

Avaliação do efeito anticarcinogênico do Kefir em *Drosophila melanogaster*

Evaluation of the anticarcinogenic effect of Kefir in *Drosophila melanogaster*

Evaluación del efecto anticarcinogénico del Kefir sobre *Drosophila melanogaster*

Recebido: 11/08/2022 | Revisado: 18/09/2022 | Aceitado: 07/11/2022 | Publicado: 12/11/2022

Rafaela da Mata Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2965-699X>

Centro Universitário de Patos de Minas, Brasil

E-mail: rafaelamata@unipam.edu.br

Priscila Capelari Orsolin

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7366-7437>

Centro Universitário de Patos de Minas, Brasil

E-mail: priscilaco@unipam.edu.br

Resumo

Introdução: A estimativa de novos casos de câncer pelo Instituto Nacional de Câncer (INCA), no ano de 2020, foi de mais de 620 mil casos e deve-se considerar a importante associação entre as neoplasias e o estilo de vida. O kefir vem ganhando espaço por suas propriedades, entre elas, sua ação anticâncer. **Objetivos:** Avaliar o efeito anticarcinogênico do kefir em células de *Drosophila melanogaster*. **Metodologia:** O kefir foi testado por meio do Teste de tumores epiteliais (ETT) em *D. melanogaster*. Foram cruzadas fêmeas da linhagem *wt*s e machos da linhagem *mwh*. As larvas descendentes foram tratadas com três concentrações de kefir: 1,25mg/mL; 2,5mg/mL e 5,0mg/mL isoladamente e em associação ao quimioterápico doxorrubicina (DXR). **Resultados e Discussão:** O kefir não foi carcinogênico em nenhuma das concentrações testadas e apresentou efeito anticarcinogênico nas três concentrações em teste. **Considerações Finais:** O estudo sugere um efeito benéfico do kefir na prevenção e tratamento do câncer.

Palavras-chave: Câncer; *Drosophila melanogaster*; Kefir.

Abstract

Introduction: The estimate of new cases of cancer by the National Cancer Institute (INCA), in 2020, was more than 620 thousand cases and the important association between neoplasms and lifestyle should be considered. Kefir has been gaining ground due to its properties, including its anti-cancer action. **Objective:** To evaluate the anticarcinogenic effect of kefir on *Drosophila melanogaster* cells. **Methodology:** Kefir was tested by means of the Epithelial Tumor Test (ETT) in *D. melanogaster*. Females of the *wt*s lineage and males of the *mwh* lineage were crossed. The offspring larvae were treated with three concentrations of kefir: 1.25mg/mL; 2.5mg/mL and 5.0mg/mL alone and in association with the chemotherapy drug doxorubicin (DXR). **Results and discussion:** Kefir was not carcinogenic at any of the concentrations tested and had an anticarcinogenic effect at the three concentrations tested. **Final considerations:** The study suggests a beneficial effect of kefir in cancer prevention and treatment.

Keywords: Cancer; *Drosophila melanogaster*; Kefir.

Resumen

Introducción: La estimación de nuevos casos de cáncer por parte del Instituto Nacional del Cáncer (INCA), en 2020, fue de más de 620 mil casos y se debe considerar la importante asociación entre las neoplasias y el estilo de vida. El kéfir ha ido ganando terreno debido a sus propiedades, entre ellas su acción anticancerígena. **Metas:** Evaluar el efecto anticancerígeno del kéfir sobre las células de *Drosophila melanogaster*. **Metodología:** El kéfir se probó mediante el Epithelial Tumor Test (ETT) en *D. melanogaster*. Se cruzaron hembras del linaje *wt*s y machos del linaje *mwh*. Las larvas descendientes se trataron con tres concentraciones de kéfir: 1,25 mg/mL; 2,5 mg/mL y 5,0 mg/mL solos y en asociación con el fármaco de quimioterapia doxorrubicina (DXR). **Resultados y Discusión:** El kéfir no fue cancerígeno en ninguna de las concentraciones probadas y tuvo un efecto anticancerígeno en las tres concentraciones probadas. **Consideraciones finales:** El estudio sugiere un efecto beneficioso del kéfir en la prevención y el tratamiento del cáncer.

Palabras clave: Cáncer; *Drosophila melanogaster*; Kéfir.

