

REVISTA

# ANALYTICA<sup>®</sup>

Mídia oficial da instrumentação e Controle de Qualidade Industrial

Ano 19 - Edição 113 - Julho 2021

R\$ 25,00



**A IMPORTÂNCIA DO  
BACILLUS SUBTILIS NATTO**  
NA PRODUÇÃO DE UMA ENZIMA ESPECIAL COM  
PROPRIEDADES MEDICINAIS: A NATTOQUINASE

**O QUE É MICOPLASMA? I**

**E MAIS:** Espectrometria de massas, Metrologia, Microbiologia,  
Tecnologias Químicas e Em Foco.

# A IMPORTÂNCIA DO *BACILLUS SUBTILIS* NATTO NA PRODUÇÃO DE UMA ENZIMA ESPECIAL COM PROPRIEDADES MEDICINAIS: A NATTOQUINASE

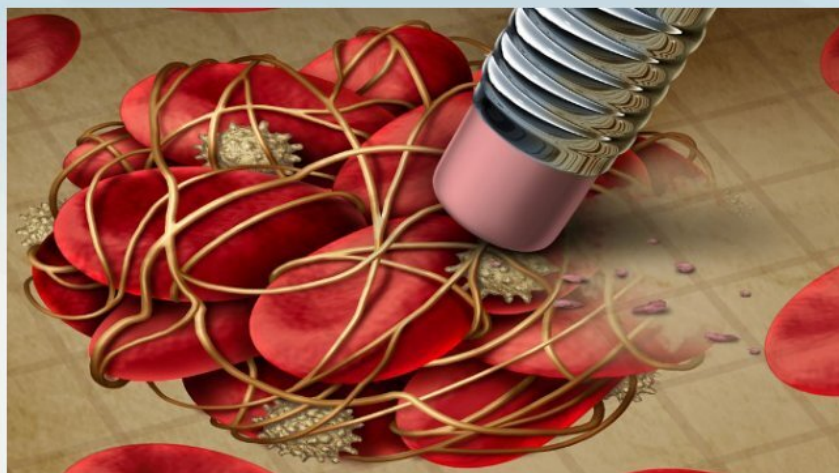
*THE IMPORTANCE OF BACILLUS SUBTILIS NATTO IN THE PRODUCTION OF A SPECIAL ENZYME WITH MEDICAL PROPERTIES: THE NATTOKINASE.*

**Autores:** Renata Bazante Rodrigues<sup>1</sup>, Maria Eduarda da Costa Silva<sup>2</sup> & João Pedro de Farias Martins<sup>3</sup>

1- Doutora em Ciências pela Universidade de São Paulo, pesquisadora colaboradora e voluntária pelo Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN/CNEN). São Paulo- Brasil.

2- Cursando Ciências Biomédicas pela Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas (FMU) e bolsista PIBIC de Iniciação Científica pelo Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN/CNEN). São Paulo, Brasil.

3- Cursando Ciências Biomédicas pela Universidade Paulista (UNIP). Santana de Parnaíba.



