



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA**

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO SOBRENADANTE DE *Lactobacillus casei* SOBRE A PROLIFERAÇÃO CELULAR DE LINHAGENS DE CÂNCER DE ENDOMÉTRIO

LUCAS DE OLIVEIRA SILVA KELLY

Brasília - Distrito Federal
2025

LUCAS DE OLIVEIRA SILVA KELLY

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO SOBRENADANTE DE *Lactobacillus casei* SOBRE A PROLIFERAÇÃO CELULAR DE LINHAGENS DE CÂNCER DE ENDOMÉTRIO

Trabalho de Conclusão apresentado ao Curso de Farmácia da Universidade de Brasília como requisito parcial à obtenção do título de bacharel em farmácia

Orientador: Prof. Dr. Luiz Alberto Simeoni

Coorientador: Msc. Rafael Abe da Rocha Miranda

Brasília - Distrito Federal
2025

Resumo

O câncer é uma doença que afeta boa parte da população mundial. Dentre eles, o câncer de endométrio aflige a qualidade de vida de quem por ele é afetado. Por consequência, diversos estudos são realizados a fim de entender a doença e, possivelmente, encontrar a cura.

A identificação de um efeito antiproliferativo do sobrenadante de *Lactobacillus sp.* em células de câncer vem sendo estudado por diversos pesquisadores, chamando a atenção para o potencial terapêutico deste tratamento.

Buscando investigar o efeito do *Lactobacillus casei* em células de linhagem de câncer de corpo de útero, foi realizado um estudo preliminar sobre o efeito do sobrenadante neste tipo de células carcinogênicas.

Para este estudo, utilizou-se de ensaios de viabilidade celular mitocondrial e de membrana com o objetivo de verificar os efeitos do sobrenadante em células cancerígenas, e, com isso, seu possível efeito no crescimento e proliferação, podendo apresentar um potencial efeito anticarcinogênico.

Os resultados mostraram que o sobrenadante de *L. casei* reduziu a viabilidade mitocondrial e da membrana plasmática, avaliadas quando em tratamento com concentrações acima de 75%, e mesmo em concentrações mais baixas de até 10%. Estes dados são promissores, possibilitando estudos mais aprofundados sobre os efeitos que as substâncias liberadas pelo metabolismo celular destas bactérias podem exercer em células de câncer, contribuindo para o futuro desenvolvimento de fármacos contra essa enfermidade.

Palavras chaves: *L. casei*, câncer de endométrio, sobrenadante livre de células, câncer de corpo de útero.

Abstract

Cancer is a disease that affects a large part of the world's population. Among them, endometrial cancer affects the quality of life of those affected by it. As a result, various studies are being carried out in order to understand the disease and possibly find a cure.

The identification of an antiproliferative effect of *Lactobacillus* sp. supernatant on cancer cells has been studied by several researchers, drawing attention to the therapeutic potential of this treatment.

In order to evaluate the effect of *Lactobacillus casei* on uterine body cancer cells, a preliminary study was carried out on the effect of the supernatant on this type of carcinogenic cell.

For this study, mitochondrial and membrane cell viability assays were used with the aim of verifying the effects of the supernatant on cancer cells, and thus its possible effect on growth and proliferation, potentially presenting an anticarcinogenic effect.

The results show that the supernatant of *L. casei* reduced the viability of both structures, evaluated when treated with concentrations above 75%, and even at lower concentrations of up to 10%. These data are promising, enabling further studies into the effects that the substances released by the cellular metabolism of these bacteria can have on cancer cells, contributing to the future development of drugs against this disease.

Key words: *L. casei*, endometrial cancer, cell-free supernatant, uterine body cancer.

Agradecimentos

Agradeço a Deus pela oportunidade dessa reencarnação, aos meus pais, Alcione de Oliveira Silva Kelly e Maurílio Rodrigues Kelly pelos ensinamentos, pelo apoio e o sacrifício que fizeram por mim e pelo meu irmão. Ao meu irmão Guilherme por me ajudar com as nossas conversas que sempre me ensinam.

A minha noiva, Julia Galante por sempre me apoiar e me ouvir nos momentos mais difíceis.

Ao meu orientador Luiz Alberto Simeoni e meu coorientador Rafael Abe da Rocha Miranda pelas orientações, aprendizados que me deram, por enriquecerem a minha formação, e pela paciência para me ensinar.

E aos meus colegas, tanto do curso de Farmácia quanto de outras atividades, que me ajudaram a me manter motivado nos momentos que precisei e pelos momentos de descontração que fizeram a formação ser mais divertida e leve.

Lista de abreviações

UNB - Universidade de Brasília

INCA - Instituto Nacional de Câncer

Febrasgo- Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia

SBC - Sociedade Brasileira de Cancerologia

HPV - Papilomavírus Humano

HIV - Vírus da Imunodeficiência Humana

HSV - Herpes Simplex Virus

BCRJ - Banco de Células do Rio de Janeiro

MRS - meio de cultura Man, Rogosa e Sharpe

DMEM - meio de cultura Dulbecco's Modified Eagle Medium

PBS - Phosphate Buffered Saline

EDTA - Ácido Etilenodiamino Tetra-acético

MTT - Brometo de 3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio

TNFR - Receptor de Fator de Necrose Tumoral

CDK - Cinase Dependente de Ciclina

mRNA - Ácido Ribonucleico Mensageiro

Lista de Figuras

Figura 1: Estadiamento do câncer de endométrio.....	9
Figura 2: Região de transição: carcinoma <i>in situ</i>	9
Figura 3: Ensaio de Viabilidade com MTT.....	16
Figura 4: Proporção de células mortas para o total de células com o ensaio azul de tripan	17

Sumário	
Introdução	9
Incidência	9
Câncer	9
Fatores de risco e prevenção	11
Tratamentos	12
Microbiota genital	13
Lactobacilos vaginais	13
<i>Lactobacillus casei</i>	14
Pós-bióticos	15
Objetivos	15
Objetivos específicos	15
Materiais e métodos	16
Obtenção do sobrenadante de <i>Lactobacillus</i>	16
Cultivo de células de câncer de endométrio (Ishikawa)	16
Ensaio de viabilidade com MTT	17
Ensaio de viabilidade com Azul de Tripán	18
Estatística	19
Resultados	19
Ensaio de viabilidade com MTT	19
Ensaio de viabilidade com Azul de Tripán	20
Discussão	21
Conclusão	24
Referências	26

Avaliação dos efeitos do sobrenadante de *Lactobacillus casei* sobre a proliferação celular de linhagens de câncer de endométrio

Introdução

Incidência

O câncer endometrial, mais especificamente o câncer de corpo de útero, ocupa a décima quinta posição, em relação à incidência, resultando em mais 420.000 novos casos em todo o mundo no ano de 2022 (BRAY et al, 2024).