1. Introdução

O desenvolvimento do câncer é multifatorial e, apesar das diversas inovações no âmbito da prevenção e do tratamento, sua incidência e mortalidade vem crescendo rapidamente em todo o mundo. Com base nisso, a estimativa mundial

de novos casos no ano de 2018 foi de 18,1 milhões e 9,6 milhões de mortes (Bray et al., 2018; Silva; O'Dwyer; Osorio-De-Castro, 2019).

Visto a relevância epidemiológica dessa doença, no Brasil, o Instituto Nacional de Câncer (INCA) estimou 626.030 novos casos no ano de 2020, sendo 309.750 em homens e 316.280 em mulheres. Para demonstrar esse aumento, a estimativa para os anos de 2018 e 2019 foi de 600.000 novos casos em cada um desses anos (Silva et al., 2019; Brasil, 2020). Como a principal causa de morte, é esperado que o câncer seja a principal barreira para o aumento da expectativa de vida em todos os países do mundo no século 21. Além disso, observou-se que a ocidentalização do estilo de vida contribuiu para diversas mudanças no que tange a apresentação e tipos de câncer ao redor do mundo (Bray et al., 2018).

Com base na epidemiologia referida anteriormente, que demonstrou aumento progressivo de diversos tipos de câncer em todo o mundo, deve-se considerar a importante associação entre vários tipos de neoplasias malignas com o estilo de vida e a dieta. Componentes dietéticos que contribuem para o excesso de energia possuem maior associação por causar alterações metabólicas que cursam com inflamação, estresse oxidativo, disbiose bacteriana e quebra da integridade da barreira intestinal. Deve-se considerar também que o inverso tem associação com a diminuição do risco (Kerschbaum & Nussler, 2019; Murphy et al., 2019).

Na esteira disso, pesquisadores buscam constantemente estratégias de prevenção e tratamento para os diversos tipos de câncer. Com isso, produtos funcionais, como o kefir, um dos produtos alimentícios probióticos mais antigos do mundo, vem ganhando espaço por suas propriedades antioxidante e antimicrobiana; efeitos sobre a modulação do metabolismo do colesterol; efeitos anti-inflamatórios; antidiabéticos; antialérgicos; e, como principal foco deste trabalho, destaca-se sua ação anticâncer (Rosa et al., 2017; Slattery et al., 2019).

A atividade antitumoral do Kefir foi descrita em alguns tipos de células cancerosas, promovendo aumento da indução de apoptose em células tumorais resistentes a drogas terapêuticas, efeito antiproliferativo dose-dependente, regulação negativa de genes como o Bcl-2 e regulação também do gene Bax. Além disso, em parâmetro macroscópico, o kefir promoveu diminuição do tamanho de tumores e até mesmo a sua completa remissão em ratos que o receberam de forma intraperitoneal (Bourrie et al., 2016).

O kefir é definido pela Food and Agriculture Organization for United Nations com base na composição microbiológica dos grãos e do leite fermentado. Mas, tendo como base a sua composição bioquímica e microbiológica, o kefir é um produto probiótico, constituído por microrganismos que fermentam alimentos (Farnworth, 2005). Mesmo que no Brasil os probióticos tenham mercado aberto, suas propriedades funcionais associadas à melhoria na situação nutricional das famílias, sobretudo naquelas de menor poder aquisitivo, ainda são pouco conhecidas e, com isso, o kefir ainda é pouco consumido pela população (Santos, 2015).

Sendo assim, para que o mesmo ganhe popularidade e auxilie no avanço da segurança alimentar e nutricional da população, faz-se necessário mais pesquisas que comprovem seu potencial terapêutico. Para tal, testes em *Drosophila* sp podem ser realizados, uma vez que diversos homólogos de proto-oncogenes e genes supressores de tumor de mamíferos são encontrados em *Drosophila melanogaster* (Eeken et al., 2002). Assim, substâncias que são testadas nesses insetos e apresentam certa proteção para a carcinogênese são consideradas promissoras para futuras pesquisas e até mesmo para contribuir para a promoção de mudanças no padrão alimentar da população. Portanto, objetiva-se avaliar o efeito anticarcinogênico do kefir em células somáticas de *D. melanogaster*, por meio do Teste de Tumores Epiteliais (ETT).

