



ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIMUTAGÊNICA DE *Lactobacillus paracasei*

^{1,2}Vanessa de S. Bizarro; ^{2,3}Renata C. da Silveira; ²Rafael R. Dohl e ²Mauricio Lehmann*

¹Bolsista de IC PIBIC/CNPq-ULBRA, aluna do Curso de Biomedicina, ULBRA Canoas; ²Laboratório de Toxicidade Genética (TOXIGEN), PPGBioSaúde, ULBRA Canoas; ³Aluna de Doutorado do PPG em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde (PPGBioSaúde); *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 Mutações e Recombinação Somática (SMART) em células somáticas de *Drosophila melanogaster* em dois sistemas de tratamento, pré- e cotratamento.

Resultados

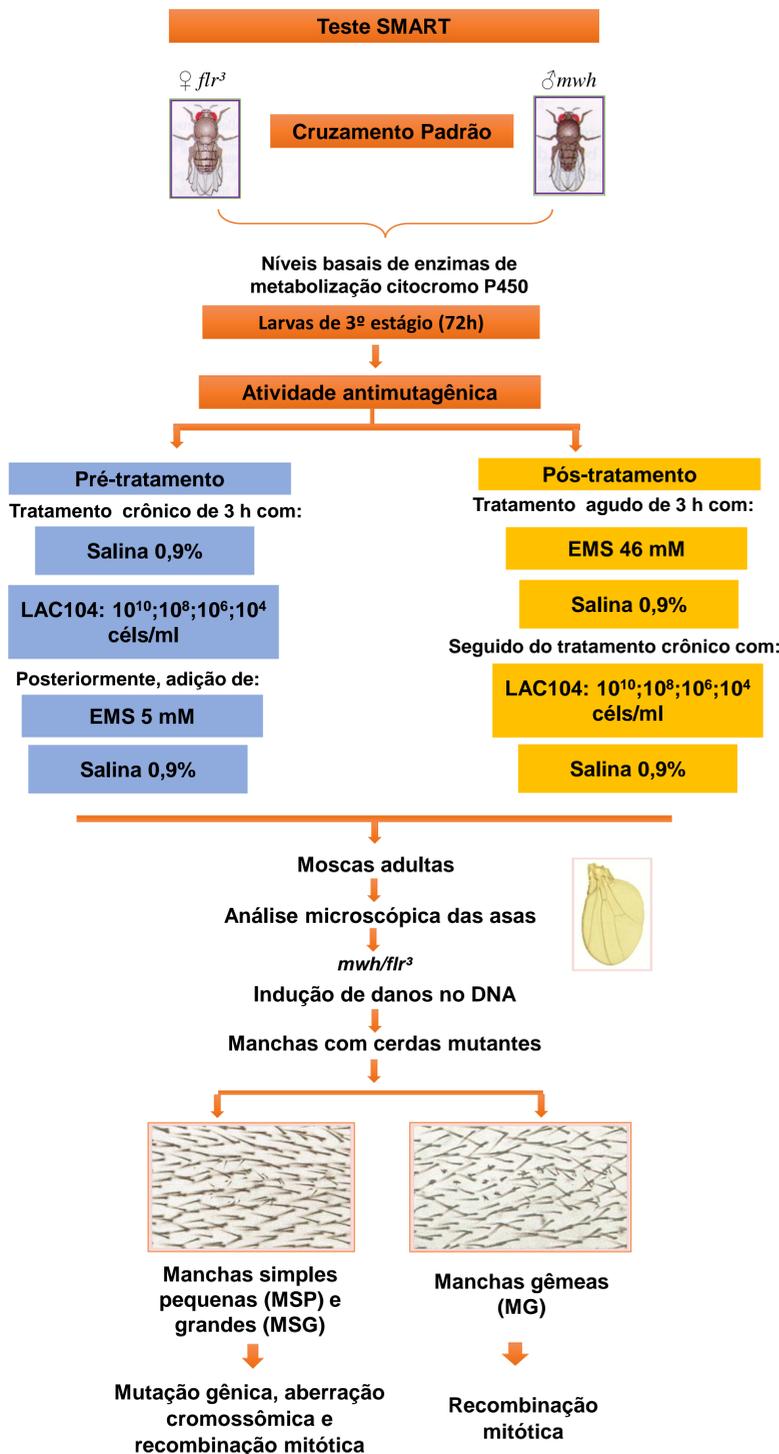


Tabela 1: Resultados obtidos no teste SMART com a progênie *mwh/flr³* do cruzamento padrão (CP) após exposição aguda de larvas de 3º estágio ao EMS (46 mM), seguida do pós-tratamento com quatro concentrações de culturas ativas e inativas de *Lactobacillus paracasei* (Lac 104).

