



FUNGO FILAMENTOSO DA CAATINGA: UMA FONTE BIOTECNOLÓGICA PARA A PRODUÇÃO DE ENZIMAS FIBRINOLÍTICAS COM POTENCIAL TERAPÊUTICO E AGROINDUSTRIAL

Pietra Gícia Oliveira Cosmo da Silva¹
spietragicia@gmail.com

Kethelen Barbara Barbosa Cardoso²
kethybarbara@gmail.com

Maria Eduarda Luiz Coelho de Miranda³
dudalcmiranda@gmail.com

Romero Marcos Pedrosa Brandão Costa¹
romero.brandao@upe.br

Daniela de Araújo Viana Marques¹
daniela.viana@upe.br

¹ Universidade de Pernambuco

² Universidade Federal de Pernambuco

³ Universidade Federal Rural Pernambuco

INTRODUÇÃO

A oclusão vascular é um processo natural no corpo, mas pode levar a complicações fibrinolíticas, acidente vascular cerebral, doença oclusiva periférica, entre outros. Estas complicações contribuem significativamente para um mau prognóstico e mortalidade são complicações fibrinolíticas (None et al., 2024). Assim, enzimas com atividade fibrinolíticas produzidas por fungos, que têm a capacidade de dissolver coágulos e reduzir os efeitos adversos causados pelo tratamento convencional, tornam-se, neste contexto, uma terapia trombolítica promissora. Serina protease, metaloprotease e serina metaloprotease, podem afetar o mecanismo fibrinolítico dissolvendo coágulos sanguíneos e melhorando a circulação sanguínea (None et al., 2024).

Paralelamente, a produção enzimática utilizando resíduos agroindustriais reduz o custo razoavelmente do processo, como mostram alguns estudos, com o uso de fungos e bactérias, (Hazare et al., 2024). As enzimas fibrinolíticas também podem ser incorporadas ao agronegócio trazendo benefícios para a saúde animal, ajudando na digestão dos nutrientes e reduzindo gastos com dieta (Flores et al., 2024). Foi comprovado que as proteases em suínos reduzem os custos de produção e aumentam a eficiência alimentar. Essa dualidade de aplicação, tanto na saúde quanto na agricultura, ressalta os versáteis benefícios econômicos das enzimas fibrinolíticas, incentivando uma maior exploração e investimento em seu desenvolvimento e utilização (Flores et al., 2024). Quando tais enzimas oferecem benefícios de saúde e em outros setores, sua aplicação e disseminação são amplamente incentivadas pelo benefício econômico abrangente.

Os fungos desempenham um papel significativo na indústria global, contribuindo para o avanço de setores como a alimentação, farmacêutica e biotecnologia. O gênero *Aspergillus*, em particular, tem um impacto econômico e social considerável, estando amplamente distribuído pelo mundo. Este gênero é crucial na indústria alimentícia e farmacêutica, especialmente na produção de enzimas e ácido cítrico (Afonso, 2015). As espécies mais utilizadas na indústria farmacêutica incluem *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus awamori*, *Aspergillus sojae* e *Aspergillus terreus*. A espécie mais prevalente, *Aspergillus niger*, é reconhecida como um fungo que produz toxinas de baixa toxicidade e, por isto, possui o status de geralmente reconhecido como seguro (GRAS) pela Food and Drug Administration (FDA) dos Estados Unidos (Afonso, 2015). Assim, o objetivo do trabalho foi avaliar a produção de enzimas fibrinolíticas por uma nova espécie de *Aspergillus* ssp. isolado do solo do município de Serra Talhada.

MATERIAIS E MÉTODOS



Uma espécie de *Aspergillus spp.* foi isolado do Bioma da Caatinga e pelo método de esgotamento e seguiu para a Coleção de Culturas – MICOTECA URM do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco para identificação. Esse microrganismo está mantido em tubo inclinado no meio de cultura BDA (Batata Dextrose Ágar). Os esporos foram suspensos com a adição de solução de NaCl (0,9%) e contados em câmara de Neubauer, até uma quantidade suficiente para concentração final 10^7 esporos/mL.

