

ANÁLISE MOLECULAR DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA LISOZIMA

Bartolomeu Garcia de Souza Medeiros¹; Valeska Silva Lucena²; Maine Virgínia Alves Confessor³; Maria do Socorro Rocha Melo Peixoto⁴; Stéphanhy Sallomé Sousa Oliveira⁵; Sidney Rodrigues Ramos⁶

RESUMO

Nos últimos anos a procura por novas moléculas vem se intensificando por isso que várias áreas vêm recebendo grandes investimentos que apoiam pesquisas e formação de recursos humanos com capacidade de extrair os mais diferentes princípios ativos de diferentes espécies existentes na flora, na fauna ou em outra parte da biosfera. Alguns princípios ativos importantes são aqueles que estão relacionados com a prevenção de alguma doença através da inibição de algum agente patogênico. O trabalho teve como objetivo uma análise molecular da atividade antimicrobiana da lisozima através de uma revisão bibliográfica. Através de estudos realizados sobre o assunto, constatou-se que a estrutura primária da lisozima consiste numa única cadeia polipeptídica constituída por 129 aminoácidos. Ao longo da cadeia existem 4 pares de cisteínas (aminoácidos hidrofóbicos que contêm um grupo tiol: -SH) ligados por uma ponte dissulfídica (ligações covalentes que unem pontos distantes da estrutura primária da proteína, e que são comuns em proteínas extracelulares). Sua ação antimicrobiana se deve ao fato dela quebrar as ligações entre o ácido N-acetilglucosamina (NAM) e N-acetilglucosamina de peptidoglicano (NAG). Sendo assim, a lisozima é uma enzima vulgarmente conhecida como o antibiótico natural, normalmente encontrado em secreções, como as lágrimas, a saliva e a mucosa nasal, bem como em grânulos citoplasmáticos de granulócitos neutrófilos e ainda na clara do ovo, atuando principalmente sobre bactérias gram-positivas. A sua estrutura molecular corresponde a uma estrutura primária que consiste numa única cadeia polipeptídica constituída por 129 aminoácidos com pares cisteínas.

Palavras-chave: Moléculas. Enzima. Microrganismos.

ABSTRACT

In recent years the search for new molecules has intensified so that several areas have been receiving large investments that support research and training of human resources with the ability to extract the most different active ingredients of different species existing flora, fauna or elsewhere the biosphere. Some important active ingredients are those that are related to the prevention of a disease by inhibiting a pathogenic agent. The study aimed to

¹ Acadêmico de Biomedicina da Faculdade Maurício de Nassau. barto-garcia@hotmail.com

² Doutora em Biotecnologia (RENORBIO) e Docente da Faculdade Maurício de Nassau/União de Ensino Superior de Campina Grande (UNESC). valeskasl@hotmail.com

³ Mestre em Biologia – Universidade de Coimbra e Docente da Faculdade Maurício de Nassau. maine_alves@hotmail.com

⁴ Doutora em Recursos Naturais – UFCG e Docente da Faculdade Maurício de Nassau /Universidade Estadual da Paraíba. Socorrorocha.1@hotmail.com

⁵ Graduada em Biomedicina - Faculdade Maurício de Nassau e Pós graduada em Citologia Clínica. stephanhy_sousa@hotmail.com

⁶ Graduando do curso de Farmácia da Faculdade Maurício de Nassau. sidneyrramos@outlook.com.br

molecular analysis of the antimicrobial activity of lysozyme through a literature review. Through studies on the matter, it was found that the primary structure of lysozyme consists of a single polypeptide chain consisting of 129 amino acids. Along the chain there are 4 pairs of cysteines (hydrophobic amino acid containing a thiol group: -SH) linked by a disulfide bridge (covalent bonds linking distant points of the primary structure of the protein, and which are common in extracellular proteins). Its antimicrobial action is because it breaks the bonds between the N- acetylglucosamine acid (NAM) and N-acetylglucosamine peptidoglycan (NAG). Therefore, the lysozyme is an enzyme commonly known as natural antibiotic, commonly found in secretions such as tears, saliva and nasal mucosa, as well as in cytoplasmic granules of neutrophil granulocytes and still in the egg white, mainly acts on bacteria gram-positive. Its molecular structure corresponds to a primary structure consisting of a single polypeptide chain consisting of 129 amino acids with cysteine pairs.