No Brasil, é o sétimo câncer mais incidente em mulheres. O número estimado de novos casos para os anos de 2023 a 2025 é de mais de 7.800, tendo na região Sudeste do país o maior risco estimado, com 9,39 casos por 100 mil mulheres, e a região Norte com o menor, 2,67 por 100 mil (INCA, 2023).

Câncer

O câncer de corpo de útero pode ser classificado em dois tipos, de acordo com o padrão histológico e desfecho clínico: o primeiro seria o dependente de estrogênio; o segundo, não dependente (WILD et al, 2020). O do tipo 1 é determinado por adenocarcinomas dependentes de estrogênio, com receptores hormonais e de morfologia endometriode. É o mais comum dos casos de câncer de endométrio, possuindo também um diagnóstico precoce, na maioria dos casos, e com um prognóstico positivo (CREASMAN, 2009).

Enquanto o tipo 2 é caracterizado por uma morfologia não endometriode, com carcinomas indiferenciados, serosos e de células claras. Em sua maioria, não tem um bom prognóstico e não são estrogênio dependentes, não possuindo receptores hormonais (CREASMAN, 2009).

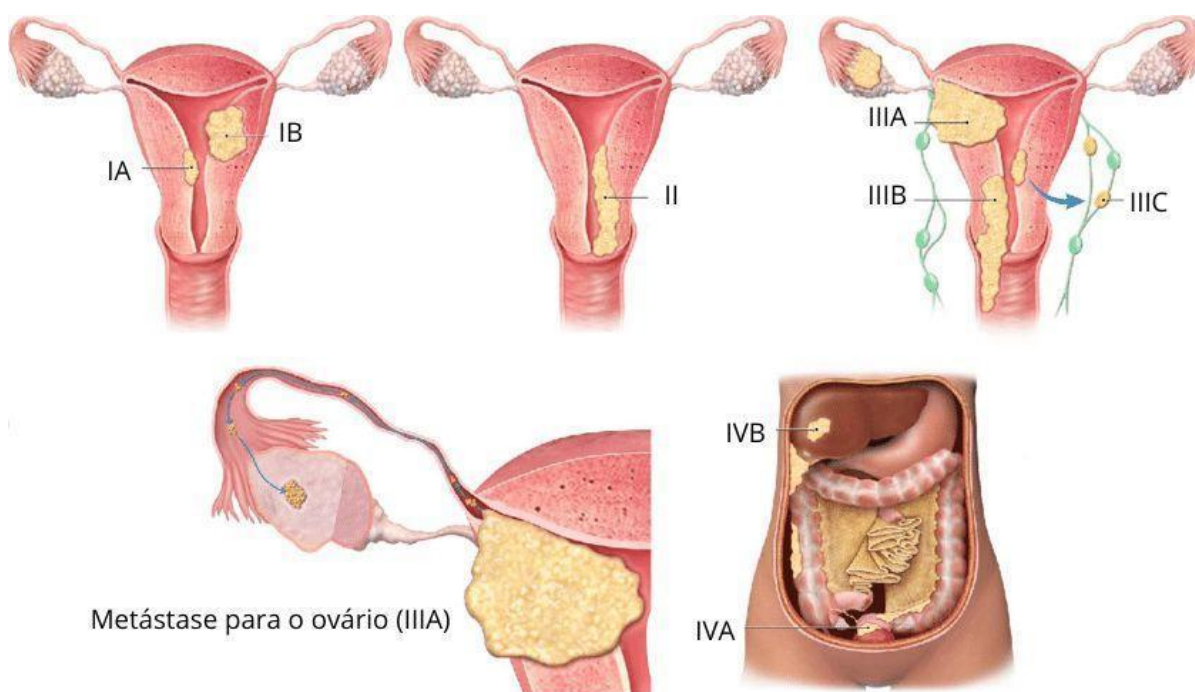
O desenvolvimento do câncer se divide em quatro estágios. O primeiro (I) divide-se em dois subtipos: o IA e IB, onde ambos os subtipos estão confinados à região endometrial e a diferença entre eles é a extensão da invasão do tumor em relação ao miométrio (no subtipo IB o tumor ultrapassa a metade do miométrio e no

subtipo IA não ultrapassa). O segundo estágio (II) ocorre quando o tumor está ultrapassando o útero, mas não chega ao terço inferior da vagina ou a parede pélvica.

Os outros dois estágios restantes são mais avançados, sendo o III caracterizado por metástase do tumor para outras estruturas próximas como ovário (IIIA), o terço inferior da vagina e a parede pélvica (IIIB), ou ao atingir os linfonodos pélvicos ou para-aórticos, de maneira isolada ou concomitante (IIIC).

O quarto estágio (IV) é caracterizado pela ultrapassagem do carcinoma pela pelve verdadeira ao atingir a mucosa da bexiga ou reto (IVA) ou, em casos mais graves, a metástase atingir órgãos mais distantes (IVB) como é possível observar na figura 1 (SALVO, et al, 2020; SALEH et al, 2020), mostrando a importância da prevenção e da detecção precoce da doença.

Figura 1. Estadiamento do câncer de endométrio



Estadiamento baseado na Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia (FIGO)
Adaptado de Saleh et al. (2020).

Histologicamente é possível verificar as diferenças entre o tecido saudável e o tecido carcinogênico devido às alterações que ocorrem nas células (Figura 2).As células basais permanecem nas camadas mais profundas do tecido no lado A, enquanto no lado B a estratificação característica de tecidos epiteliais não está

presente. Ao invés disso, é possível observar células indiferenciadas por todo o tecido, diferente do que ocorre em tecidos saudáveis e células em mitose.

Figura 2. Região de transição: carcinoma *in situ*



Lado A : tecido epitelial saudável do endométrio; Lado B: carcinoma

Adaptado de Anatpat- UNICAMP (2025).

Fatores de risco e prevenção

Além da predisposição genética, os principais fatores de risco são: a exposição aumentada ao estrogênio endógeno em razão de diversos fatores como obesidade, menarca precoce, anovulação, menopausa tardia, nuliparidade, síndrome do ovário policístico e também as síndromes metabólicas, como hipertensão, diabetes (WILD et al, 2020; MACMAHON,1974).

A identificação de pacientes de alto risco é um ponto marcante para a detecção precoce, tornando-se esse um importante método de prevenção. Para isso, é preciso considerar fatores clínicos e também o histórico de saúde, como a avaliação de fatores de risco, histórico familiar e exames clínicos ginecológicos (MACMAHON, 1974; BARBER, 1981) .

Os processos de prevenção, além da identificação de pacientes de alto risco, são: (i) realizações de exames regulares, como o exame de Papanicolau, que apresenta uma importância imensa para a prevenção e detecção (DUNNE; PARK, 2013); (ii) educação para promover estilo de vida mais saudável, com o intuito de evitar a exposição a hormônios fora de recomendações médicas; (iii) educação sexual, a fim de diminuir o risco de infecção por HPV (principal fator de risco para o desenvolvimento de vários tipos de câncer), devido ao fato da infecção ocorrer em células epiteliais, o que induz a produção de proteínas que interferem no ciclo celular, criando alterações que podem levar ao câncer (GUZICK, 1978; DUNNE; PARK, 2013).