## Resumo

A nattoquinase é uma enzima que tem ações fibrinolítica e trombolítica que traz uma ampla aplicabilidade para o tratamento de patologias clínicas humanas. Trata-se de uma protease alcalina extraída do microorganismo não patogênico *Bacillus subtilis* natto. Recentes pesquisas demonstraram que o gênero *Bacillus*, em especial, a espécie e sua variação *B. subtilis* var. natto, possui propriedades prebiótica e probiótica, devido sua atividade fermentativa de grãos, tais como, soja, feijão, grão de bico, entre outros, permitindo naturalmente gerar resistência aos fitopatógenos comuns na agricultura. Dessa maneira, os alimentos que fermentam tornam-se fontes importantes que ativam o sistema imunológico no homem, previne o desenvolvimento de determinadas doenças e oferece condições ao organismo de reagir àquelas doenças que estão se manifestando. Dessa maneira, o consumo de alimentos fermentados através do *B. subtilis* natto, poderá fazer parte das necessidades nutricionais, isto é, ricos em nutrientes. Essa espécie em especial, possibilita que aminoácidos e vitaminas de grãos estejam mais disponíveis, ou seja, alientes de “alta densidade nutricional” e que estão diretamente associados ao binômio saúde-doença, prevalecendo a saúde e o bem-estar das pessoas que as consomem (conhecidos como alimentos biofermentados); indicados para todas as idades, porém, ainda é pouco divulgado e, nota-se seu consumo, principalmente, adquiridos através dos hábitos alimentares, como por exemplo, pelos japoneses. A longividude de muitos povos pode estar atrelada ao escolher alimentos saudáveis que permitem o envelhecimento com saúde. Assim, envelhecer é uma escolha e exige esforços em todas as esferas e diretrizes: sociais, culturais, econômicas e políticas. A soja Natto, nome escolhido devido à prática do cultivo pelos povos orientais, é obtida apenas da fermentação do *Bacillus subtilis* natto. Ao fermentar o grão, o bacilo, como resposta da quebra de aminoácidos, produz a chamada enzima nattoquinase ou nattoquinase, que possui propriedades fibrinolíticas, isto significa que possuem mecanismos fibrinolíticos. Em suma, a nattoquinase quebra as fibrinas e evita a formação de trombos (coágulos) nos vasos sanguíneos (é um trombolítico natural). Diante a leitura de artigos científicos direcionados ao assunto, o objetivo desse trabalho é relatar sobre a propriedade meritória do *B. subtilis* natto de produzir a enzima nattoquinase, um atenuante natural indispensável para o controle e cura de determinadas enfermidades sanguíneas.

**Palavras chave:** nattoquinase, ação fibrinolítica, trombolítica, *Bacillus subtilis* natto

## Abstract

*Nattokinase is an enzyme that has fibrinolytic and thrombolytic action and great applicability for the treatment of human clinical pathologies. It's an alkaline protease extracted from the non-pathogenic microorganism Bacillus subtilis. Recently, research has shown that the genus Bacillus, in special the variation B. subtilis natto, is a highly good for people health prebiotic and probiotic properties products, due to its fermentative activity of grains, such as soybeans, beans, chickpeas and others, that his naturally resistance to phytopathogens common in agriculture is very important for life of the vegetables. So, they have very high nutritional values, such as the "Nattô" soy, the name traditional food from Japan. Nattô is a food that prepared with this bacterium specie. When fermenting the soybean, the bacillus produces an enzyme called nattokinase (in response to the breakdown of amino acids, which has fibrinolytic properties, this means that they have fibrinolytic mechanisms). The fibrinolytic properties to prevent the thrombosis disease, its accus in blood vessels. It's observed that the foods by natural fermented are important sources that activate the immune system of man, prevent the development of certain diseases, and offer good conditions when there is manifest themselves. The objective of this article is to bring some literary references and to present the produce importance of the enzyme Nattokinase by B. subtilis natto and knowledge of your consumption as part of the nutritional needs. The "high nutritional density" foods that are directly associated with the health-disease binomial, with the health and well-being of the people who consume them prevailing. The known as biofermented foods for wide age range, however, there are few publications and, its consumption is noticed, mainly acquired through the alimentary habits by the Japanese. The live long time of many people can be linked when choosing healthy foods that allow healthy aging. Thus, aging is a choice and requires efforts in all spheres and guidelines: social, cultural, economic, and political. Natto soy, a name chosen due to the cultivation practice by the eastern peoples, is obtained only from the fermentation of Bacillus subtilis natto. When is fermenting the grain in response to the breakdown of amino acids and produces the nattokinase enzyme too, that is properties mechanical action fibrinolytic. In the context, the nattoquinase breaks down fibrins and prevents the formation of thrombi (clots) in blood vessels (it is a natural thrombolytic agent). The science directed to the subject helped to look at meritorious property of B. subtilis natto to produce the enzyme nattoquinase, a natural attenuator indispensable for the control and cure of certain blood diseases.*