Os esporos foram inoculados nos Erlenmeyers contendo 10 gramas de farelo de trigo, no pH 8 e 70% de umidade para a produção de protease por fermentação em estado sólido (FES). A atividade fibrinolítica foi determinada de acordo com Wang *et al.* (2006). A atividade foi medida levando em consideração que 1 unidade (unidade de degradação de fibrina, FU) de atividade enzimática é definida como um aumento de 0,01 por minuto na absorbância a 275 nm da solução de reação. Todos os experimentos foram realizados em triplicata e suas médias e desvio padrão calculados através do software Excel.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tipo de fermentação empregado tem um impacto significativo na concentração das proteínas obtidas. No caso da fermentação submersa, a presença de água livre pode diluir as proteases produzidas, resultando em um menor rendimento (Cardoso *et al.*, 2022). O farelo de trigo é frequentemente citado na literatura como um substrato eficaz para a produção de enzimas identificam o farelo de trigo como o substrato mais adequado para a produção de proteases com ação fibrinolítica através da fermentação em estado sólido com fungos filamentosos (Nascimento *et al.*, 2017). Além disso, esses pesquisadores observaram resultados semelhantes ao comparar o farelo de trigo com resíduos agroindustriais na produção de enzimas por *Aspergillus sp.* (Nascimento *et al.*, 2017; Cardoso *et al.*, 2022) devido a esses fatores o substrato e a fermentação em estado sólido foram escolhidos.

Após a leitura o resultado foi enquadrado na fórmula e se obteve como atividade 30,5 U/mL, que está de acordo com o que está relatado na literatura também utilizando farelo de trigo variando quantidade de substrato e umidade 3g à 60% *Aspergillus ochraceus* URM604 (Cardoso *et al.*, 2022). A enzima fibrinolítica produzida por *Mucor subtilissimus* UCP1262 também a partir de fermentação em estado sólido, obtendo resultado de 26.1 U/ml (Nascimento *et al.*, 2020) em contrapartida o *Aspergillus versicolor* ZLH-1 produziu na fermentação submersa uma quantidade de 31,5 U/ml (Zhao *et al.*, 2022). Uma atividade fibrinolítica de 34,0 U/ml foi observada para o *Aspergillus terreus* utilizando hidrolisado de farinha de peixe e peptona como substratos (Osmolovskiy *et al.*, 2017).

De acordo com Cardoso *et al.* em 2022 é observado uma maior eficiência destas enzimas após as etapas de purificação e caracterização, o que, por sua vez, destaca a importância de aprimorar os processos de cultivo para que se alcance um maior rendimento e uma maior eficiência em aplicações farmacêuticas, dessas enzimas obtidas de fungos filamentosos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pode-se concluir que através dos dados obtidos, essa nova espécie de *Aspergillus* isolado da caatinga pernambucana apresentou atividade fibrinolítica condizente com os valores observados na literatura, apresentando-se como um possível produtor, devendo ser realizadas mais pesquisas para melhor entender o seu funcionamento e possíveis aplicações.

PALAVRAS-CHAVE: Enzimas; Protease; Fermentação.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo fomento.