2. Metodologia

2.1 Agentes Químicos

2.1.1 Kefir

O Kefir é uma bebida probiótica, supostamente promotora da saúde, produzida por meio da fermentação do leite com grãos de kefir, que são compostos por várias espécies de fungos e bactérias. Embora o kefir tenha se originado na região do Cáucaso, na Europa Oriental, ele se espalhou pelo mundo, com variedades artesanais, sendo encontradas na Ásia, África, América do Sul e Europa Ocidental e Oriental (Salminen et al., 1998; Slattey et al., 2019).

Neste estudo, o kefir foi utilizado na forma de pó liofilizado comercializado pela farmácia de manipulação FSL Farma, com o objetivo de testar um possível efeito anticarcinogênico desse produto, visto que o consumo de kefir tem sido associado a inúmeros benefícios à saúde (Slattey et al., 2019). O produto foi testado em três diferentes concentrações, sendo elas: 1,25 mg/mL; 2,5 mg/mL e 5,0 mg/mL. Tais concentrações foram definidas com base no trabalho de Chen, Chan e Kubow (2007) em células de câncer mamário humano (linhagem MCF-7) e células epiteliais mamárias humanas normais (HMECs).

O produto é composto pelas seguintes bactérias: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. delbrueckii*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus kefirianofaciens subsp. kefirianofaciens*, *Lactobacillus kefiri*, *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus sake*, *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc mesenteroides subsp. cremoris*, *Leuconostoc mesenteroides subsp. dextranicum*, *Leuconostoc mesenteroides subsp. mesenteroides*, *Pseudomonas*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*, *Streptococcus thermophilus*. E pelas seguintes leveduras: *Candida humilis*, *Kazachstania unispora*, *Kazachstania exigua*, *Kluyveromyces siamensis*, *Kluyveromyces lactis*, *Kluyveromyces marxianus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces martiniae*, *Saccharomyces unisporus* (Kefir, 2022).

2.1.2 Cloridrato de doxorrubicina

O cloridrato de doxorrubicina é um antibiótico da família das antraciclina. Foi utilizado na presente pesquisa com o nome comercial de Fauldoxo® e apresentação de solução injetável com 10 mg de cloridrato de doxorrubicina em cada frasco-ampola (5 mL) ou 50 mg de cloridrato de doxorrubicina em cada frasco-ampola (25 mL). O produto é registrado e fabricado por LIBBS FARMACÊUTICA LTDA (FAULDOXO®, 2017), com número CAS [23214-92-8](#). A DXR é um agente citotóxico utilizado como quimioterápico e possui efeito carcinogênico comprovado em *D. melanogaster*, na concentração de 0,4 mM (Vasconcelos et al., 2017), sendo, portanto, utilizado como agente indutor de tumor neste estudo.

2.2 Procedimento experimental

2.2.1 Linhagens de *Drosophila melanogaster*

Foram utilizadas duas linhagens mutantes de *Drosophila melanogaster*: *wts* e *mwh*, portadoras dos marcadores genéticos *warts (wts,3-100)* e *multiple wing hairs (3-03)*. A linhagem *wts* foi fornecida pelo Bloomington *Drosophila* Stock Center, da Universidade de Indiana nos Estados Unidos (USA), registrado sob o número: Bloomington/7052. A linhagem *mwh/mwh* foi cedida pelo Dr. Ulrich Graf (Physiology and Animal Husbandry, Institute of Animal Science, ETH Zurich, Schwerzenbach, Switzerland). Ambas as linhagens são cultivadas no Laboratório de Citogenética e Mutagênese do Centro Universitário de Patos de Minas – UNIPAM, mantidas em frascos de ¼ de litro contendo meio de cultura de *D. melanogaster*. Esse meio é composto por 820 mL de água; 25g de fermento; 11 g de ágar; 156g de banana e 1g de nipagin. A conservação das linhagens é feita dentro de uma incubadora B.O.D. 411 D, a uma temperatura média de 25°C e 60% de umidade (Vasconcelos et al., 2017).

2.2.2 Teste de tumores epiteliais (ETT) em *Drosophila melanogaster*

O produto foi testado por meio do Teste de tumores epiteliais (ETT) em células de *D. melanogaster*. Para tal, foram cruzadas fêmeas da linhagem *wts* e machos da linhagem *mwh*. Ovos descendentes desse cruzamento foram coletados durante um período de aproximadamente 8h, em frascos de cultura com base ágar-ágar 4% p/v coberto por uma camada de fermento biológico suplementado com sacarose. Após 72 ± 4 h, as larvas de terceiro estágio foram lavadas em água de osmose reversa (ultrapura) e coletadas usando uma peneira de malha fina.