**Keywords:** nattoquinase, fibrinolytic, thrombolytic, *Bacillus subtilis* natto

### Introdução

#### Valor nutricional

É importante informar ao consumidor sobre a composição do alimento e a quantidade de nutrientes que o alimento fornece, além de indicar quanto isso representa da Ingestão Diária Recomendada – IDH (FAO/OMS, 2001; NAP, 2006). Para fortalecer o sistema imunológico, prevenindo o desenvolvimento de algumas doenças e ajudar o corpo a reagir àquelas que estão se manifestando. Dessa maneira, é importante comer mais alimentos ricos em vitaminas e minerais, diminuir o consumo de fontes de gordura, açúcar e alimentos industrializados, contendo corantes e conservantes químicos e, preferindo os alimentos orgânicos (sem agrotóxicos) e os extraídos de processos fermentativos produzidos por determinados fungos e bactérias

considerados “microrganismos do bem”, ou seja, benéficos à saúde do homem e a homeostase dos seres vivos na biocenose (SILVA & RODRIGUES, 2020).

Os alimentos que contêm uma grande quantidade de nutrientes em relação ao seu aporte de energia se denominam alimentos “ricos em nutrientes” ou “de alta densidade de nutrientes”. São os alimentos mais recomendáveis, pois, ajudam a suprir as necessidades nutricionais humanas, entretanto, o envelhecimento é inevitável, mas envelhecer com saúde e bem-estar é, sem dúvida, uma escolha; embora o conhecimento também se faça necessário, assim como as ações socioeconômicas e políticas, incluindo na educação alimentar o consumo de alimentos fermentados naturalmente como o Nattô, e a prática de exercícios físicos com “check-up” em dia. Assim, será possível envelhecer e manter o corpo e mente saudáveis.

#### Por que é importante a coagulação e a descoagulação sanguínea?

Uma das etapas da coagulação do sangue é a formação de um coágulo. Ela se dá por uma sequência de eventos químicos nos quais a fibrina desempenha importante papel. A coagulação do sangue desempenha importante função hemostática quando o sangue extravasa dos vasos, mas também pode ocorrer no interior dos vasos sanguíneos, podendo obstruí-los ou formar êmbolos. Em ambos os casos, o coágulo precisa ser removido depois de cumprir sua função ou para evitar complicações no sistema circulatório.

O ponto comum entre as duas vias é a conversão do fibrinogênio em fibrina sob ação da trombina. Dessa maneira, quando não ocorre a descoagulação, ou seja, desfazer os coágulos para o sangue fluir pelo corpo; esses trombos

# I.PROMOTE da Arena Técnica

## Buscador B2B integrador de produtos e serviços por normas e regulamentos

INTELIGÊNCIA DIGITAL ENTRE A OFERTA E A PROCURA QUALIFICADA DE PRODUTOS E SERVIÇOS NORMATIZADOS



### Simplifica muito o trabalho de quem projeta

Para os engenheiros e técnicos de projeto, I.PROMOTE facilita ao extremo os processos de indicar especificações técnicas. Basta buscar as empresas, produtos e serviços ou ainda apontar as normas/regulamentos. Tudo à mão, tudo fácil.

### Gera leads e oportunidades para quem vende

Para as áreas de marketing e vendas de fornecedores de produtos e serviços normatizados, I.PROMOTE é um importante canal de acesso ao mercado, inclusive internacional, por integrar mais de um milhão de diferentes normas e regulamentos.



### Resolve a vida de quem compra

Para os compradores I.PROMOTE representa enorme agilidade e segurança absoluta de precisão nas compras técnicas.



**CADASTRO GRATUITO DE EMPRESAS FORNECEDORAS**  
**ASSINATURA ANUAL PARA PROMOVER PRODUTOS E SERVIÇOS TÉCNICOS**  
**CONHEÇA!**

+55 11 3862 1033  
info@arenatecnica.com  
www.arenatecnica.com



**ARENATECNICA**

(totalmente fibroso e formado pela proteína fibrina) podem obstruir a circulação do sangue no organismo, acarretando a morte do indivíduo. A formação de trombos no interior das veias profundas, em geral nas pernas, pode causar uma doença grave chamada Trombose Venosa Profunda (TVP). Um trombolítico natural existe, mas sua ação deve ser muito bem entendida, pois há diversos erros na literatura. O nome "trombolítico" não é seu efeito imediato como muitos acreditam, sua ação é secundária (ou mensageira), pois um trombolítico ativa o plasminogênio que sintetizará a plasmina. A plasmina possui a capacidade de degradar a fibrina, o maior componente proteico do trombo.