Referências



- Afonso, Sara de Oliveira Mateus. *Aspergillus niger*: sua utilização na indústria farmacêutica. Orientador: Barroso, Maria Helena. 2015 Oct 1; Dissertação para obtenção do grau de Mestre no Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz. Acesso em: 10 Set. 2024.
- Cardoso, Ketilen Bárbara Barbosa; Nascimento, Thiago Pajeú; Oliveira, Vagne De Melo; Costa, Romero Marcos Pedrosa Brandão; Pastrana, Lourenço; Batista, Juanize Matias Da Silva; Porto, Ana Lúcia Figueiredo. Protease com atividade fibrinolítica e colagenolítica produzida por *Aspergillus ochraceus* URM604. Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento, vol. 11, não. 2, pág. e15511225500, 2022. DOI 10.33448/rsd-v11i2.25500. Acesso em: 27 ago. 2024.
- Cardoso, Ketilen Bárbara Barbosa; Nascimento, Maria Clara; Batista, Ana Carolina; Oliveira, Vagne De Melo; Nascimento, Thiago Pajeú; Batista, Juanize Matias Da Silva; Costa, Romero Marcos Pedrosa Brandão; Pastrana, Lourenço; Porto, Ana Lúcia Figueiredo. Análise sistemática na obtenção de enzimas fúngicas fibrinolíticas. Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento, vol. 11, não. 2, pág. e13611225449, 2022. DOI 10.33448/rsd-v11i2.25449. Acesso em: 28 ago. 2024.
- Flores, Sibely; Santos, Roberta; Junior, Sudario Roberto Silva; Pereira, Pedro Henrique; Paula, Ygor H.; Pereira, Caio; Cantarelli, Vinicius S.; Chaves, Rhuan F.; Martins, Claudia; Fascina, Vitor; Alebrante, Leandro. PSII-14 Economic impact of adding exogenous enzymes in a sorghum-based diet for growing and finishing pigs. Journal of animal science, vol. 102, no. Supplement_2, p. 288–289, 2024. DOI 10.1093/jas/skaf102.328. Available at: <http://dx.doi.org/10.1093/jas/skaf102.328>.
- Hazare, Chinmay; Bhagwat, Prashant; Singh, Suren; Pillai, Santhosh. Diverse origins of fibrinolytic enzymes: A comprehensive review. Heliyon, vol. 10, no. 5, p. e26668, 2024. DOI 10.1016/j.heliyon.2024.e26668. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e26668>. Accessed on: 28 Aug. 2024.
- Nascimento, Thiago Pajeú; Sales, Amanda Emmanuelle; Porto, Tatiana Souza; Costa, Romero Marcos Pedrosa Brandão; Breydo, Leonid; Uversky, Vladimir N.; Porto, Ana Lúcia Figueiredo; Converti, Attilio. Purification, biochemical, and structural characterization of a novel fibrinolytic enzyme from *Mucor subtilissimus* UCP 1262. Bioprocess and biosystems engineering, vol. 40, no. 8, p. 1209–1219, 2017. DOI 10.1007/s00449-017-1781-3. Accessed on: 28 Aug. 2024.
- Nascimento, Thiago P.; Conniff, Amanda Emmanuelle S.; Moura, José Arion S.; Batista, Juanize Matias S.; Costa, Romero Marcos P. B.; Porto, Camila S.; Takaki, Galba Maria C.; Porto, Tatiana S.; Porto, Ana Lúcia F. Protease from *Mucor subtilissimus* UCP 1262: Evaluation of several specific protease activities and purification of a fibrinolytic enzyme. Anais da Academia Brasileira de Ciências, vol. 92, no. 4, 2020. DOI 10.1590/0001-3765202020200882.
- None Aulia Ramadhan Supit, None Arfat Lusinanto, None Titin Ariyani, None Dwirini Retno Gunarti. Systematic review: How to obtain Fibrinolytic Enzymes from Fungi. World Journal of Biology Pharmacy and Health Sciences. 2024 May 30;18(2):394–402.
- Osmolovskiy, AA, Zvonareva, ES, Kreyer, VG *et al.* Secreção de proteinases com atividade fibrinolítica por micromicetos do gênero *Aspergillus*. Universidade de Moscou. 73, 39–42 (2018). <https://doi.org/10.3103/S0096392518010066>.
- Wang, Jianbo; Hamblet, Natasha S.; Mark, Sharayne; Dickinson, Mary E.; Brinkman, Brendan C.; Segil, Neil; Fraser, Scott E.; Chen, Ping; Wallingford, John B.; Wynshaw-Boris, Anthony. Dishevelled genes mediate a conserved mammalian PCP pathway to regulate convergent extension during neurulation. Development (Cambridge, England), vol. 133, no. 9, p. 1767–1778, 2006. DOI 10.1242/dev.02347. Available at: <http://dx.doi.org/10.1242/dev.02347>.
- Zhao, Lihong; Lin, Xiuping; Fu, Jingyun; Zhang, Jun; Tang, Wei; He, Zengguo. A novel bi-functional fibrinolytic enzyme with anticoagulant and thrombolytic activities from a marine-derived fungus *Aspergillus versicolor* ZLH-1. Marine drugs, vol. 20, no. 6, p. 356, 2022. DOI 10.3390/md20060356. Available at: <http://dx.doi.org/10.3390/md20060356>.