Posteriormente, grupos de aproximadamente 100 larvas foram separados em diferentes frascos contendo 1,5g de purê de batata (meio alternativo para *Drosophila*) acrescido de 5 mL das concentrações testadas de Kefir, controle positivo (DXR 0,4 Mm) ou controle negativo (água ultrapura). O experimento foi realizado em quadruplicada e os resultados foram agrupados para análise.

Após a metamorfose das larvas em moscas adultas, estas foram coletadas e armazenadas em etanol 70% (v/v). Posteriormente, elas foram analisadas em uma lupa estereoscópica para visualização e contagem da presença de tumores.

Por fim, foi realizada a análise estatística, empregado o teste *U*, não paramétrico, de Mann-Whitney (com nível de significância de 5%) para comparar as frequências tumorais observadas nos indivíduos tratados com Kefir e os controles (positivo e negativo).

3. Resultados e Discussão

Neste estudo foi avaliado o potencial anticarcinogênico do kefir por meio do Teste de tumores epiteliais em células somáticas de *D. melanogaster*. Na tabela 1 é possível observar o número de tumores identificados nos indivíduos tratados com as diferentes substâncias testadas (água ultrapura – controle negativo; doxorrubicina (DXR) – controle positivo e kefir). Observa-se ainda a quantidade de tumores identificada em cada uma das três concentrações de kefir testadas (1,25 mg/mL; 2,5 mg/mL e 5,0 mg/mL) isoladamente e em associação à DXR. Por fim, as frequências dos tumores são representadas na última coluna da tabela, sendo as mesmas calculadas pela divisão do número total de tumores em cada concentração testada pelo número de indivíduos analisados.

Ao analisar os dados observa-se que o kefir não foi carcinogênico em nenhuma das concentrações testadas, visto que não houve diferença estatisticamente significativa entre as frequências tumorais observadas nos indivíduos tratados isoladamente com kefir e o controle negativo ($p > 0,05$). As frequências tumorais nas concentrações 1,25 mg/mL, 2,5 mg/mL e 5,0 mg/mL foram, respectivamente, 0,15; 0,21 e 0,21 tumor/mosca, ao passo que nos indivíduos tratados com o controle negativo a frequência foi de 0,09 tumor/mosca. A diferença estatística observada em relação ao controle positivo, onde a frequência tumoral foi de 0,79, valida o teste.

Além disso, observa-se que o kefir apresentou efeito anticarcinogênico nas três concentrações testadas, uma vez que houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre as frequências tumorais nas concentrações associadas (kefir + DXR) e o controle positivo (DXR). As frequências tumorais nas concentrações 1,25 mg/mL, 2,5 mg/mL e 5,0 mg/mL + DXR (0,4 mM) foram, respectivamente, 0,44; 0,43 e 0,31 tumor/mosca, ao passo que nos indivíduos tratados com o controle positivo a frequência foi de 0,79 tumor/mosca. Os dados revelam ainda que o efeito foi proporcional à concentração utilizada, uma vez que na maior concentração testada (5,0 mg/mL) a redução na frequência tumoral foi ainda maior.

Tabela 1 - Frequência de clones de tumores observados em *Drosophila melanogaster*, heterozigota para o gene supressor de tumor *wts*, tratadas com Doxorrubicina (DXR) e diferentes concentrações de Kefir.

Tratamento			Número de tumores analisados							
kefir (mg/mL)	DXR (mM)	n° de moscas	Olho	Cabeça	Asa	Corpo	Perna	Halter	Total	Frequência
0,00	0,00	200	0	2	3	12	1	0	18	0,09
0,00	0,40	200	2	26	27	92	8	3	158	0,79*
1,25	0,00	200	0	9	0	21	0	0	30	0,15
2,50	0,00	200	0	6	19	16	1	0	42	0,21
5,00	0,00	200	0	11	10	21	0	0	42	0,21
1,25	0,40	200	0	15	16	55	0	2	88	0,44**
2,50	0,40	200	0	22	0	62	2	0	86	0,43**
5,00	0,40	200	0	13	2	47	1	0	63	0,31**

Diagnóstico estatístico de acordo com o Teste Mann-Whitney. Nível de significância $p = 0,05$. * Valor considerado diferente do controle negativo ($p < 0,05$). ** Valor considerado diferente do controle positivo ($p < 0,05$). Fonte: Autores.