Keywords: Molecules. Enzyme. Microorganisms.

1. INTRODUÇÃO

A procura por novas moléculas que tenham propriedades biológicas vem se intensificando nos últimos anos, por isso que estas áreas vêm recebendo grandes investimentos que apoiam pesquisas e formação de recursos humanos com capacidade de extrair os mais diferentes princípios ativos de diferentes espécies existentes na flora, na fauna ou em outra parte da biosfera.

Estes princípios químicos têm sido muito importantes em diversas áreas como na nas engenharias, no meio ambiente e na saúde. As pesquisas são direcionadas à extração e/ou o isolamento e identificação de substâncias químicas de origem vegetal ou animal, assim como, desenvolvimento de produtos biotecnológicos com o potencial de aproveitamento pelas indústrias químicas orgânicas, farmacêutica e cosmética e outras de importância econômica.(Ruas 2010)

Muitos princípios ativos de uma molécula estão relacionados com a sua estrutura molecular de modo que qualquer alteração na sua estrutura pode comprometer a produção de um princípio ativo ou mesmo inibir a sua síntese.

Na saúde, alguns princípios ativos importantes são aqueles que estão relacionados com a prevenção de alguma doença através da inibição de algum agente patogênico como, por exemplo, a ação antimicrobiana de algumas substâncias. Rocha *et al.* (2004) descobriram atividade anticoagulante de polissacarídeos sulfatados extraídos de algas marinhas que podem ser utilizados em estudos farmacológicos.

Neste contexto, pode-se mencionar a lisozima, uma enzima que vem sendo utilizada em diversas áreas por apresentar ação antimicrobiana, porém há a necessidade de mais estudos para elucidar como ocorre a sua ação antimicrobiana, o que pode ser feito a partir da análise de sua estrutura molecular. Sendo assim, uma pesquisa bibliográfica que busque informações sobre a ação antimicrobiana da lisozima e de sua estrutura molecular é de grande importância.

Desta forma, o objetivo da pesquisa foi analisar a estrutura molecular da lisozima e sua ação antimicrobiana.

2. METODOLOGIA

As informações sobre a estrutura e propriedades da lisozima foram selecionadas

através de uma revisão de literatura, seguindo as seguintes etapas de pesquisa:

- Leitura e seleção de um grande número de artigos científicos, sites, dissertações e teses que abordavam assuntos relacionados com a estrutura e propriedades da lisozima;
- Retirada de fragmentos relacionados não só com informações gerais sobre a lisozima, mas também com sua ação antimicrobiana.
- Por fim, foi construído um texto em que foram citadas todas as fontes de onde os fragmentos e imagens foram extraídos, respeitando-se as ideias e descobertas feitas pelos autores destas fontes consultadas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A lisozima é uma enzima vulgarmente conhecida como o antibiótico natural do organismo, haja vista que destrói bactérias. Pode ser encontrada em grandes concentrações em secreções, como as lágrimas, a saliva e a mucosa nasal, bem como em grânulos citoplasmáticos de granulócitos neutrófilos e ainda na clara do ovo - sendo está muito útil a nível industrial, nomeadamente no controlo de bactérias lácteas no vinho (MALCATA *et al.*, 2006). A lisozima é uma proteína que apresenta estrutura elipsoidal e é obtida a partir dos ovos de galinha, lágrimas e outras secreções (PURICE *et al.*, 2007).

Segundo a Proenol (2013), a lisozima é uma enzima natural extraída da clara de ovo. É muito utilizada em enologia para controle de bactérias lácteas. A lisozima degrada a parede celular das bactérias Gram-positivo como *Denococcus*, *Pediococos* e *Lactobacillus*. Devido à membrana externa protetora, a lisozima não tem um papel ativo contra bactérias Gram-negativo como *Acetobacter*, nem contra leveduras.