Tratamentos

Os tratamentos para câncer de endométrio são três: cirurgia, radioterapia e quimioterapia.

A cirurgia envolve, geralmente, o procedimento de histerectomia total abdominal com salpingo-ooforectomia bilateral, onde é retirado o útero e os ovários.

A radioterapia, por sua vez, tem uma função como adjuvante, sendo utilizada como auxílio para pacientes com fatores de alto risco de recidiva.

Por fim, a quimioterapia é recomendada em estágios mais avançados (III , IV), mas muito ligada a efeitos adversos mais comuns e frequentes como enjôo, dores e perda de cabelo. E, em alguns casos de tumores responsivos a hormônios, pode ser feita uma terapia de modulação hormonal, onde são utilizados medicamentos que reduzem o crescimento de tumores por meio do bloqueio e redução da quantidade de alguns hormônios no organismo (FEBRASGO; SBC, 2011) .

Os tratamentos convencionais possuem diversos efeitos adversos como: náusea, vômitos, fadiga, leucopenia, entre outros (FEBRASGO; SBC, 2011). A pesquisa de formas de tratamento alternativos é muito importante para buscar aumentar a qualidade de vida e melhorar o tratamento da doença, como por exemplo

o uso de probióticos e/ou pós-bióticos.(TIPTIRI-KOURPETI et al, 2016; WASIAK, J. et al, 2024)

Microbiota genital

O microbioma vaginal possui condições únicas as quais são caracterizadas pelas espécies microbianas presentes neste compartimento, essenciais para a manutenção da homeostase e da saúde.

A cavidade genital feminina não possui uma diversidade baixa estando dominada, em sua maioria, por *Lactobacillus sp.* (GAJER et al, 2012; LANIEWSKI et al, 2020). Uma carga microbiológica é observada em quantidade menor na porção superior da cavidade (tubas uterinas e útero) (CHEN et al, 2017).

Srinivasan et al. (2010) descrevem a microbiota como altamente dinâmica, modificando-se por meio de fatores intrínsecos e extrínsecos, como agentes predisponentes do hospedeiro e do estado fisiológico, juntamente com o estilo de vida, incluindo atividade sexual, dieta, uso de medicamentos (antibióticos e contraceptivos), tabagismo e estresse (NOYES et al, 2018 ; BROTMAN et al, 2014).

A microbiota vaginal interage também com outros microbiomas presentes no corpo, como na troca e compartilhamento de integrantes de microbiomas genitais durante o intercuro sexual. Como demonstrado em estudos (FORCEY et al, 2015; RAVEL et al, 2011), ocorre uma interconexão urogenital com bactérias comuns na vagina, estando presentes na microbiota urinária organismos como *Lactobacillus sp.* e *Gardnerella sp.* (HILT et al, 2014). Segundo Buchta (2018), as bactérias prevalentes na microbiota vaginal também colonizam o trato gastrointestinal e o reto.

Lactobacilos vaginais

Na maioria da população feminina o microbioma vaginal é dominado por espécies de *Lactobacillus sp.* (GAJER et al, 2012; BUCHTA, 2018). As espécies prevalentes são: *L. crispatus*, *L. iners*, *L. jensenii* e *L. gasseri* os quais, por meio da

fermentação láctica, são responsáveis pela acidificação do microambiente como também pelo inibição do crescimento de bactérias patogênicas (GONG et al, 2014).

Tal controle está associado com o estado de saúde. A perda desse domínio leva a uma disbiose da região e um aumento da diversidade no ambiente. Essa diversidade aumentada possui fatores que auxiliam a criação de um ambiente propício para desenvolvimento de tumores, por conta de falhas imunológicas e genotoxicidade (RAJAGOPALA et al, 2017).

O efeito dos *Lactobacillus sp.* sobre situações de saúde e doença foi avaliado em estudos que mostraram a ação do sobrenadante destes microrganismos como um inibidor na infecção do vírus de imunodeficiência humana (HIV) e o vírus herpes simplex (HSV) (ZABIHOLLAHI et al, 2012). Os *Lactobacillus sp.* também vêm mostrando uma ação citotóxica em células de tumor cervical, mas ao verificar em células cervicais normais não foi observado este mesmo efeito citotóxico, o que sugere um efeito dos sobrenadantes que age somente em células carcinogênicas (MOTEVASELI et al, 2013).

Lactobacillus casei

O estudo de Sanders, Shane e Renstein (2016) avaliou os mecanismos de promoção da saúde que vêm abrindo-se para diversas aplicações em campos como alimentos, medicina e biotecnologia. Alguns desses mecanismos são a modulação do sistema imune, produção de substâncias com ação antimicrobiana e espessamento da barreira epitelial por meio da fixação (BERMUDEZ et al, 2012).

Um lactobacilo que está sendo bem estudado para se verificar se possui alguns destes efeitos é o *Lactobacillus casei*, devido ao seu grande potencial industrial, comercial e sua aplicação na saúde. Comumente usado comercialmente para melhorar a textura e sabor de alimentos lácteos por meio da fermentação, pode beneficiar a saúde do consumidor com os metabólitos bioativos liberados durante o processo (DIETRICH; KOTTMANN; ALAVI, 2014).

No caso de *L. casei*, estudos *in vitro* evidenciaram uma inibição na proliferação celular, assim como uma ação apoptótica causando um efeito antitumoral em células

de câncer de cólon e em células de câncer de fígado (ESCAMILLA et al, 2012; HAN et al, 2013; TIPTIRI-KOURPETI et al, 2016). Além destas linhagens celulares, Riaz Rajoka (2018) estudou a ação antiproliferativa do sobrenadante de *L. casei* em linhagens de câncer de cérvix (células HeLa).

Pós-bióticos

Descobertas recentes mostraram que não somente as bactérias probióticas vivas podem influenciar os processos fisiológicos e celulares, mas os pós-bióticos (metabólitos e macromoléculas) liberados por esses microrganismos também possuem bioatividade (SABAHI et al, 2023; KUNISAWA, 2022). Scott, De Paepe e Van de Wiele (2022) mostraram que os pós-bióticos estão envolvidos em diversos efeitos como imunomodulação e respostas anti-inflamatórias. Uma das vantagens dos pós-bióticos sobre os probióticos é a falta de necessidade de manutenção da vida das células bacterianas.

Com tais efeitos dos lactobacilos sendo analisados, o objetivo do presente estudo foi avaliar como as substâncias secretadas por essas bactérias poderiam causar algum efeito anticarcinogênico e como a presença do sobrenadante de um lactobacilo não vaginal poderia agir sobre as células de linhagem de câncer de endométrio, contribuindo para o conhecimento dos mecanismos de ação terapêuticos que estes microrganismos possam desempenhar.

