

ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIMUTAGÊNICA DE *Lactobacillus paracasei*

^{1,2}Renata C. de Almeida; ^{2,3,5}Vanessa de S. Bizarro; ^{2,4,5}Renata S. Lemos; ²Rafael R. Dihl e ²Mauricio Lehmann

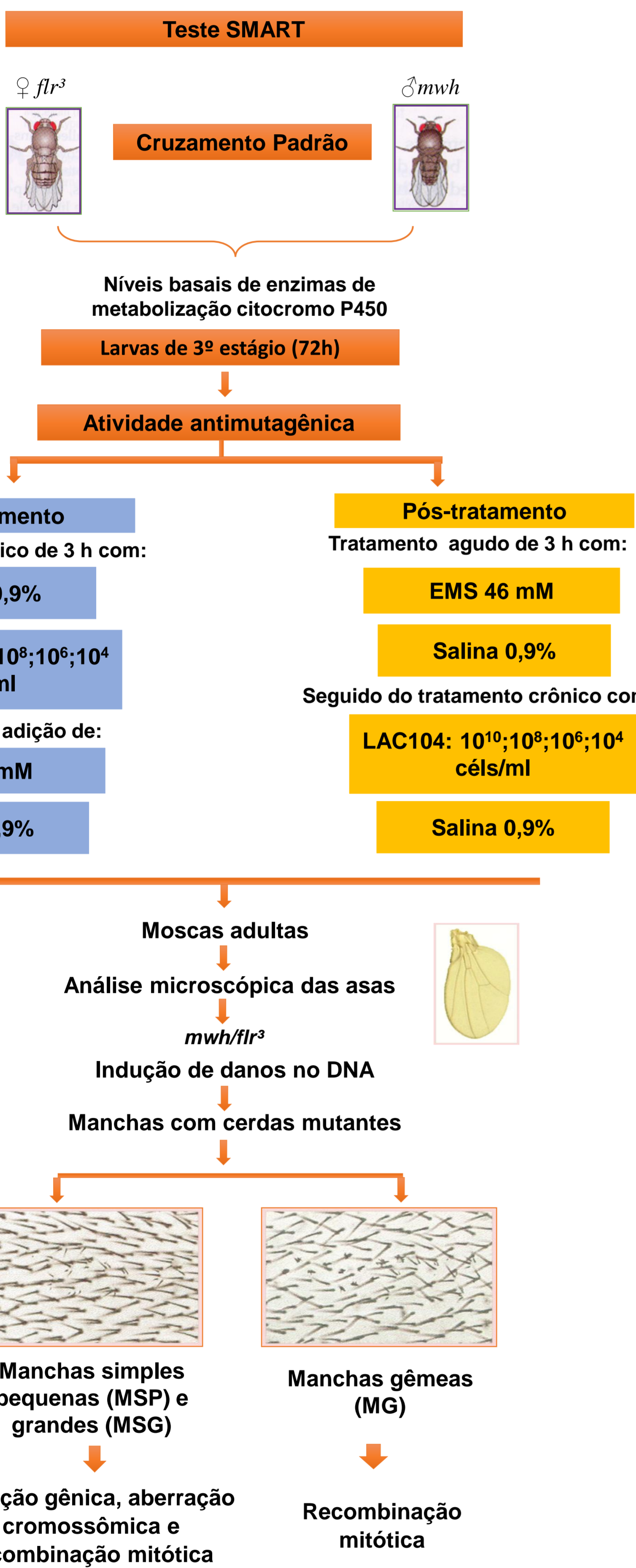
¹Aluna de Doutorado do PPG em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde (PPGBioSaúde); ²Laboratório de Toxicidade Genética (TOXIGEN), ULBRA Canoas; ³Bolsista de IC PROBIC/FAPERGS; ⁴Bolsista de IC PIBIC/CNPq-ULBRA; ⁵Aluna do Curso de Biomedicina, ULBRA Canoas. mauriciol@ulbra.br

Introdução

Bactérias ácido lácticas (BALs) são microorganismos probióticos autóctones no trato gastrointestinal humano de pessoas saudáveis. Novas perspectivas de estudos relacionados a estes organismos podem fornecer informações para o desenvolvimento de linhagens não patogênicas e de interesse econômico, uma vez que apresentam uma ampla atividade química e probiótica (AHMADI et al., 2014).

