotas intestinais associadas ao CCR, tornando-se um marcador promissor na neoplasia do cólon, especialmente para o CCR em estágio inicial (Yang et al 2020).

Ressalta-se que o trato intestinal sofre alterações por vários fatores externos como hábitos de vida e exposição a antibióticos que devem ser considerados ao aplicar biomarcadores para CCR (Yang et al 2020). O estudo frisou a detecção precoce de *Clostridium symbiosum* e *Coprobacillus* com alta precisão em pacientes com CCR, sendo o segundo micro-organismos característico de indivíduos com consumo de álcool, mais precisamente na região de Chongqing, onde esses produtos são mais amplamente distribuídos. (Yang et al 2020).



Esse estudo também aborda que desequilíbrio da flora intestinal é um fator de risco para a carcinogênese do CCR, constatando-se que as bactérias do gênero *Fusobacterium* estavam elevadas em carcinomas (Yang et al 2020).

O estudo defende a utilização de *Fusobacterium* e *Clostridium symbiosum*, já que os dois podem ser considerados biomarcadores não invasivos para diagnóstico de CCR (Zhang et al 2020). Em concordância, há relatos desse gênero expressar fatores de virulência responsáveis pela ativação da via WNT, promovendo crescimento tumoral (Yang et al 2020).

O transplante de *Clostridium symbiosum* para camundongos com deficiência de nutrição livre de germes podem promover a síntese de proteínas para o epitélio intestinal local,

sugerindo um potencial fator para desenvolvimento desta carcinogênese (Zhang et al 2020).

Proteínas anormais ou expressão de mRNA, além de mutações genéticas estão presentes nas fezes ou fluidos corporais fazem parte de programas de triagem para CCR devido suas sensibilidades de detecção promissoras, porém seus altos custos e taxas de positividade podem levar a maiores demandas dos departamentos de endoscopia e a ausência de validação, atualmente continua sendo a principal limitação dentro dos serviços especializados de saúde (Villéger et al 2018).

Saliva é um fluido biológico que pode ser adequado para detecção de biomarcadores (Villéger et al 2018). As composições microbianas orais podem, teoricamente, refletir a saúde bucal e geral status e baseando nis-



so Flemer et al desenvolveu um modelo de classificação baseado na microbiota do swab oral que distinguiu indivíduos com CCR ou pólipos de controles - sensibilidade: 53% CCR, 67% pólipos; especificidade: 96% - (Villéger et al 2018). Ressalta-se que ambas as microbiotas fecal e oral foram consideradas eficazes, elevando a sensibilidade para 76% para CCR e 88% para pólipos (Villéger et al 2018).

## CONCLUSÃO

A complexidade do microbioma torna o diagnóstico de câncer colorretal baseado em marcadores microbianos em um verdadeiro desafio. Como exemplos, tem-se bactérias do gênero *Fusobacterium*, *Streptococcus galolyticus* subsp. *Gallolyticus* e *Clostridium symbiosum*, mas sem um marcador microbiano

universal definido para detecção de CCR, já que há diversidade de microbiota devido ao sexo, idade, dieta, estilo de vida, uso de medicamentos, etnia ou localização.

Além disso, a padronização em termos de processamento e análise de amostras requer mais estudos para se consolidar, necessitando do uso combinado de marcadores microbiológicos somado aos já usuais para se chegar a um resultado de detecção seguro e precoce para o paciente.

Em suma, os marcadores microbianos se mostram bastante promissores para diagnóstico de câncer colorretal, porém necessitam de estudos e investimentos para padronização.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

EVELLYN et al. Câncer color-



retal no brasil: aspectos topográficos e epidemiológicos. Centro Universitário de Anápolis – Unievangélica, Anápolis, Goiás, 2019.

VILLÉGER, R. et al. Microbial markers in colorectal cancer detection and/or prognosis. *World J Gastroenterol* , v. 24, n. 22, p. 2327. - 2347, 2018.

LOWENMARK, T. et al. *Parvimonas micra* as a putative non-invasive faecal biomarker for colorectal cancer. *Sci Rep* , v. 10, n. 1, p. 15250, 2020

HONG-XIE et al. Fecal *Clostridium symbiosum* for Noninvasive Detection of Early and Advanced Colorectal Cancer: Test and Validation Studies. *Rev. Discovery Science*. V. 25, Pages 32-40, november 2017.

JIAN YANG, Dongfang Li,

Zhenyu Yang, Wenkui Dai, Xin Feng, Yanhong Liu, Yiqi Jiang, Pingang Li, Yinhu Li, Bo Tang, Qian Zhou, Chuangzhao Qiu, Chao Zhang, Ximing Xu, Su Feng, Daxi Wang, Heping Wang, Wenjian Wang, Yuejie Zheng, Lin Zhang, Wenjie Wang, Ke Zhou, Shuaicheng Li & Peiwu Yu. Establishing high-accuracy biomarkers for colorectal cancer by comparing fecal microbiomes in patients with healthy families, *Gut Microbes*, 11:4, 918-929, 2020.

ZHANG et al. A comprehensive analysis of the microbiota composition and gene expression in colorectal cancer. *BMC Microbiology*, 20:308, 2020.

BOLEIJ et al. Novel Clues on the Specific Association of *Streptococcus gallolyticus* subsp. *gallolyticus* With Colorectal



Cancer. The Journal of Infectious

Diseases, Volume 203, Issue 8,

15 April 2011, Pages 1101–1109

JUN XU et al. Alteration of the

abundance of Parvimonas mi-

cra in the gut along the adenoma

carcinoma sequence. Oncol Lett.

2020 Oct; 20(4): 106, 2020.