Na Tabela 1 é demonstrado a frequência dos tumores em cada tipo de tratamento, assim pode-se observar que não houve diferença estatisticamente significativa entre as frequências tumorais observadas nos indivíduos tratados isoladamente com kefir e o controle negativo – água ultrapura, demonstrando que o Kefir não foi carcinogênico em nenhuma das concentrações testadas. Do mesmo modo, ao ressaltar a frequência dos tumores em cada tipo de tratamento pode-se observar que a diferença entre a frequência de tumores nas concentrações de kefir associado a doxirrubicina foi significativamente menor quando comparadas com o controle positivo – doxirrubicina isoladamente, demonstrando o potencial anticarcinogênico do Kefir.

Este resultado corrobora com resultados de diversos trabalhos selecionados por Rafie *et al.* (2015), em artigo de revisão de literatura, que descreveu efeitos antiproliferativos do Kefir em células cancerígenas; supressão de dano no DNA; efeito pró apoptótico de células tumorais e redução no tamanho tumoral, o que sugere um efeito benéfico do kefir na prevenção e tratamento do câncer. Ainda que esses estudos não sejam suficientes para validar esses efeitos esses trabalhos, possibilitam uma visão global dos possíveis efeitos anticâncer do kefir e os mecanismos envolvidos.

Os probióticos contêm bactérias vivas, que são úteis para a saúde. Em outras palavras, um probiótico é um suplemento alimentar microbiano vivo que afeta benéficamente o hospedeiro, melhorando o equilíbrio microbiano. O kefir é um dos probióticos mais utilizados por ser considerado um poderoso suplemento, originário da região dos Balcãs-Caucasiano (Sharifi *et al.*, 2017; Slattery *et al.*, 2019). É feito a partir da fermentação de formas tradicionais e comerciais de grãos de kefir com qualquer tipo de leite pasteurizado semidesnatado ou desnatado (Jalali *et al.*, 2015; Prado *et al.*, 2015; Baschali *et al.*, 2017; Rosa *et al.*, 2017; Sharifi *et al.*, 2017). No presente estudo este foi utilizado na forma de pó liofilizado, objetivando maior absorção e biodisponibilidade no organismo testado.

Em termos de valor nutricional, o kefir contém pelo menos 2,7% de proteína, 0,6% de ácido láctico e menos de 10% de gordura (Teshome, 2015; Sharifi *et al.*, 2017). O Kefir é uma rica fonte de vitaminas (caroteno, vitaminas A, K, B1, B2, B5, C, B12 e ácido fólico), aminoácidos (amônia, serina, lisina, alanina, treonina, triptofano, valina, lisina, metionina, fenilalanina e isoleucina) e composições minerais (Mg, Ca, P, Zn, Cu, Mn, Fe, Co e Mo). Portanto, o kefir pode ser utilizado como antioxidante, antitumoral e agente antimicrobiano. Visto que o kefir tem efeitos positivos no sistema imunológico e no metabolismo do colesterol, também promove melhora da saúde óssea e da tolerância à lactose. Consequentemente, é provável

que a ingestão de kefir possa ter um papel potencial na prevenção e no tratamento do câncer (Chen et al., 2015; Fiorda et al., 2017; Sharifi et al., 2017; Fernandes et al., 2017).

Deste modo, ao longo dos anos, vários estudos *in vitro* e *in vivo* relataram as atividades anticancerígenas do kefir, ao demonstrar retardo do crescimento tumoral por apoptose; modulação da resposta imune, por elevar os mediadores anti-inflamatórios enquanto regula negativamente as citocinas pró-inflamatórias; modificação da microbiota intestinal; diminuição do crescimento tumoral e de danos ao DNA; modulação do processo antioxidante e inibição de proliferação e ativação de pró-carcinógenos (; Sharifi et al., 2017; Azizi et al., 2021).