O presente estudo avaliou a atividade antimutagênica sobre os danos genéticos induzidos pelo etilmetanossulfonato (EMS) da linhagem LAC104 de *Lactobacillus paracasei*. Foi utilizado o teste para a Detecção de Mutação e Recombinação Somática (SMART) em células somáticas de *Drosophila melanogaster* em dois sistemas de tratamento, pré- e cotratamento.

Resultados



Referências Bibliográficas

Tabela 1: Resultados obtidos no teste SMART com a progênie *mwh/fli3* do cruzamento padrão (CP) após exposição aguda de larvas de 3º estágio ao EMS (46 mM), seguida do pós-tratamento com quatro concentrações de culturas ativas e inativas de *Lactobacillus paracasei* (LAC 104).

Tratamentos	EMS (mM)	LAC104 (céls/mL)	N. de moscas (N)	Manchas por indivíduo (no. de manchas) diag. estatístico ^a				Total manchas <i>mwh</i> ^c (n)
				MSP (1-2 céls) ^b m = 2	MSG (>2 céls) ^b m = 5	MG m = 5	TM m = 2	
0	0	0	60	0,70 (42)	0,15(09)	0,07 (04)	0,92 (55)	55
46	0	0	60	3,45 (207)*	2,75(165) *	2,50 (150) *	8,70 (522) *	477
Ativas								
46	10 ⁴	10 ⁴	60	2,32 (139)+	3,20(192) -	1,17 (70) +	6,68 (401) +	344
46	10 ⁶	10 ⁶	60	2,55 (153)-	2,93(176) -	1,58 (95) -	7,07 (424) -	372
46	10 ⁸	10 ⁸	60	1,83 (110)+	2,60(156) -	1,55 (93) +	5,98 (359) +	323
46	10 ¹⁰	10 ¹⁰	60	2,43 (146)-	2,63(158) -	1,65 (99) +	6,72 (403) +	343
Inativas								
46	10 ⁴	10 ⁴	60	2,92 (175)-	3,37(202) +	1,78 (107) +	8,07 (484) -	416
46	10 ⁶	10 ⁶	60	2,77 (166)+	3,65(219) +	1,88 (113) -	8,30 (498) -	409
46	10 ⁸	10 ⁸	60	2,65 (159)+	3,02(181) -	1,55 (93) +	7,22 (433) +	371
46	10 ¹⁰	10 ¹⁰	60	2,60 (156)+	3,22(193) -	1,65 (99) +	7,47 (448) +	382

^aDiagnóstico estatístico: *, positivo quando comparado ao controle negativo através do teste binomial condicional; -, negativo quando comparado ao tratamento com EMS 5 mM através do teste binomial condicional e teste U de Mann, Whitney e Wilcoxon (Frei e Würzler, 1995); m, fator de multiplicação para a avaliação de resultados significativamente negativos. Níveis de significância $\alpha=\beta=0,05$. ^bInclui manchas simples *fli3* raras. ^cConsiderando os clones *mwh* para as manchas simples *mwh* e para as manchas gêmeas.

Tabela 2: Resultados obtidos no teste SMART com a progênie *mwh/fli3* do cruzamento padrão (CP) após exposição crônica de larvas de 3º estágio ao pré-tratamento com quatro concentrações de cultura de *L. paracasei* (LAC104) ativas e inativas seguido do tratamento com EMS (5 mM)

Tratamentos	EMS (mM)	LAC104 (céls/mL)	N. de moscas (N)	Manchas por indivíduo (no. de manchas) diag. estatístico ^a				Total manchas <i>mwh</i> ^c (n)
				MSP (1-2 céls) ^b m = 2	MSG (>2 céls) ^b m = 5	MG m = 5	TM m = 2	
0	0	0	60	0,47 (28)	0,08 (05)	0,02 (01)	0,57 (34)	34
0	5	5	60	7,45 (447) *	3,62 (217) *	1,65 (99) *	12,72 (763) *	717
Ativas								
10 ⁴	5	5	60	6,15 (369) -	3,27 (196) -	1,45 (87) -	10,87 (652) -	599
10 ⁶	5	5	60	6,65 (399) -	2,85 (171) -	1,65 (99) -	11,15 (669) -	637
10 ⁸	5	5	60	7,00 (420) -	3,23 (194) -	1,55 (93) -	11,78 (707) -	672
10 ¹⁰	5	5	60	6,90 (414) -	3,75 (225) -	1,87 (112) -	12,52 (751) -	703
Inativas								
10 ⁴	5	5	60	7,80 (468) -	3,45 (207) -	1,72 (103) -	12,97 (778) -	733
10 ⁶	5	5	60	6,88 (413) -	3,25 (195) -	1,72 (103) -	11,85 (711) -	871
10 ⁸	5	5	60	7,90 (474) -	2,98 (179) -	1,73 (104) -	12,62 (757) -	708
10 ¹⁰	5	5	60	7,88 (473) -	3,07 (184) -	1,48 (89) -	12,43 (746) -	705