### Discussão

Como supracitado, a nattoquinase é uma enzima que tem ação fibrinolítica e "trombolítica" que traz uma grande aplicabilidade para o tratamento de patologias clínicas. Trata-se de uma protease alcalina

extraída do alimento tradicional japonês "natto" (soja fermentada). Atualmente, a nattoquinase está sendo amplamente utilizada como medicamento de venda livre para promover a saúde e reduzir o risco de trombose devido à sua atividade fibrinolítica (CHANG, et al., 2007).

A atividade fibrinolítica da nattoquinase foi testada em cães, utilizando um modelo experimental de trombose, realizando a infusão de fibrinogênio bovino e trombina nos animais. Observou-se o angiograma do grupo experimental, onde quatro cápsulas de nattoquinase, contendo 250 mg, foram administradas por via oral. Os exames foram obtidos antes da indução de trombo e após 2,5 a 24 horas. No grupo de controle, não havia sinal de quebra (lise) 18 horas após a indução da trombose. Por outro lado, os cães tratados com nattoquinase tiveram restauração completa da circulação sanguínea em 5 horas (Apud SUMI et al., 1990).

Novamente a atividade fibrinolítica da nattoquinase também foi testada, agora em rato, no qual o trombo foi formado na artéria carótida com ácido acético, danificando as células endoteliais da parede do vaso sanguíneo. Nesse estudo, a uroquinase produzida pelo rim do animal restaurou o fluxo sanguíneo em 45% ao longo de 60 minutos. As doses testadas foram de 0,02, 0,04 e 0,12 McMol/kg e sua atividade foi comparada às enzimas plasmina e elastase, importantes no processo fibrinolítico. A Nattoquinase também foi introduzida e causou recuperação do fluxo sanguíneo (18, 42 e 62%) após 60 minutos. Quando a atividade molecular da nattoquinase e plasmina foram comparadas, a nattoquinase foi 4 vezes mais eficiente que a plasmina. (Apud SUMI et al., 1990).

Como mencionado acima, a nattoquinase previne a formação de trombose e atualmente é usada como medicamento promotor da

saúde e prevenção de doenças circulatórias. Porém, no estudo relatado por Chang e colaboradores (2007) uma paciente com amilóide cerebral hereditária para prevenir um AVC, ingeriu aspirina e também nattoquinase (400 mg por dia), durante 7 dias consecutivos e, como resultado houve o surgimento de microangiopatia e hemorragia cerebral intracerebral na paciente. Este estudo sugeriu que a nattoquinase pode aumentar o risco de hemorragia intracerebral em determinados casos (CHANG, et al., 2007).

Fujita e colaboradores verificaram a viabilidade de usar nattoquinase terapêuticamente para fibrinólise. O processo dependeria da capacidade de digerir fibrina sem destruir o fibrinogênio. Valores para fibrinogênio plasmático residual após administração de uma dose de 0,12 McMol/kg de plasmina, elastase e nattoquinase foram de 33, 42 e 29%, respectivamente.

Quando a dose de nattoquinase foi reduzida para um terço, o nível residual de fibrinogênio foi de 53%. Isto é uma quantidade maior de fibrinogênio residual comparado com o tratamento da plasmina que foi de 33%. Esses resultados sugerem que a nattoquinase pode ser mais segura que a plasmina em um nível de dose apropriado (FUJITA, et al, 1995)

A enzima nattoquinase extraída do *Bacillus subtilis* var. natto, foi avaliada quanto a sua toxicidade, para isso, foram feitos vários estudos compatíveis com as Boas Práticas de Laboratório (BPL) em ratos e seres humanos voluntários com aprovação do Comitê de Ética através do TCLE (Termo de Consentimento Livre Esclarecido). A nattoquinase não apresentou características mutagênicas ou clastogênicas "in vitro" e não foram observados efeitos colaterais nos dias 28 e 90 do experimento com ratos ministrando 167 mg/kg-dia e

1000 mg/kg-dia, respectivamente. O experimento feito com voluntários consumindo 10 mg/kg-dia por 28 dias não apresentou sinais de toxicidade (LAMPE et al., 2016).