Vinderola et al. (2006) estudaram o efeito imunomodulador do exopolissacarídeo produzido por *Lactobacillus kefirianofaciens* no nível da mucosa intestinal em camundongos, examinando os perfis de citocinas e imunoglobulinas. A administração oral de exopolissacarídeo em camundongos resultou na resposta da mucosa intestinal por meio da elevação da produção de IgA nos intestinos delgado e grosso e indução da imunidade sistêmica por meio da produção de citocinas no fluido intestinal e no soro. Da mesma forma, Carasi et al. (2015) investigaram as propriedades imunomoduladoras do *Lentilactobacillus kefiri* isolado do kefir e descobriram que sua administração induzia alterações na composição da microbiota intestinal. O estudo descobriu que o *Lactobacillus kefiri* induziu a produção de citocinas pró/anti-inflamatórias em diferentes proporções. O estudo também estabeleceu que a administração de *Lentilactobacillus kefiri* CIDCA 8348 a camundongos apresentou moléculas anti-inflamatórias elevadas, como os genes IL-10, CXCL-1 e mucina 6, e regulou negativamente a expressão de mediadores pró-inflamatórios, como IFN γ , GM-CSF e IL-1, em locais indutivos e efetores do sistema imunológico intestinal (Azizi et al., 2021).

Liu et al. (2002) realizaram um tratamento oral *in vivo* de kefir de leite e kefir de leite de soja em camundongos inoculados com sarcoma. Eles descobriram que ambos os tipos de kefir resultaram em supressão significativa do crescimento tumoral por meio da estimulação da lise celular apoptótica em tumores e um aumento significativo nos níveis de IgA em camundongos, propondo que ambos os kefir tenham atributos anticancerígenos, aumentando a resistência da mucosa a infecções gastrointestinais após 30 dias de consumo (Liu et al., 2002).

Outro estudo mostrou a capacidade imunorreguladora do kefir ou da fração livre de células do kefir (KF) na resposta imune nas glândulas mamárias para retardar o crescimento do tumor em um modelo de câncer de mama dependente de hormônio. Os resultados demonstraram a relação entre os sistemas imunológico e endócrino por demonstrar a ativação de células imunes (aumento do número de células IgA(+) e diminuição das células Bcl-2(+)) e produção de citocinas (aumento de IL-10, e diminuição de IL-6) (Leblanc et al., 2006; Leblanc et al., 2007; Azizi et al., 2021).

No contexto das propriedades anticarcinogênicas do kefir destaca-se a diminuição da secreção de TGF- α , TGF- β e Bcl2 e aumento da secreção de Bax, levando a apoptose; a indução da apoptose mediada por espécies reativas de oxigênio (EROs); a ativação de endonucleases dependentes da relação cálcio e magnésio para clivagem do DNA; a diminuição da secreção de TGF- α e TGF- β que induz uma ação antiproliferativa em células cancerígenas; o aumento da secreção de interferon- β , uma citocina antiproliferativa; a ativação, dosagem dependente, da caspase 3, que leva à apoptose de células tumorais, entre outras (Bourrie et al., 2016; Sharifi et al., 2017).

Sendo assim, embora os mecanismos exatos pelos quais o Kefir exibiu sua ação para promover redução na frequência de tumores induzidos pela doxorrubicina não tenham sido analisados na presente pesquisa, é possível sugerir também que o kefir tenha exercido uma regulação positiva de proteínas pró-apoptóticas e uma regulação negativa de proteínas antiapoptóticas. No entanto, nos estudos com modelos animais, há diferentes mecanismos demonstrados de acordo com o tipo de câncer estudado, bem como os genes específicos envolvidos em cada processo variam de acordo com o tecido acometido (Azizi et al., 2021).

4. Conclusão

O teste para a detecção de tumores epiteliais em *D. melanogaster* foi eficiente para identificar o potencial anticarcinogênico do kefir nas três concentrações testadas: 1,25mg/mL; 2,5mg/mL e 5,0 mg/mL. Embora os mecanismos exatos pelos quais o Kefir reduziu danos induzidos pela DXR não tenham sido diretamente avaliados no presente estudo, outras pesquisas sugerem mecanismos relacionados, sobretudo, à modulação da atividade inflamatória e indução de apoptose.

Para sedimentar o conhecimento já existente acerca do Kefir se faz necessário a realização de pesquisas em outros modelos animais.