^aDiagnóstico estatístico: *, positivo quando comparado ao controle negativo através do teste binomial condicional; -, negativo quando comparado ao tratamento com EMS 5 mM através do teste binomial condicional e teste U de Mann, Whitney e Wilcoxon (Frei e Würzler, 1995); m, fator de multiplicação para a avaliação de resultados significativamente negativos. Níveis de significância $\alpha=\beta=0,05$. ^bInclui manchas simples *fli3* raras. ^cConsiderando os clones *mwh* para as manchas simples *mwh* e para as manchas gêmeas.

Discussão

De uma forma geral, a linhagem bacteriana apresentou atividade modulatória apenas sobre os danos induzidos pelo EMS no protocolo de pós-tratamento, reduzindo de forma estatisticamente significativa os danos induzidos por este mutágeno (Tabela 1).

No pré-tratamento não foram observadas alterações significativas na frequência total de manchas gerada pelo EMS quando a bactéria foi utilizada (Tabela 2). A redução na frequência de danos no pós-tratamento ocorreu em três das quatro concentrações utilizadas, 10⁴, 10⁸ e 10¹⁰ céls/mL nas bactérias ativas e nas concentrações de 10⁸ e 10¹⁰ céls/mL nas bactérias inativas.

Os resultados positivos referentes à redução na frequência de manchas gêmeas encontrados no protocolo de pós-tratamento em algumas concentrações indicam que a linhagem probiótica atue na promoção dos mecanismos de reparo envolvidos na correção de danos de origem recombinacional, uma vez que este tipo de mancha é causado exclusivamente por este tipo de evento. Esta conclusão também é reforçada pelo fato de que o efeito protetor observado ocorreu apenas no pós-tratamento, caracterizando uma possível ação sobre os mecanismos de reparação do DNA.

Neste sentido, a literatura científica apresenta alguns dados referentes à atividade antimutagênica de probióticos, mostrando que, de forma geral, estes microrganismos são capazes de reduzir a atividade mutagênica de diferentes agentes químicos. Pool-Zobel et al. (1993) demonstraram que a administração de *L. casei* Shirota a ratos expostos ao mutágeno N-metil-N'-nitro-N-nitrosoguanidina reduziu a frequência de danos no DNA de células da mucosa do esôfago, estômago, duodeno e cólon quando avaliado através do teste cometa. Em estudo subsequente, utilizando este mesmo bioensaio, em células da mucosa colônica, foi confirmado o efeito antígeno-tóxico de diferentes espécies de lactobacilos em ratos tratados com o carcinógeno de cólon 1,2-dimetilhidrazina. Este efeito protetor não foi observado no tratamento com *Streptococcus thermophilus* NCIM 50038 e também quando as culturas de *L. acidophilus* foram submetidas ao calor. Este último resultado associa o efeito protetor à presença de organismos vivos (Pool-Zobel et al., 1996).

Estudos relacionados relatam que cepas de lactobacilos e bifidobactérias, bem como cepas de *E. coli* Nissle 1917, mostraram atividade antimutagênica *in vitro*, provavelmente devido à sua capacidade de metabolizar e inativar compostos mutagênicos (Geier et al., 2006, Hsieh e Chou, 2006). Adicionalmente estudo conduzido por Vyas et al. (2015) revelou redução *in vivo* da atividade genotóxica e mutagênica do N-metil-N-nitro-N-nitrosoguanidina causado pela linhagem de células vivas de *Lactobacillus rhamnosus*.

Villarini et al. (2008), investigando os efeitos antígeno-tóxicos através do uso de linhagens de *Lactobacillus casei* na dieta de ratos tratados com o carcinógeno de cólon 1,2-dimetilhidrazina hidrócloride (DMH), evidenciaram claramente os efeitos protetores no DNA pelo uso destes microrganismos, isolados a partir de um produto lácteo comercialmente disponível, através da versão alcalina do teste cometa em células do fígado e cólon intestinal.