Estudo feito por Wu e colaboradores em 2020, utilizaram camundongos com edema auricular induzidos por Xylene (substância química bioacumulativa). Foram aplicadas doses de nattoquinase, resultando a prevenção da doença nos camundongos e a minimização ou eficácia aos danos renais induzidos por LPS (lipolissacarídeo, uma endotoxina) bloqueando a inflamação e o estresse oxidativo. A nattoquinase possui uma grande capacidade anti-inflamatória, inibindo a atividade dos receptores TLR4 e NOX2 (presente nos macrófagos RAW264.7) provocada pela LPS, no entanto, suprime a translocação da NF- $\kappa$ B para o núcleo, prevenindo a expressão de mediadores pró-inflamatórios nos macrófagos (WU et al., 2020).

Em 2020, Eslamifar e colaboradores iniciariam uma pesquisa sobre a proteína S de superfície do vírus SARS-CoV-2, que causa a doença COVID-19 (um coronavírus). Essa proteína "S" se liga ao seu receptor, uma transmembrana alvo, denominado como enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2) que está presente em várias células, tais como, linfócitos, células alveolares, monócitos, macrófagos e plaquetas. Dessa forma, para que ocorra a ativação da coagulação, observando que esta é realizada sob a forma de um sistema em cascata e, iniciada por hemostasia atrelada pelo fator tecidual (TF – factor tissue). Como um "machudado! tecidual que precisa ser fechado, o fator TF desempenha a ativação do sistema de coagulação durante a infecção viral. Diversas infecções virais são causadas por inúmeros fatores de coagulopatia, tais como as citocinas inflamatórias e a inativação de TLRs que são receptores teciduais que reconhecem e defendem as infecções, ou seja, não atuam sobre esses específicos vírus.

Esses fatores, conseqüentemente induzem a expressão anormal de TF e o aumento desse vírus no corpo humano. Essa importante pesquisa sobre o coronavírus que provoca esse desarranjo, como a expressão e liberação de TF em células supracitadas, podem desempenhar um papel crítico no desenvolvimento da coagulopatia. Porém, não há até o momento, estudos sobre dietas com a nattoquinase aos pacientes com COVID-19.

A nattoquinase possui uma grande importância para a Saúde Humana. É uma enzima que como já citado, produz efeitos "trombolíticos" e fibrinolíticos. Esses efeitos são extremamente importantes para amenizar e tratar diversas patologias associadas aos sistemas: cardiovascular e pulmonar, além de reduzir os efeitos graves de doenças como embolia pulmonar, trombose e até pode até realizar a regulação da pressão arterial. Ela pode prevenir trombozes profundas, aterosclerose e varizes. Pode também agir como um poderoso anticoagulante em

doenças circulatórias. Porém, é necessária uma avaliação prévia do caso do paciente para orientá-lo acerca do uso dessa enzima, pois, a superdosagem pode gerar efeitos colaterais, principalmente em hemofílicos, pois, a nattoquinase poderia pronunciar o distúrbio de coagulação associado a essa patologia.

### Conclusão

Conclui-se que notórios são os benefícios das propriedades terapêuticas medicinais da nattoquinase em seres humanos. Permite restaurar o fluxo sanguíneo de uma artéria ou veia, diminuindo os riscos de morte ou lesões incuráveis, ocasionadas por uma enfermidade do sistema circulatório, especificamente relacionadas à distúrbios de dissociação de coagulação, como a formação de trombose, acidente vascular cerebral (AVC), aterosclerose, hipertensão e embolia pulmonar e, recentemente, questiona-se sobre a ação sistêmica do vírus SARS-CoV-2, que está causando a doença COVID-19, pois há pesquisas e relatos que relacionam

que o vírus pode influenciar na formação de pequenos coágulos e trombose, evoluindo a doença em pacientes em estado grave. Dessa maneira, se faz necessária a introdução de quantidade de doses de nattoquinase na dieta, como forma de terapia medicinal em pacientes que apresentam as patologias associadas relatadas acima, além do acompanhamento por especialistas e o incentivo aos novos estudos sobre os efeitos benéficos do *B. subtilis* natto, no desenvolvimento de novos medicamentos para o COVID-19,

em outros animais, vegetais e na saúde humana e no meio ambiente. Portanto, a nattoquinase pode ser uma grande aliada como alimento preventivo e funcional produzido por uma “bactéria do bem” (o bacilo Nattô) e mantenedora de um ciclo de vida saudável.