Referências

- Azizi, N. F., Kumar, M. R., Yeap, S. K., Abdullah, J. O., Khalid, M., Omar, A. R.; Osman, M. A., Mortadza, S. A. S., & Alitheen, N. B. (2021) Kefir and Its Biological Activities. *Foods*, 10, (6)1210. 10.3390/foods10061210.
- Baschali, A., Tsakalidou, E., Kyriacou, A., Karavasiloglou, N., & Matalas, A. L. (2017). Traditional low-alcoholic and non-alcoholic fermented beverages consumed in European countries: a neglected food group. *Nutrition Research Reviews*, 30, (1)1-24. 10.1017/s0954422416000202.
- Bourrie, B. C. T.; Willing, B. P.; & Cotter, P. D. (2016). The Microbiota and Health Promoting Characteristics of the Fermented Beverage Kefir. *Frontiers In Microbiology*, 7, 1-17. 10.3389/fmicb.2016.00647
- BRASIL. (2020). Estimate 2020: cancer incidence in Brazil (Estimativa 2018: incidência de câncer no Brasil). *National Cancer Institute (Instituto Nacional de Câncer -INCA)*. Rio de Janeiro: INCA.
- Bray F., Ferlay J., Soerjomataram I., Siegel R.L., Torre L.A., & Jemal A. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*, 68, (6)394-424. 10.3322/caac.21492.
- Carasi P., Racedo S.M., Jacquot C., Romanin D.E., Serradell M.A., & Urdaci M.C. (2015). Impact of kefir derived *Lactobacillus kefir* on the mucosal immune response and gut microbiota. *J Immunol Res*, 2015, 1-12. 10.1155/2015/361604.
- Chen C., Chan H.M., & Kubow S. (2007). Kefir extracts suppress in vitro proliferation of estrogen-dependent human breast cancer cells but not normal mammary epithelial cells. *J Med Food*, 10, (3):416-22. 10.1089/jmf.2006.236.
- Zhina C., Junling S., Xijuan Y., Bo N., Yang L., & Zhongfu W. (2015). Chemical and physical characteristics and antioxidant activities of the exopolysaccharide produced by Tibetan kefir grains during milk fermentation. *International Dairy Journal*, 43, 15-21. 10.1016/j.idairyj.2014.10.004.
- Eeken J.C., Klink I., van Veen B.L., Pastink A., & Ferro W. (2002). Induction of epithelial tumors in *Drosophila melanogaster* heterozygous for the tumor suppressor gene wts. *Environ Mol Mutagen*, 40, (4)277-82. 10.1002/em.10119.
- FAULDOXO®: cloridrato de doxorrubicina. Farmacêutica Responsável: Cintia Delphino de Andrade. São Paulo: *Libbs Farmacêutica Ltda*, 2017. Bula de Remédio.
- Farnworth, E. R. (2005). Kefir: a complex probiotic. *Food Science: Functional Foods*, 2, (1)1-17. 10.1616/1476-2137.13938.
- Fernandes M. S., Sanches L. F., Rodrigues D., Handa C., Guelfi M., & Garcia S. (2017). Ida EI. Evaluation of the isoflavone and total phenolic contents of kefir-fermented soymilk storage and after the in vitro digestive system simulation. *Food Chem*, 15, (29)373-380. 10.1016/j.foodchem.2017.02.095.
- Fiorda F.A., Melo P. G.V., Thomaz-Soccol V., Rakshit S.K., Pagnoncelli M.G.B., & Vandenbergh L.P.S. (2017). Soccol CR. Microbiological, biochemical, and functional aspects of sugary kefir fermentation - A review. *Food Microbiol*, 66, 86-95. 10.1016/j.fm.2017.04.004.
- KEFIR: liofilizado. Farmacêutico responsável: Fagner Martimiano. Ipanema: *Farmácia Cruz e Costa Ltda*, 2022. Bula de Remédio.
- Jalali, F., Sharifi, M., & Salehi, R. (2015). Kefir induces apoptosis and inhibits cell proliferation in human acute erythroleukemia. *Medical Oncology*, 33, (1)7. 10.1007/s12032-015-0722-8
- Kerschbaum E., & Nüssler V. (2019). Cancer Prevention with Nutrition and Lifestyle. *Visc Med*, 35, (4)204-209. 10.1159/000501776.
- LeBlanc A. M., Matar C., Farnworth E., & Perdigon G. (2006). Study of cytokines involved in the prevention of a murine experimental breast cancer by kefir. *Cytokine*, 34, (1-2)1-8. 10.1016/j.cyto.2006.03.008.
- Leblanc A. M., Matar C., Farnworth E., & Perdigon G. (2007). Study of immune cells involved in the antitumor effect of kefir in a murine breast cancer model. *J Dairy Sci*, 90, (4)1920-8. 10.3168/jds.2006-079
- Liu J.R., Wang S.Y., Lin Y.Y., & Lin C.W. (2002). Antitumor activity of milk kefir and soy milk kefir in tumor-bearing mice. *Nutr Cancer*, 44, (2)183-7. 10.1207/S15327914NC4402_10
- Murphy N., Moreno V., Hughes D.J., Vodicka L., Vodicka P., Aglago E.K., Gunter M.J., & Jenab M. (2019). Lifestyle and dietary environmental factors in colorectal cancer susceptibility. *Mol Aspects Med*, 69, 2-9. 10.1016/j.mam.2019.06.005
- Prado, M. R., Blandón, L. M., Vandenbergh, L. P. S., Rodrigues, C., Castro, G. R., Thomaz-Soccol, V., & Soccol, C. R. (2015). Milk kefir: composition, microbial cultures, biological activities, and related products. *Frontiers In Microbiology*, 6, 1177. doi10.3389/fmicb.2015.01177.