Tratamentos		N. de moscas (N)	Manchas por indivíduo (no. de manchas) diag. estatístico ^a				Total manchas <i>mwh</i> ^c (n)
EMS (mM)	LAC104 (céls/mL)		MSP (1-2 céls) ^b m = 2	MSG (>2 céls) ^b m = 5	MG m = 5	TM m = 2	
0	0	60	0,70 (42)	0,15 (09)	0,07 (04)	0,92 (55)	55
46	0	60	3,45 (207)*	2,75 (165)*	2,50 (150)*	8,70 (522)*	477
Ativas							
46	10 ⁴	60	2,32 (139)+	3,20 (192) -	1,17 (70) +	6,68 (401) +	344
46	10 ⁶	60	2,55 (153)-	2,93 (176) -	1,58 (95) -	7,07 (424) -	372
46	10 ⁸	60	1,83 (110)+	2,60 (156) -	1,55 (93) +	5,98 (359) +	323
46	10 ¹⁰	60	2,43 (146)-	2,63 (158) -	1,65 (99) +	6,72 (403) +	343
Inativas							
46	10 ⁴	60	2,92 (175)-	3,37 (202) +	1,78 (107) +	8,07 (484) -	416
46	10 ⁶	60	2,77 (166)+	3,65 (219) +	1,88 (113) -	8,30 (498) -	409
46	10 ⁸	60	2,65 (159)+	3,02 (181) -	1,55 (93) +	7,22 (433) +	371
46	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 *flr³* 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/flr³* 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		N. de moscas (N)	Manchas por indivíduo (no. de manchas) diag. estatístico ^a				Total manchas <i>mwh</i> ^c (n)
EMS (mM)	LAC104 (céls/mL)		MSP (1-2 céls) ^b m = 2	MSG (>2 céls) ^b m = 5	MG m = 5	TM m = 2	
0	0	60	0,47 (28)	0,08 (05)	0,02 (01)	0,57 (34)	34
0	5	60	7,45 (447)*	3,62 (217)*	1,65 (99)*	12,72 (763)*	717
Ativas							
	10 ⁴	60	6,15 (369) -	3,27 (196) -	1,45 (87) -	10,87 (652) -	599
	10 ⁶	60	6,65 (399) -	2,85 (171) -	1,65 (99) -	11,15 (669) -	637
	10 ⁸	60	7,00 (420) -	3,23 (194) -	1,55 (93) -	11,78 (707) -	672
	10 ¹⁰	60	6,90 (414) -	3,75 (225) -	1,87 (112) -	12,52 (751) -	703
Inativas							
	10 ⁴	60	7,80 (468) -	3,45 (207) -	1,72 (103) -	12,97 (778) -	733
	10 ⁶	60	6,88 (413) -	3,25 (195) -	1,72 (103) -	11,85 (711) -	871
	10 ⁸	60	7,90 (474) -	2,98 (179) -	1,73 (104) -	12,62 (757) -	708
	10 ¹⁰	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 *flr³* 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 atua 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 antigenotóxico 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 antigenotóxicos 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.

Referências Bibliográficas

- AHMADI, M. A. et al. Antimutagenic and anticancer effects of lactic acid bacteria isolated from Tarhana through Ames test and phylogenetic analysis by 16S rDNA. *Nutrition and Cancer*, v. 66, p. 1406-13, 2014.
- FREI, H.; WÜRGLER, F. E. Optimal experimental design and sample size for the statistical evaluation of data from somatic mutation and recombination tests (SMART) in *Drosophila*. *Mutation Research*, v. 334, p. 247-58, 1995.
- GEIER, M. S.; BUTLER, R. N.; HOWARTH, G. S. Probiotics, prebiotics and synbiotics: A role in chemoprevention of colorectal cancer? *Cancer Biology & Therapy*, v. 5, p. 1265-1269, 2006.
- HSIEH, M. L.; CHOU, C. C. Mutagenicity and antimutagenic effect of soymilk fermented with lactic acid bacteria and bifidobacteria. *International Journal of Food Microbiology*, v. 111, p. 43-47, 2006.
- POOL-ZOBEL, B. et al. Antigenotoxic properties of lactic acid bacteria in vivo in the GI tract of rats. *Nutrition and Cancer*, v. 20, p. 271-281, 1993.
- POOL-ZOBEL, B. L. et al. Lactobacillus and Bifidobacterium mediated antigenotoxicity in the colon of rats. *Nutrition and Cancer*, v. 26, p. 365-380, 1996.
- VILLARINI, M. et al. Modulatory activity of a *Lactobacillus casei* strain on 1,2-dimethylhydrazine induced genotoxicity in rats. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, v. 49, p. 192-199, 2008.
- VYAS, B. R., et al. Antigenotoxic and Antimutagenic Activities of Probiotic *Lactobacillus rhamnosus* Vc against N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *Nutrition and Cancer*, v. 67, p. 1142-50, 2015.