#### Referências bibliográficas

CHANG, Y. Y.; LIU, J. S.; LAI, S. L.; WU, H. S.; LAN, M. Y. Cerebellar hemorrhage provoked by combined use of nattokinase and aspirin in a patient with cerebral microbleeds. *Internal Medicine*, 47(5), p.467-469. 2008. Disponível em: < [https://www.jstage.jst.go.jp/article/internalmedicine/47/5/47\\_5\\_467/\\_pdf/-char/en](https://www.jstage.jst.go.jp/article/internalmedicine/47/5/47_5_467/_pdf/-char/en)>  
ESLAMIFAR, Z.; BEHZADIFARD, M.; SOLEIMANI, M.; BEHZADIFARD, S. Coagulation abnormalities in SARS-CoV-2 infection: overexpression tissue factor. A review. *Thrombosis Journal* 18:38 p.1-4. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s12959-020-00250-x>>  
FAO/WHO. Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization. Human Vitamin and Mineral Requirements. In: Food and Nutrition Division.

Bangkok, Thailand. 302p. 2002. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/y2809e/y2809e.pdf>>  
FUJITA, M., HONG, K., ITO, Y., FUJII, R., KARIYA, K.; NISHIMURO, S. Efeito trombolítico da nattoquinase em um modelo de trombose induzida quimicamente em ratos. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 18 (10), p.1387-1391, 1995.  
NAP – The National Academies Press. Dietary reference intakes: the essential guide to nutrient requirements. Editors: Jennifer J. Otten, Jennifer Pitzzi Hellwig & Linda D. Meyers. p. 1344. 2006. ISBN 978-0-309-10091-5. DOI 10.17226/11537  
SILVA, M. E. C. & RODRIGUES, R.B. Bacillus subtilis uma bactéria universal para o bem da biocenose? Palestra proferida em áudio no III Encontro Nacional de Pós-Graduação em doenças Tropicais e Infecciosas. Apoio: FMUSP, UNIFESP, Fiocruz, UFG, Cevap, UFMS, UEA e FMP. 2020. Disponível em: <<https://www.youtube.com/watch?v=iP9ZIDE9fA>>  
SUMI, H.; HAMADA, H.; NAKANISHI, K.; HIRATANI, H. Enhancement of the fibrinolytic activity in plasma by oral administration of nattokinases. *Acta haematologica*, 84(3), p.139-143, 1990.  
LAMPE, B.J.; ENGLISH, J.C. Toxicological assessment of nattokinase derived from Bacillus subtilis var. natto. *Food and Chemical Toxicology*, v. 88, p. 87-99, 2016.  
WU, H.; WANG, Y.; ZHANG, Y.; XU F.; CHEN, J.; DUAN, L.; ZHANG, T.; WANG, J.; ZHANG, F. Breaking the vicious loop between inflammation, oxidative stress and coagulation, a novel anti-thrombus insight of nattokinase by inhibiting LPS-induced inflammation and oxidative stress. *Redox biology*, v.32. 2020. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7078552>>

## Complemento Normativo - Artigo 1

Referente ao artigo 1

### Disponibilizado por Analytica em parceria com Arena Técnica

A IMPORTÂNCIA DO BACILLUS SUBTILIS NATTO NA PRODUÇÃO DE UMA ENZIMA ESPECIAL COM PROPRIEDADES MEDICINAIS: A NATTOQUINASE

#### ISO 18153

**In vitro diagnostic medical devices — Measurement of quantities in biological samples — Metrological traceability of values for catalytic concentration of enzymes assigned calibrators and control materials**

**Norma publicada em:** 08/2003. / Status: Vigente.

**Classificação 1:** Sistemas de teste de diagnóstico in vitro

**Classificação 2:** Norma recomendada.

**Artigo:** A importância do Bacillus Subtilis natto na produção de uma enzima especial com propriedades medicinais: a nattoquinase.

**Entidade:** ISO.

**Pais de procedência/Região:** Suíça.

<https://www.iso.org/standard/31718.html>