A estrutura primária da lisozima consiste numa única cadeia polipeptídica constituída por 129 aminoácidos. Ao longo da cadeia existem 4 pares de cisteínas (aminoácidos hidrofóbicos que contêm um grupo tiol: -SH) ligados por uma ponte dissulfídica (ligações covalentes que unem pontos distantes da estrutura primária da proteína, e que são comuns em proteínas extracelulares). A cadeia constituinte da lisozima não é linear, podendo encontrar-se nela algumas “dobras”. A lisozima é uma proteína globular que apresenta uma fenda profunda ao longo de parte da sua superfície, à qual se ligam seis hexoses dos substratos. (SIMÕES *et al.*, 2006)

A lisozima tem sido extensivamente utilizada, principalmente como modelo para estudos estruturais (estrutura / atividade) e de estabilidade. Outros estudos indicam uma ampla possibilidade de utilizações práticas, tais como: Conservantes para preservar frutas, vegetais, molhos (vegetais e animais) e queijos; Conservantes em alimentos infantis e preventivo de problemas bucais como periodontite (FREITAS, DEBORA DA SILVA 2007).

A lisozima é uma proteína de reação básica, que se apresenta cristalizada em solutos de seus sais resultantes de combinações com os ácidos comuns; a sua molécula proteica, cujo peso aproximado 6 de 13.900 é a da classe de enzimas que destrói paredes celulares de bactérias gram-positivas quebrando o β link (1-4) entre o ácido N- acetilglucosamina (NAM) e N- acetilglucosamina de peptidoglicano (NAG), enfraquecendo assim a parede célula. O resultado é a penetração de água para dentro da célula que incha e eventualmente estoura, um fenómeno chamado de lise (WILMAN CARRILLO 2013).

Muitos trabalhos têm provado essa função, tal como o realizado por Medeiros *et al.* (2013) que aplicaram nano filmes de lisozima e alginato em queijos e observaram um decréscimo na proliferação de microrganismos nos queijos cobertos com o nano filmes.

Hughey e Johnson (1987) provaram que a lisozima apresenta propriedades antimicrobianas contra os microrganismos que prejudicam a qualidade dos alimentos como a *Listeria monocytogenes* e algumas cepas de *Clostridium botulinum*. Eles ainda perceberam que outras bactérias causadoras de danos nos alimentos são muito sensíveis à lisozima como o *Clostridium thermosaccharolyticum*, o *Bacillus stearothermophilus* e o *Clostridium tyrobutyricum*. Por apresentar propriedades funcionais e fisiológicas, a lisozima tem adquirido relevância em diversas áreas, inclusive na indústria alimentícia, cosmética e farmacêutica (FREIRE, 2007).

De acordo com Ruas (2010) a lisozima atua principalmente sobre bactérias gram-positivas, porém segundo Ibrahim *et al.* (1996) ela pode atuar também contra bactérias gram-negativas se forem submetidas à desnaturação por meio de aquecimento ou mudança do pH

Segundo Ruas, nos humanos a lisozima está presente na pele, saliva, urina, leite e secreções respiratórias e cervicais. Além da atividade antimicrobiana, a lisozima humana aumenta a atividade fagocitária de polimorfonucleares, leucócitos e macrófagos e estimula a proliferação de monócitos (NIYONSABA; OGAWA, 2005). É empregada como princípio ativo de medicamentos para tratamento de alguns tipos de acnes, ácaros e bactérias resistentes a antibióticos (MI AN, 2007).

4. CONCLUSÃO

Tomando-se como base as informações consultadas nas diferentes fontes, a pesquisa bibliográfica revelou que lisozima é uma enzima vulgarmente conhecida como o antibiótico natural, normalmente encontrado em secreções, como as lágrimas, a saliva e a mucosa nasal, bem como em grânulos citoplasmáticos de granulócitos neutrófilos e ainda na clara do ovo, atuando principalmente sobre bactérias gram-positivas. A sua estrutura molecular corresponde a uma estrutura primária que consiste numa única cadeia polipeptídica constituída por 129 aminoácidos com pares cisteínas.

REFERÊNCIAS

BENKERROUM, N. Antimicrobial activity of lysozyme with special relevance to milk review. **African Journal of Biotechnology**, 7, 25, 4856-4867, 2008.

CARPENTIER, P.; ROYANT, A.; WEIK, M.; BOURGEOIS, D.R. Assisted Crystallography Reveals a Mechanism of X-Ray Induced Reversible Disulfide Radical Formation. **Structure** 18: 1410,2010

CARRILLO, W. Lisozima: Actividad antibacteriana y alergenicidad **Actualizacion em Nutricion**. Vol. 14 N° 4, 314 – 321.