Objetivos

Avaliar os efeitos do sobrenadante de *Lactobacillus casei* sobre a viabilidade celular e proliferação de células de câncer de endométrio.

Objetivos específicos

- Obtenção dos sobrenadantes de *L. casei*;

- Avaliar os efeitos do sobrenadante de *L.casei* na viabilidade mitocondrial em células Ishikawa;
- Avaliar os efeitos do sobrenadante de *L.casei* na viabilidade da membrana plasmática em células Ishikawa.

Materiais e métodos

Obtenção do sobrenadante de *Lactobacillus*

O sobrenadante de *Lactobacillus sp.* livre de células foi considerado o meio onde as bactérias foram cultivadas, constituído por meio de cultura e metabólitos liberados pelos microrganismos. Portanto, no sobrenadante, estariam presentes os pós-bióticos, encontrados como as substâncias liberadas pelas células bacterianas.

A cepa da espécie de *L. casei* foi cedida pela profa. Dra. Yanna Karla de Medeiros Nóbrega do laboratório de análises clínicas, microscopia, microbiologia e imunologia da UnB. Os lactobacilos foram cultivados em tubo de centrífuga tipo falcon com o meio de cultura de Man, Rogosa e Sharpe (MRS) e mantidos na incubadora com CO₂ a 37°C, em condições anaeróbias.

Após 48h, o tubo foi centrifugado a 3.000 rpm por 10 min para separar os microrganismos do sobrenadante e esse último foi recolhido. O sobrenadante foi filtrado, primeiro em membrana de 0,22 µm e depois em membrana de 0,20 µm para obtenção de sobrenadante livre de células. O pH foi ajustado para aproximadamente 7 e foi armazenado em freezer a -20°C para uso nos experimentos seguintes.

Cultivo de células de câncer de endométrio (Ishikawa)

Foram utilizadas células de adenocarcinoma endometrial provenientes de uma mulher japonesa de 39 anos, amplamente utilizadas em estudos de câncer ginecológicos com uma morfologia epitelial e de crescimento aderente ao recipiente utilizado.

Para o cultivo foi usado o meio Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) Low Glucose, suplementado com soro fetal bovino (10%) e estreptomicina/penicilina (10 µL), seguindo as orientações do banco de células do Rio de Janeiro (Ishikawa-BCRJ, 2024). Elas foram mantidas em incubadora a 37°C e o meio foi trocado a cada 48h. O meio de cultura já presente foi aspirado, a placa foi lavada com 10 mL de Phosphate Buffer Saline (PBS) e depois foram adicionados 10 mL de DMEM .

Quando observada em microscópio uma confluência de cerca de 70% da placa, as células passaram pelo processo de subcultivo: foram lavadas com 10 mL de Phosphate Buffer Saline (PBS), depois foram utilizados 3 mL de Tripsina-EDTA por 5 minutos na incubadora o que as permitiu desaderir do fundo da placa.

Foram, então, transferidas para outro recipiente, centrifugadas a 2.000 rpm por 5 minutos e transferidas, em quantidade menor, para uma placa de Petri. Foi adicionado meio DMEM e elas retornaram para a incubadora a 37°C seguindo as orientações do Banco de células do Rio de Janeiro.

Ensaio de viabilidade com MTT

O ensaio com de brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5- difeniltetrazólio (MTT) é um ensaio de viabilidade celular por meio do qual avalia-se a capacidade das mitocôndrias viáveis converterem o MTT, de coloração amarela, em cristais de formazan, de coloração roxa (Ensaio de Proliferação e Viabilidade Celular, 2025).

Em uma placa de 96 poços foram plaqueadas 20.000 células Ishikawa/poço, que foram mantidas na incubadora a 37°C por 24h. Após este período, foi adicionado o tratamento com sobrenadante de lactobacilos. O tratamento foi realizado com concentrações de 100%, 75%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10% e 5% (v/v) de sobrenadante de *L. casei*. O controle utilizado foi o veículo, ou seja, o meio de cultura (DMEM). Os tratamentos foram preparados em microtubos de centrífuga tipo Eppendorfs com a proporção de sobrenadante diluídos em DMEM de acordo com as porcentagens acima. Depois, foram adicionados aos poços com as células já plaqueadas e retornaram para a incubadora a 37°C por mais 24h. Para a leitura, foi utilizada uma solução de 5 mg/mL MTT diluída em DMEM. 50 µL desta solução foram adicionados

em cada poço e em alguns poços não plaqueados para servirem como branco, e a placa retornou para a incubadora por 4h.

Após esse intervalo, os cristais foram solubilizados com 150 µL de isopropanol acidificado e quantificados em um espectrofotômetro no comprimento de onda de 570 nM. Este ensaio foi realizado três vezes em triplicata.

Ensaio de viabilidade com Azul de Tripán

O ensaio de viabilidade com azul de tripan verifica a viabilidade das células por meio da integridade da membrana celular. O corante evidencia a integridade desta estrutura ao permeá-la em células cuja membrana está danificada consideradas, então, não viáveis. Desta forma, após o período de coramento de 4 minutos, é realizada a contagem das células viáveis (não coradas) e não viáveis (coradas) (Ensaio de Proliferação e Viabilidade Celular, 2025).

Em uma placa de 48 poços foram plaqueadas 5.000 células Ishikawa/poço, que foram mantidas em estufa a 37°C por 24h. Em seguida, foi adicionado o tratamento com sobrenadante de lactobacilos.

O tratamento utilizado possuía concentrações de 75%, 40% e 10% (v/v) de sobrenadante de *L. casei*. O controle utilizado foi o veículo, ou seja, o meio de cultura (DMEM). As concentrações foram preparadas em Eppendorfs com a proporção de sobrenadante e DMEM. Depois, foram adicionadas aos poços com as células já plaqueadas e regressaram para a incubadora a 37°C por 24h.

A última etapa foi a de leitura, a qual, após o período de tratamento, o conteúdo dos poços foi transferido para microtubos de centrífuga. Inicialmente, os poços foram lavados com 200 µL de PBS 1x. Foram, então, adicionados 100 µL Tripsina-EDTA e a placa foi levada para a incubadora por 2 min. Em seguida, foram acrescentados 100 µL de DMEM. Os poços foram lavados, novamente com 200 µL de PBS 1x mais duas vezes e todo o conteúdo foi acrescentado aos microtubos. Eles foram, então, levados para a centrífuga por 5 min a 2.000 rpm. Em seguida, o sobrenadante dos microtubos foi descartado, os precipitados foram ressuspensos em 200 µL de PBS 1x e mantidos em ambiente com gelo até o coramento e contagem.

Em uma superfície preparada foram adicionados 2 µL de azul de tripan a 18 µL do precipitado ressuspenso e deixados corar por 4 min. Após o tempo determinado foram adicionados 10 µL desta solução corada na câmara de Neubauer para contagem das células viáveis e não viáveis. Este experimento foi repetido três vezes em duplicata.

