



ESTUDO DA ATIVIDADE MUTAGÊNICA E ANTIMUTAGÊNICA DE BACTÉRIAS LÁCTICAS EM CÉLULAS SOMÁTICAS DE *Drosophila melanogaster*

^{1,2}Jessica M. Miri, ²Renata C. de Almeida, ³Sérgio E. Laguna, ²Rafael R. Dihl e ²Mauricio Lehmann

¹Bolsista de IC PIBIC/CNPq-ULBRA, aluna do Curso de Biomedicina, ULBRA Canoas. ²Laboratório de Toxicidade Genética (TOXIGEN), PPG em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde (PPGBioSaúde), ULBRA Canoas. ³Laboratório de Biotecnologia Vegetal e Microbiologia Aplicada do Instituto de Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul (UCS). mauriciol@ulbra.br

Introdução e Objetivos

As bactérias ácido lácticas (BALs) são consideradas os microorganismos probióticos mais importantes sob o ponto de vista biotecnológico, pois apresentam um amplo potencial de aplicação, abrangendo desde sua incorporação como parte do processo de fermentação em produtos lácteos, tais como queijo, iogurte, sorvetes, sobremesas lácteas e outros, até à sua utilização como probióticos na saúde humana e animal. A utilização de BALs e seus produtos fermentados tem conferido uma variedade de benefícios nutricionais e terapêuticos importantes, entre eles, propriedades antitumorais. Entretanto, a avaliação da atividade mutagênica e antimutagênica de BALs não têm sido amplamente estudada e, portanto, há poucos relatos descritos na literatura científica.

O presente estudo tem o objetivo de avaliar a atividade mutagênica e antimutagênica de uma cepa de *Lactobacillus paracasei* (LAC104) isolada de queijo tipo "Serrano" produzido no Estado do Rio Grande do Sul em células somáticas de *Drosophila melanogaster*, através do teste para a Detecção de Mutação e Recombinação Somática (SMART). Quatro diferentes concentrações de LAC104 (10^{10} , 10^8 , 10^6 e 10^4 céls/mL) foram utilizadas em ambas as avaliações através do cruzamento padrão. Como controle positivo nos estudos de antimutagenicidade e toxicidade genética foi utilizado o etilmetanossulfonato (EMS). Na investigação da atividade antimutagênica foi empregado o protocolo de pré-tratamento.

Teste SMART



Cruzamento Padrão

Nível basal de enzimas de metabolização citocromo P450

Larvas de 3º estágio (72h)

Atividade mutagênica

Controle negativo
(Salina 0,9%)

Controle positivo
(EMS)

BALs: 10^{10} ; 10^8 ; 10^6 ; 10^4
células/ml

Atividade antimutagênica

Pré-tratamento (2 h)
Controle negativo
(Salina 0,9%)

BALs: 10^{10} ; 10^8 ; 10^6 ; 10^4
células/ml

Controle positivo
(EMS)

Salina 0,9%

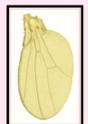
Eventos genotóxicos

Manchas com cerdas mutantes

Moscas Adultas

Análise microscópica das
asas

mwh/flr³



Manchas simples
pequenas (MSP) e
grandes (MSG)

Mutação gênica,
aberração cromossômica
e recombinação mitótica



Manchas gêmeas
(MG)

Recombinação
mitótica

Resultados

Tabela 1. Resultados obtidos no teste SMART com a progênie *mwh/flr³* do cruzamento padrão (CP) após exposição crônica de larvas de 3º estágio a quatro concentrações de cultura de *Lactobacillus paracasei* (LAC104), além do controles negativo e positivo.

Tratamentos	N. de moscas (N)	Manchas por indivíduo (no. de manchas) diag. estatístico ^a				Total manchas <i>mwh^c</i> (n)
		MSP (1-2 céls) ^b m = 2	MSG (>2 céls) ^b m = 5	MG m = 5	TM m = 2	
Controle negativo (salina 0,9%)	30	0,47(14)	0,10 (03)	0,03 (01)	0,60(18)	15
LAC104 10^4 céls/mL	30	0,53(16) -	0,13 (04)-	0,03 (01) -	0,70(21) -	21
LAC104 10^6 céls/mL	30	0,70(21) -	0,13 (04)-	0,03 (01) -	0,87(26) -	26
LAC104 10^8 céls/mL	30	0,53(16) -	0,07 (02)-	0,00(00) -	0,60(18) -	18
LAC104 10^{10} céls/mL	20	0,75(15) -	0,20 (04)-	0,20 (04) -	1,15(23) -	23
Controle Positivo (uretano 20 mM)	10	4,00(40) +	1,30 (13)+	0,40 (04) +	5,70(57) +	57