CHIPMAN DM, SHARON N: Mechanism of lysozyme. **Science** 1969, 165:454-465.

FREITAS, D.S. Extração, purificação e peglação de lisozima. SÃO PAULO, 2007.

HUGHEY, V.L.; JOHNSON, A. Antimicrobial activity of lysozyme against bacteria involved in food spoilage and food-borne disease. **Appl Environ Microbiol.**, 53,9, p. 2165–2170, 1987.



HUGO A. O. et al. Polissacarídeos sulfatados de algas Marinhas com atividade anticoagulante. **Infarma** v.16, n: 1-2, (Jan/Fev 2004).

PUPO J. AGUIAR. TRÊS CASOS DE LEPRA LEPROMATOSA TRATADOS PELA LISOZIMA ASSOCIADA AO CALCIFEROL (VITAMINAS D2 E D3),REVISTA BRASILEIRA DE LEPROLOGIA Pág 60

JOLLÈS P: From the discovery of lysozyme to the characterization of several lysozyme families. lysozyme: model enzymes in biochemistry and biology Basel: **Birkhauser Verlag**,1996, 3-5;

JOLLÈS P, JOLLÈS J: What's new in lysozyme research? **Mol Cell Biochem** 1984, 63:165-189.

MASSCHALCK B, MICHIELS CW: Antimicrobial properties of lysozyme in relation to foodborne vegetative bacteria. **Crit Rev Microbiol** 2003, 29:191-214.

PARK JW, KIM CH, KIM JH, JE BR, ROH KB, KIM SJ, LEE HH, RYU JH, LIM JH, OH BH, LEE WJ, HA NC, LEE BL: Clustering of peptidoglycan recognition protein-SA is required for sensing lysine-type peptidoglycan in insects. **Proc Natl Acad Sci USA** 2007, 104:6602-6607

PURICE *et al.* Surface morphology of thin lysozyme films produced by matrix-assisted pulsed laser evaporation (MAPLE). **Applied Surface Science** 254 (2007) 1244–1248A.

RUAS, G. W. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E CITOTOXICO DE LISOZIMA , FACULDADE DE CIENCIAS FARMACEUTICAS , PÁG 17 .SÃO PAULO, 2010.

SALTON, MRJ: The properties of lysozyme and its action on Microorganisms. **Bacteriol Rev** 1957, 21:82-99.

SAVA G, CESCHIA V, PACOR S: Mechanism of the antineoplastic action of lysozyme: evidence for host mediated effects. **Anticancer Res**, 1989,9:1175-1180.

SARMENTO, B; FERRERIA, D.C. L.; Jorgensen , M. van de Weert.—Probing insulin's secondary structure after entrapment into alginate/chitosan nanoparticles. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. Volume 65, Issue 1, January 2007, Pages 10–17.

SAVA G, PACOR S, DASIC G, BERGAMO A: Lysozyme stimulates lymphocyte response to ConA and IL-2 and potentiates 5-fluorouracil action on Advanced carcinomas. **Anticancer Res** 1995, 15:1883-1888.

SEYFRIED, M. *et al.* Pectinas de plantas medicinais: características estruturais e atividades imunomoduladoras. *Rev. bras. plantas med.* [online]. 2016, vol.18, n.1 [cited 2016-05-28], pp.201-214. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722016000100201&lng=en&nrm=iso. ISSN 1983-084X. http://dx.doi.org/10.1590/1983-084X/15_078.



SU T.J., LU, J.R., THOMAS, R.K., CUI, Z.F.; PENFOLD J. The effect of Solution pH on the Structure of Lysozyme Layers Adsorbed at the Silica-Water Interface Studied by Neutron Reflection. **Langmuir**, 14, 438-445, 1998.

TAKETA, T. B. Obtenção e caracterização de recobrimentos de quitosana/ácido hialurônico e quitosana/alginato de sódio pela técnica layer-by-layer para aplicações antimicóticas. **Tese**. Universidade Estadual de Campinas. Tese, Campinas – São Paulo Data de publicação: 2013.