Estatística

Os dados obtidos nos ensaios foram analisados por meio do programa GraphPad Prism 5.

Foi realizado o teste One way ANOVA, que verifica a existência de uma diferença significativa entre as médias dos valores. Foram considerados estatisticamente significativos os valores de corte $p < 0,05$.

Resultados

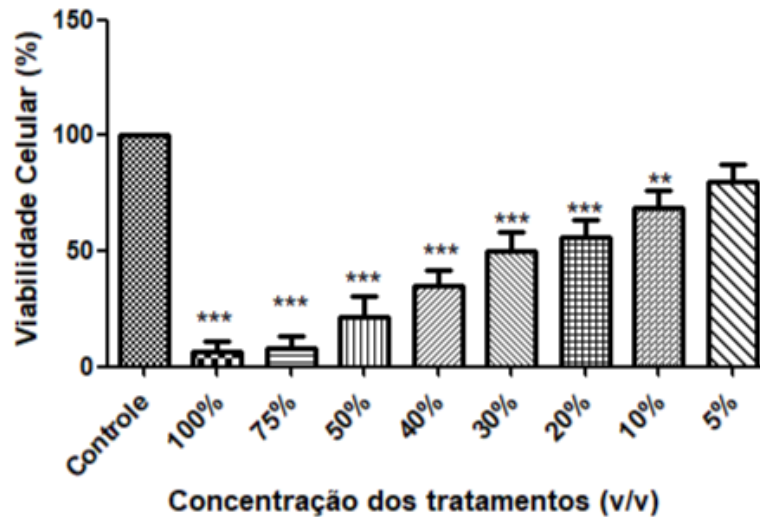
Ensaio de viabilidade com MTT

Neste ensaio foi observado uma redução na viabilidade mitocondrial das células em tratamento em relação às células de controle. Como mostrado na figura 3 no tratamento de 100% (v/v) ocorreu uma queda na viabilidade de $93,3\% \pm 4,09\%$, em relação ao controle. O efeito observado foi decrescente, juntamente com a concentração do sobrenadante.

Na concentração de 50% (v/v) a viabilidade foi de $21,3\% \pm 8,90\%$ do controle, e nas concentrações de 40% (v/v) e 30% (v/v) foi observado que a viabilidade ficou entre 50 e 55% do controle. O efeito foi significativo até o tratamento de 10% (v/v), que resultou em uma queda de $31,2\% \pm 7,52\%$ da viabilidade em relação ao controle.

Estes resultados sugerem que o sobrenadante de *L casei* reduziu a viabilidade da mitocôndria de células Ishikawa em concentrações iguais ou maiores de 10% (v/v).

Figura 3. Ensaio de Viabilidade com MTT



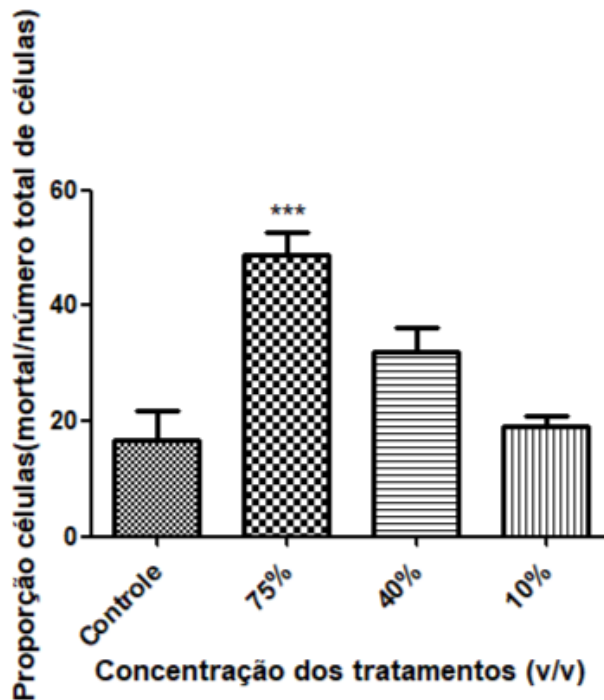
Ensaio realizado em células Ishikawa. Tratamento com sobrenadante de *L. casei* em concentrações de 100-5% (v/v) de DMEM Low. Dados representam média \pm desvio padrão de três experimentos em triplicata. ** $p < 0,01$. *** $p < 0,001$ em relação ao controle.

Ensaio de viabilidade com Azul de Tripan

Ao medir a proporção entre células mortas pelo número total de células contabilizadas após o tratamento foi possível observar que, no tratamento com sobrenadante de concentração 75% (v/v), a proporção de células mortas pelo total de células correspondeu a 48,9% do total de células, enquanto o controle teve a medida de 16,8% do total de células (Figura 4).

Os efeitos não foram significativos nas outras concentrações utilizadas (40% (v/v) e 10% (v/v)), que tiveram medidas de 31,9% e 18,9% do total de células, respectivamente (Figura 4).

Figura 4. Proporção de células mortas/total de células no ensaio azul de tripan.



Ensaio realizado em células Ishikawa. Tratamento com sobrenadante de *L. casei* em concentrações de 100-5% (v/v) de DMEM Low. Dados representam média \pm desvio padrão de três experimentos em duplicatas. *** $p < 0,001$ em relação a controle.

Esses dados sugerem que a integridade da membrana não é tão afetada em concentrações menores que 75% (v/v). Isso indica que os efeitos dos pós-bióticos presentes no sobrenadante de *L. casei* provavelmente não devem atuar sobre a membrana plasmática de forma a reduzir sua viabilidade significativamente em concentrações menores ou iguais a 40% (v/v).

Discussão

A pesquisa do efeito de sobrenadantes em linhagens de células de câncer vem abrindo a possibilidade para uma nova linha de tratamento de câncer e apresenta resultados promissores no controle do crescimento e produz um efeito apoptótico das células.

No presente estudo foi observado que o sobrenadante de *L. casei* teve um efeito sobre a viabilidade das células de linhagem de câncer de endométrio (Ishikawa)

afetando tanto a viabilidade mitocondrial quanto a da membrana em concentrações iguais ou acima de 75% (v/v). O sobrenadante possui efeito significativo na viabilidade da mitocôndria até a concentração de 10% (v/v).

No estudo de Montevaseli (2013), os resultados de células normais de cervical (HNCF) foram próximos ao do controle, o que sugere que o efeitos citotóxico dos sobrenadantes é seletivo para células tumorais, baseado nessa informação não foi utilizado células normais nos ensaios do presente com o objetivo.

É conhecido o efeito inibitório na atividade de proteínas como a MMP-9 afetando a proliferação de células de câncer de cólon (ESCAMILLA; LANE; MAITIN, 2012). No estudo realizado por Tiptiri-Kourpeti et al. (2016) em modelos *in vitro* e *in vivo*, juntamente da inibição do crescimento dos tumores, ocorreu uma resposta positiva para a apoptose.