^aDiagnóstico estatístico de acordo com Frei e Würigler (1988) quando comparado ao controle negativo: -, negativo, +, positivo, $P \leq 0,05$. ^bIncluindo manchas simples *flr³*. ^cForam considerados apenas os clones *mwh* das manchas simples *mwh* e das manchas gêmeas.

Tabela 2. Resultados obtidos no teste SMART com a progênie *mwh/flr³* do cruzamento padrão (CP) após exposição crônica de larvas de 3º estágio ao pré-tratamento com quatro concentrações de cultura de *Lactobacillus paracasei* (LAC104) ou salina 0,9%, seguido do tratamento com EMS (5 mM) ou ou salina 0,9%.

Tratamentos	N. de moscas (N)	Manchas por indivíduo (no. de manchas) diag. Estatístico ^a				Total manchas <i>mwh^c</i> (n)
		MSP (1-2 céls) ^b m = 2	MSG (>2 céls) ^b m = 5	MG m = 5	TM m = 2	
Controle negativo (salina 0,9%)	10	0,47(14)	0,10 (03)	0,03 (01)	0,60(18)	15
Salina + EMS	10	8,50(85) *	5,20 (52)*	3,50 (35) *	17,20(172) *	159
LAC104 10^4 céls/mL + EMS	10	9,30(93) -	3,60 (36)-	2,50 (25) -	15,40(154) -	148
LAC104 10^6 céls/mL + EMS	10	9,00(90) -	3,70 (37)-	3,10 (31) -	15,80(158) -	150
LAC104 10^8 céls/mL + EMS	10	8,60(86) -	4,30 (43)-	2,90 (29) -	15,80(158) -	149
LAC104 10^{10} céls/mL + EMS	10	7,60(76) -	4,20 (42)-	3,80 (38) -	15,60(156) -	147

^aDiagnóstico estatístico de acordo com Frei e Würigler (1988): *, positivo quando comparado ao controle negativo; -, negativo quando comparado ao tratamento com salina + EMS, $P \leq 0,05$. ^bIncluindo manchas simples *flr³* raras. ^cForam considerados apenas os clones *mwh* das manchas simples *mwh* e das manchas gêmeas.

Discussão

- Os resultados preliminares encontrados até o momento mostram que esta linhagem não induziu danos genéticos (Tabela 1) assim como não alterou a frequência de manchas mutantes induzidas pelo EMS (Tabela 2).
- A ausência de atividade mutagênica da BAL verificada neste estudo está de acordo com alguns resultados descritos na literatura científica.
- Por outro lado, alguns trabalhos descrevem que linhagens de BALs são capazes de proteger o DNA de danos genéticos induzidos por agentes químicos.
- A atividade antimutagênica das BALs pode estar relacionada à espécie avaliada ou à célula alvo/organismo utilizada nos bioensaios.

Referências Bibliográficas

- CALDINI, G., TROTTA, F., CORSETTI, A., CENCI, G. Evidence for in vitro antigenotoxicity of cheese non starter lactobacilli. *Antonie Van Leeuwenhoek*, v. 93, p. 51-59, 2008.
- CUNNINGHAM-RUNDLES, S., AHRNE, S., JOHANN-LIANG, R., ABUAV, R., DUNN-NAVARRA, A.M., GRASSEY, C., BENCHMARK, S., CERVIA, J.S. Effect of Probiotic bacteria on microbial host defense, growth, and immune function in Human Immunodeficiency Virus Type-1 infection. *Nutrients*, v. 3, p. 1042-1070, 2011.
- DELAMARE, A.P.L., DE ANDRADE, C.C.P., MANDELLI, F., DE ALMEIDA, R.C., ECHEVERRIGARAY, S. Microbiological, physico-chemical and sensorial characteristics of serrano, an artisanal Brazilian cheese. *Food and Nutrition Sciences*, v. 3, p. 1068-1075, 2012.