

Uso da levedura *Saccharomyces cerevisiae* para elucidar mecanismos de toxicidade da microcistina-LR

Valério E. ^{1,2*}, Campos A. ²; Vilarés A. ¹, Osório H. ³, Pereira P. ¹, Vasconcelos V. ^{2,4}

(1) Departamento de Saúde Ambiental, Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge. Avenida Padre Cruz, 1649-016 Lisboa, Portugal

(2) Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental (CIIMAR/CIMAR), Universidade do Porto, Rua dos Bragas 289, 4050-123 Porto, Portugal

(3) IPATIMUP - Institute of Molecular Pathology and Immunology of the University of Porto, 4200-465 Porto, Portugal

(4) Departamento de Biologia, Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, Rua do Campo Alegre, 4069-007 Porto, Portugal

* elisabete.valerio@insa.min-saude.pt

Até à data, foram já efetuados diversos estudos com vários organismos e linhas celulares para desvendar os mecanismos moleculares de toxicidade da microcistina, uma das mais frequentes hepatotoxinas produzida por cianobactérias. Em células de mamíferos, o mecanismo de toxicidade da microcistina é atribuída a um processo que envolve várias vias, um deles relacionado com a inibição das fosfatases proteicas PP1 / PP2A e outro com a produção de espécies reativas de oxigénio (ROS). Contudo, existem ainda algumas lacunas na identificação destes mecanismos, que impede a total caracterização do modo de ação desta toxina. Por forma a contribuir para a elucidação dos mecanismos de toxicidade da variante química microcistina-LR (MCLR), neste estudo foram avaliados os efeitos de várias concentrações de MCLR nos níveis de ROS, resposta do sistema antioxidante, indução de apoptose, expressão diferencial de proteínas e alteração da expressão génica na levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Verificou-se que após coloração das células com fluorocromos, a exposição das células à toxina induziu um aumento dos níveis intracelulares dos ROS. Este aumento provocou uma ativação do sistema antioxidante, especialmente na resposta da catalase. Além disso, observou-se uma inibição da superóxido dismutase citosólica, o que em conjunto com o tipo de espécies reativas de oxigénio passíveis de estarem presentes, sugere que a ROS maioritariamente induzida é peróxido de hidrogénio (H₂O₂). Observaram-se ainda sinais de apoptose após avaliação por citometria de fluxo, usando um kit de Anexina V-FITC. Da análise proteómica, verificou-se que 14 proteínas foram diferencialmente expressas nas células expostas a diferentes concentrações de MCLR, quando comparada com o controlo. A análise da expressão relativa dos genes homólogos das PP1/PP2A e de genes BER envolvidos na reparação de DNA revelou que alguns destes apresentaram respostas diferenciais, dependentes da concentração de toxina usada. Os resultados obtidos neste estudo demonstram que a levedura *Saccharomyces cerevisiae* VL3 apresenta alguns dos principais efeitos tóxicos induzidos pela microcistina-LR em eucariotas superiores e o seu uso revelou que existem proteínas e genes alterados pela exposição à MCLR que são transversais a vários modelos eucarióticos.

Palavras-Chave/Palabras Clave: *Saccharomyces cerevisiae*, Microcistina-LR, stress oxidativo, apoptose