No trabalho de Kim et al. (2015), foi utilizado extrato de *Lactobacillus casei* e não foi notado a existência de efeito inibitório, o que afetaria o crescimento de linhagens de células de câncer cervical (Caski, HeLa), assim como também não apresentou sinergia com os medicamentos utilizados para tratamento como paclitaxel, cisplatina e doxorubicina. Em contraponto com este presente estudo, em que houve uma redução significativa da viabilidade das células Ishikawa que foram tratadas com o sobrenadante de *L. casei* livre de células.

Em Wang et al. (2018), por sua vez, foram usadas células de câncer cervical (Caski) em ensaio com MTT, onde foi avaliado o efeito inibitório do sobrenadante livre de células dos lactobacilos vaginais *L. crispatus*, *L. jensenii* e *L.gasseri*, sendo observado um efeito inibitório concentração dependente. Contudo, em concentrações abaixo de 20%, não foi observado efeito de inibição significativo, exceto pelo *L. crispatus*. No presente estudo foi observado um efeito semelhante, porém com a ocorrência de efeito significativo até a concentração de 10% de sobrenadante. Ainda no trabalho de Wang et al. (2018) foi relatado também que o efeito citotóxico foi mantido ainda quando o pH foi ajustado para 6,5. O valor do pH pode ser considerado um fator importante para a viabilidade celular, pois o meio MRS com os pós-bióticos geralmente é mais acidificado. Em estudos preliminares realizados no presente grupo de pesquisa foi observado que o pH promove uma diferença nos resultados da viabilidade, portanto, o pH dos tratamentos e do controle foram ajustados para aproximadamente 7,0.

A atividade anticarcinogênica do estudo de Wang et al (2018) foi atribuída a alguns mecanismos de ação. Dentre eles, a regulação de ciclo celular, onde os sobrenadantes induziram uma interrupção do ciclo, principalmente na fase S, aumentando a quantidade de células nessa fase e diminuindo na fase G2/M devido a uma redução na expressão de genes responsáveis pelo avanço do ciclo celular, além de um aumento na expressão de genes que possuem função de inibidores do ciclo, como o gene que codifica a proteína p21. Este mecanismo de ação foi o mesmo apresentado no estudo de Han et al. (2013), o que mostra um mecanismo de ação comum entre os efeitos de diferentes espécies de *Lactobacillus sp.*, o que reforça que o estudo do ciclo celular é um ensaio que possa ser realizado futuramente na linhagem de células utilizadas neste presente estudo, com o objetivo de avaliar os efeitos do sobrenadante de *L. casei* nesta linhagem celular.

No estudo de Han et al. (2013), o *L. casei* apresentou efeito anticarcinogênico em linhagens celulares de carcinoma de fígado (Huh7) onde inibiu o crescimento celular reduzindo a taxa de crescimento das células em 77%. O estudo sobre a viabilidade e crescimento celular foi realizado com o método de azul de tripan em uma quantidade de 100 µL de tratamento com extrato de *L. casei*. Em comparação com o presente estudo, que não obteve uma redução significativa na viabilidade em concentrações abaixo de 75% (v/v) pelo mesmo método de análise, a inibição da taxa de crescimento foi mais efetiva em células de carcinoma de fígado com base unicamente no método.

Sobre os mecanismos de ação estudados por Han et al. (2013), houve um aumento na expressão do mRNA de indutores de apoptose, como o receptor 1 do fator de necrose tumoral- α (TNFR1) e DR3, e da expressão das proteínas p21 responsáveis por inibir a atividade do complexo cinase dependente de ciclina CDK1 e CDK2 os quais atuam inibindo o crescimento celular e aumentando a apoptose (HAN et al, 2013).

Outra proteína que aumentou sua expressão na presença de *L. casei* foi a p27, que atua como inibidora do complexo CDK e desempenha um papel na regulação do ciclo celular e mecanismos de ação relacionados ao potencial anticarcinogênico (HAN et al, 2013).

O potencial anticâncer do sobrenadante de cepas de *L. casei* e sua indução à apoptose também foi avaliado com a utilização de linhagens de câncer cervical (HeLa) em outros estudos da literatura. No estudo de Riaz Rajoka (2018) o pós-biótico induziu

morte celular, e células HeLa tratadas com o sobrenadante e analisadas por citometria de fluxo revelaram que as células tratadas, em sua maioria, apresentavam características de apoptose (RIAZ RAJOKA, 2018).

Ainda no estudo citado anteriormente, foi revelado que o *L. casei* possuía uma atividade de ativação de caspases, enzimas que desempenham papel na apoptose celular, levando a uma ativação de caspase-3, caspase-8 e caspase-9, iniciando, assim, tanto a via extrínseca ativada pelas caspases-8, que leva à morte celular por meio das caspases efetoras, como a caspase-3, ou pela via intrínseca, onde a lesão mitocondrial leva à liberação de citocromo c que induz as caspases-9 a agirem como mediadores, sinalizando para as efetoras e levando à fragmentação do núcleo. Tal ativação ocorre tanto em linhagens de células de carcinoma de fígado (Huh7) quanto de cérvix (Hela) (HAN et al, 2013; RIAZ RAJOKA, 2018).

A atividade das caspases está muito relacionada com a função mitocondrial, principalmente na via intrínseca, o que chama a atenção para o presente estudo, que mostrou a viabilidade da mitocôndria sendo afetada em concentrações mais baixas em relação com a da membrana plasmática também estudada.

Estes dados sugerem, portanto, que existe a possibilidade do mecanismo de ação ser o mesmo que o presente em outras linhagens celulares. Contudo há a necessidade de mais estudos para se ter uma melhor compreensão acerca do efeito antiproliferativo do sobrenadante, bem como para aprofundar os conhecimentos sobre os mecanismos de ação que os induzem, com o intuito de estudar esta hipótese e verificar quais seriam os mecanismos de ação ligados com o efeito visto no presente estudo.

Conclusão

Os resultados dos ensaios, tanto de avaliação da viabilidade mitocondrial, quanto da membrana, sugerem um efeito que reduz a viabilidade celular com o tratamento de sobrenadante, afetando assim a funcionalidade dessas células e consequentemente a capacidade de proliferação das mesmas.

O efeito de redução na viabilidade celular observado no presente estudo mostrou que o sobrenadante livre de células de *L. casei* possui um potencial no

controle do crescimento de células tumorais *in vitro*, o que abre as portas para que pesquisas aprofundem-se em estudos sobre o mecanismo de ação responsáveis por esse efeito e também sobre a taxa de proliferação em outros parâmetros de análises, para que se tenha um conhecimento mais completo sobre o que a presença de pós-bióticos pode induzir sobre células de câncer.

É de grande importância que futuros estudos tanto de apoptose quanto do ciclo celular sejam realizados para que se entenda sobre o mecanismo de ação do sobrenadante na linhagem celular utilizada no presente estudo.