- Rafie N, Golpour H. S., Ghiasvand R., & Miraghajani M. (2015). Kefir and Cancer: A Systematic Review of Literatures. *Arch Iran Med*, 18, (12)852-7. PMID: 26621019
- Rosa D.D., Dias M.M.S., Grześkowiak Ł.M., Reis S.A., Conceição L.L., & Peluzio M.D.C.G. (2017). Milk kefir: nutritional, microbiological and health benefits. *Nutr Res Ver*, 30, (1)82-96. 10.1017/S0954422416000275
- Salminen S., Bouley C., Boutron-Ruault M.C., Cummings J.H., Franck A., Gibson G.R., Isolauri E., Moreau M.C., Roberfroid M., & Rowland I. (1998). Functional food science and gastrointestinal physiology and function. *Br J Nutr*, 80, (1)S147-71. 10.1079/bjn19980108
- Santos, F. L. Kefir: propriedades funcionais e gastronômicas. (2015). Cruz das Almas- Bahia: *Editora UFRB*, 124.
- Sharifi M., Moridnia A., Mortazavi D., Salehi M., Bagheri M., & Sheikhi A. (2017). Kefir: a powerful probiotics with anticancer properties. *Med Oncol*, 34, (11)183. 10.1007/s12032-017-1044-9
- Silva M.J.S., O'Dwyer G., & Osorio-de-Castro C.G.S. (2019). Cancer care in Brazil: structure and geographical distribution. *BMC Cancer*, 19, (1)987. 10.1186/s12885-019-6190-3
- Slattery C., Cotter P.D., & O'Toole P.W. (2019). Analysis of Health Benefits Conferred by *Lactobacillus* Species from Kefir. *Nutrients*, 11, (6)1252. 10.3390/nu11061252
- Gemechu, T. (2015). Review on lactic acid bacteria function in milk fermentation and preservation. *African Journal of Food Science*, 9, (4)170-175. 10.5897/AJFS2015.1276
- Vasconcelos M.A., Orsolin P.C., Silva-Oliveira R.G., Nepomuceno J.C., & Spanó M.A. (2017). Assessment of the carcinogenic potential of high intense-sweeteners through the test for detection of epithelial tumor clones (warts) in *Drosophila melanogaster*. *Food Chem Toxicol*, 101, 1-7. 10.1016/j.fct.2016.12.028
- Vinderola G., Perdigón G., Duarte J., Farnworth E., & Matar C. (2006). Effects of the oral administration of the exopolysaccharide produced by *Lactobacillus kefirifaciens* on the gut mucosal immunity. *Cytokine*, 36, (5-6)254-60. 10.1016/j.cyto.2007.01.003
- Weir T.L., Trikha S.R.J., & Thompson H.J. (2021). Diet and cancer risk reduction: The role of diet-microbiota interactions and microbial metabolites. *Semin Cancer Biol*, 70, 53-60. 10.1016/j.semcancer.2020.06.007.