Este foi um estudo inicial, podendo servir como fonte de consulta em pesquisas futuras para avaliar e aprofundar de maneira mais completa os conhecimentos acerca do efeito antiproliferativo do sobrenadante de *L. casei*. Por conseguinte possui algumas limitações, como números de repetição e a necessidade de estudos complementares para atingir uma melhor compreensão acerca do mecanismo de ação e as implicações clínicas que este potencial tratamento pode possuir.

Tal efeito antiproliferativo visto nos dados deste estudo sugere um potencial terapêutico anticarcinogênico no sobrenadante de *L. casei*, o que abriria possibilidades novas e possíveis descobertas para a criação de novos fármacos ou tratamentos que aumentariam a qualidade de vida dos pacientes.

Referências

BARBER, HRK. Uterine Cancer (Prevention). **Proceedings of the American Cancer Society National Conference Cancer Prevention and Detection**, Illinois, USA, v. 47, p. 1126-1132, 10.1002/1097-0142(19810301)47:5. 0008-543X, 1981. Disponível em: [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19810301\)47:5+<1126::AID-CNCR2820471311>3.0.CO;2-2](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19810301)47:5+<1126::AID-CNCR2820471311>3.0.CO;2-2). Acesso em: 8 jan. de 2025

BERMUDEZ-BRITO, M. et al. Mecanismos de ação probióticos. **Annals of nutrition & metabolic** , v. 61, n. 2, p. 160–174, 2012. Disponível em: <https://karger.com/anm/article-abstract/61/2/160/40944/Probiotic-Mechanisms-of-Action> . Acesso em: 16 jan de 2025

BRAY F, LAVERSANNE M, SUNG H, FERLAY J, SIEGEL RL, SOERJOMATARAM I, JEMALI A. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA Cancer J Clin**. 2024 Apr 4. doi: 10.3322/caac.21834. Epub ahead of print. PMID: 38572751. Disponível em: <https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.3322/caac.21834>. Acesso em: 2 set. de 2024.

BROTMAN, RM et al. Associação entre tabagismo e microbiota vaginal: um estudo piloto. **BMC infected diseases** , v. 14, n. 1, p. 471, 2014. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4161850/> Acesso em: 7 out de 2024

BUCHTA V. Vaginal microbiome. **Ceska Gynekol**. 2018 Winter;83(5):371-379. English. PMID: 30848142. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30848142/> Acesso em: 8 out de 2024.

CHEN, C. et al. O continuum da microbiota ao longo do trato reprodutivo feminino e sua relação com doenças relacionadas ao útero. **Nature communications** , v. 8, n. 1, p. 875, 2017. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5645390/> Acesso em: 16 jan de 2025

CREASMAN, W. Estadiamento FIGO revisado para carcinoma do endométrio. Revista internacional de ginecologia e obstetrícia: **órgão oficial da Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia** , v. 105, n. 2, p. 109–109, 2009. Disponível em: <https://obgyn.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1016/j.ijgo.2009.02.010> Acesso em: 15 jan 2025.

DIETRICH, CG; KOTTMANN, T.; ALAVI, M. Bebidas probióticas disponíveis comercialmente contendo *Lactobacillus casei* DN-114001 reduzem diarreia associada a antibióticos. **World journal of gastroenterology: WJG** , v. 20, n. 42, p. 15837–15844, 2014. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4229551/> . Acesso em: 16 jan de 2025

DUNNE, EF; PARK, IU HPV e doenças associadas ao HPV. **Infectious disease clinics of North America** , v. 27, n. 4, p. 765–778, 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S089155201300072X?via%3Dihub> Acesso em : 15 jan de 2025

ESCAMILLA, J.; LANE, MA; MAITIN, V. Sobrenadantes livres de células do probiótico *Lactobacillus casei* e *Lactobacillus rhamnosus* GG diminuem a invasão de células de câncer de cólon in vitro. **Nutrition and cancer** , v. 64, n. 6, p. 871–878, 2012. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01635581.2012.700758> Acesso em: 20 out de 2024

Ensaio de proliferação e viabilidade celular. Disponível em: <https://www.sigmaaldrich.com/BR/pt/technical-documents/technical-article/cell-culture-and-cell-culture-analysis/imaging-analysis-and-live-cell-imaging/cell-viability-and-proliferation#Trypan-Blue> . Acesso em: 9 jan. 2025.

FEDERAÇÃO BRASILEIRA DAS ASSOCIAÇÕES DE GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA; SOCIEDADE BRASILEIRA DE CANCEROLOGIA. Carcinoma endometrial: tratamento. **Revista da Associação Médica Brasileira**, Brasil, v. 58, 3, p. 281-286, 2011. 10.1590/S0104-42302012000300005. 0104-4230. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0104423012705092>. Acesso em: 6 out. de 2024

FORCEY, DS et al. Fatores associados à vaginose bacteriana entre mulheres que fazem sexo com mulheres: Uma revisão sistemática. **PloS one** , v. 10, n. 12, p. e0141905, 2015. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4682944/> . Acesso em 16 jan de 2025

GAJER, P. et al. Dinâmica temporal da microbiota vaginal humana. **Science translational medicine** , v. 4, n. 132, p. 132ra52, 2012. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3722878/> . Acesso em: 6 out de 2024.

GONG, Z. et al. Lactobacilos inativam Chlamydia trachomatis através do ácido láctico, mas não de H₂O₂. **PloS one** , v. 9, n. 9, p. e107758, 2014. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4162611/> Acesso em: 12 out de 2024

GUZICK, DS. Efficacy of screening for cervical cancer: a review. **Am J Public Health**, USA, v. 68, 2, p. 125-134, 1978. 10.2105/ajph.68.2.125. 0090-0036. Disponível em: <https://ajph.aphapublications.org/doi/epdf/10.2105/AJPH.68.2.125>. Acesso em: 4 jan. de 2025

HAN, D. J. et al. Growth inhibition of hepatocellular carcinoma Huh7 cells by Lactobacillus casei extract. **Yonsei medical journal**, v. 54, n. 5, p. 1186, 2013. Disponível em: <https://eymj.org/DOIx.php?id=10.3349/ymj.2013.54.5.1186> Acesso em: 20 out de 2024

HILT, EE et al. A urina não é estéril: uso de técnicas de cultura de urina aprimoradas para detectar flora bacteriana residente na bexiga de mulheres adultas. **Journal of clinical microbiology** , v. 52, n. 3, p. 871–876, 2014. Disponível em: https://journals.asm.org/doi/10.1128/jcm.02876-13?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub++0pubmed .Acesso em:16 jan de 2025

ISHIKAWA - BCRJ. Disponível em: <https://bcry.org.br/celula/ishikawa?code=0364>

Acesso em: 4 set. 2024.

KIM, S.-N. et al. The effect of Lactobacillus casei extract on cervical cancer cell lines. **Contemporary oncology (Poznan, Poland)**, v. 4, p. 306–312, 2015.

Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4631296/> . Acesso em: 20 jan de 2025

KUNISAWA, J. Future prospects for food research in the post-microbiome era: Future prospects for food research in the post-microbiome era (SY(T1)16). **Journal of nutritional science and vitaminology**, v. 68, n. Supplement, p. S23–S25, 2022.

Disponível em:

https://www.jstage.jst.go.jp/article/jnsv/68/Supplement/68_S23/article . Acesso em: 17 jan de 2025

ŁANIEWSKI, P.; HERBST-KRALOVETZ, MM O microbioma e o desenvolvimento, prevenção e terapia do câncer ginecológico. **Nature reviews. Urology** , v. 17, n. 4, p. 232–250, 2020. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9977514/>

Acesso em : 16 jan de 2025

MACMAHON, B. Risk factors for endometrial cancer. **Gynecologic oncology**, v. 2, n. 2–3, p. 122–129, 1974.. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0090825874900031> . Acesso em: 2 set. de 2024

MINISTÉRIO DA SAÚDE; INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **Estimativa de 2023: Incidência de Câncer no Brasil**. Rio de Janeiro, RJ: INCA, 2023.

MOTEVASELI, E. et al. Células cervicais normais e tumorais respondem diferentemente aos lactobacilos vaginais, independentemente do pH e do lactato.

Journal of medical microbiology , v. 62, n. Pt 7, p. 1065–1072, 2013. Disponível em:

<https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jmm/10.1099/jmm.0.057521-0>

Acesso em: 10 out 2024

NELSON, D. E. et al. Characteristic male urine microbiomes associate with asymptomatic sexually transmitted infection. **PloS one**, v. 5, n. 11, p. e14116, 2010.

NOYES, N. et al. Associações entre hábitos sexuais, práticas de higiene menstrual, demografia e o microbioma vaginal conforme revelado pela análise de rede bayesiana. **PloS one**, v. 13, n. 1, p. e0191625, 2018. Disponível em:

<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5783405/> Acesso em: 6 out de 2024

QUEIROZ, L. **Anatpat-UNICAMP**. Disponível em:

<https://anatpat.unicamp.br/lamgin3.html>. Acesso em: 18 jan. 2025.

RAJAGOPALA, S. V. et al. The human microbiome and cancer. **Cancer prevention research (Philadelphia, Pa.)**, v. 10, n. 4, p. 226–234, 2017. Disponível em:

<https://aacrjournals.org/cancerpreventionresearch/article/10/4/226/46620/The-Human-Microbiome-and-CancerThe-Human>. Acesso em: 16 jan de 2025

RAVEL, J. et al. Microbioma vaginal de mulheres em idade reprodutiva.

Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, v. 108 Suppl 1, n. supplement_1, p. 4680–4687, 2011. Disponível em:

<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3063603/> Acesso em 7 out de 2024

RIAZ RAJOKA, M. S., Key Laboratory for Space Bioscience and Space Biotechnology, School of Life Sciences, Northwestern Polytechnical University, Xi'an 710072, Shaanxi, People's Republic of China. sjlshi2004@nwpu.edu.cn et al.

Anticancer potential against cervix cancer (HeLa) cell line of probiotic *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus paracasei* strains isolated from human breast milk. **Food & function**, v. 9, n. 5, p. 2705–2715, 2018. Disponível em:

<https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2018/fo/c8fo00547h>. Acesso em: 19 out de 2024

SABAHI, S. et al. Postbiotics as the new frontier in food and pharmaceutical research. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 63, n. 26, p. 8375–8402, 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35348016/> . Acesso em 17 jan de 2025

SALEH, M. et al. Endometrial cancer, the current international federation of gynecology and obstetrics staging system, and the role of imaging. *Journal of computer assisted tomography*, v. 44, n. 5, p. 714–729, 2020. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/343871165_Endometrial_Cancer_the_Current_International_Federation_of_Gynecology_and_Obstetrics_Staging_System_and_the_Role_of_Imaging Acesso em: 27 jan de 2025

SALVO, G. et al. Revisado em 2018, Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia (FIGO) estadiamento do câncer cervical: Uma revisão das lacunas e questões que permanecem. **Revista internacional de câncer ginecológico: revista oficial da Sociedade Internacional de Câncer Ginecológico** , v. 30, n. 6, p. 873–878, 2020. Disponível em: <https://www.international-journal-of-gynecological-cancer.com/> Acesso em 15 jan 2025

SANDERS, M. E.; SHANE, A. L.; MERENSTEIN, D. J. Advancing probiotic research in humans in the United States: Challenges and strategies. **Gut microbes**, v. 7, n. 2, p. 97–100, 2016. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4856453/> . Acesso em: 16 jan de 2025

SCOTT, E.; DE PAEPE, K.; VAN DE WIELE, T. Postbiotics and their health modulatory biomolecules. *Biomolecules*, v. 12, n. 11, p. 1640, 2022. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9688025/> . Acesso em: 18 jan de 2025

SRINIVASAN, S. et al. Variabilidade temporal de bactérias vaginais humanas e relação com vaginose bacteriana. **PloS one** , v. 5, n. 4, p. e10197, 2010. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2855365/> . Acesso em: 6 out de 2024

TIPTIRI-KOURPETI, A. et al. *Lactobacillus casei* exerts anti-proliferative effects accompanied by apoptotic cell death and up-regulation of TRAIL in colon carcinoma

cells. **PloS one**, v. 11, n. 2, p. e0147960, 2016. Disponível em:
<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0147960> Acesso
em: 23 out de 2024

WANG, K.-D. et al. Inhibitory effect of vaginal Lactobacillus supernatants on cervical cancer cells. **Probiotics and antimicrobial proteins**, v. 10, n. 2, p. 236–242, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29071554/> Acesso em: 13 out de 2024

WASIAK, J. et al. Lactic acid bacteria-derived postbiotics as adjunctive agents in breast cancer treatment to boost the antineoplastic effect of a conventional therapeutic comprising tamoxifen and a new drug candidate: An aziridine-hydrazide hydrazone derivative. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 29, n. 10, p. 2292, 2024. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/29/10/2292> . Acesso em: 20 jan de 2025

WILD CP; WEIDERPASS E; STEWART BW. World Cancer Report: Cancer Research for Cancer Prevention. USA, 2020. Disponível em
:<https://publications.iarc.fr/Non-Series-Publications/World-Cancer-Reports/World-Cancer-Report-Cancer-Research-For-Cancer-Prevention-2020>
<https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//estimativa-2023.pdf> Acesso em: 2 set de 2024.

ZABIHOLLAHI, R. et al. Inhibition of HIV and HSV infection by vaginal lactobacilli in vitro and in vivo. **Daru: journal of Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences**, v. 20, n. 1, p. 53, 2012. Disponível em:
<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3555973/> Acesso em: 14 out de 2024

