

# ENZIMAS FIBRINOLÍTICAS OBTIDAS DE MICROALGAS: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

Alline Rebecca da Silveira Ferreira<sup>1\*</sup>, Yanara Alessandra Santana Moura<sup>2</sup>, Marllyn Marques da Silva<sup>3</sup>, Ana Lúcia Figueiredo Porto<sup>4</sup>, Raquel Pedrosa Bezerra<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Discente do Curso Bacharelado em Ciências Biológicas, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE);

<sup>2</sup> Discente do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (RENORBIO), Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE);

<sup>3</sup> Doutora em Biotecnologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE);

<sup>4</sup> Professora do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE);

\*alline000@hotmail.com

## RESUMO

Enzimas fibrinolíticas provenientes de fontes naturais vêm despertando o interesse de pesquisadores nos últimos anos por seu baixo custo e possibilidade de produção em larga escala. Nesse sentido, as microalgas se mostraram promissoras devido a suas inúmeras vantagens frente a outros microrganismos de interesse industrial. O propósito desta pesquisa foi verificar o estado da arte da pesquisa acerca da obtenção de agentes trombolíticos a partir de microalgas e cianobactérias, incluindo parâmetros como os solventes e tipos de extração utilizados e as atividades observadas. Os estudos publicados entre 2015 e 2022 usando os bancos de dados Google Scholar e Periódico Capes foram revisados com base nos critérios de revisão sistemática. A partir de 25 artigos obtidos na pesquisa inicial nos bancos de dados, foram incluídas 8 publicações, que estudaram os gêneros *Chlorella*, *Arthrospira*, *Tetraselmis* e *Chlorococcum*. A maioria dos estudos utilizou clorofórmio-metanol como solvente para a extração de compostos com propriedades fibrinolíticas através do método de homogeneização. Os resultados desta revisão sugerem que a biomassa de *Arthrospira* e *Chlorella*, sobretudo seus extratos orgânicos, possuem compostos bioativos potenciais para o desenvolvimento de drogas alternativas no tratamento de trombose. Contudo, até o momento, apenas estudos *in vitro* foram realizados tornando os resultados ainda incipientes. Para tornar viável o avanço desses testes para ensaios pré-clínicos, são necessários estudos adicionais que elucidem características como mecanismos de ação, princípios ativos, alvos terapêuticos e citotoxicidade.

**PALAVRAS-CHAVE:** microalga; enzima fibrinolítica; agente trombolítico; anticoagulante; agente antitrombótico

## INTRODUÇÃO

A trombose é uma doença cardiovascular caracterizada pelo surgimento de coágulos sanguíneos que causam obstrução parcial ou total dos vasos sanguíneos, em alguns casos podendo ser fatal (RASKOB *et al.*, 2014). A trombose, se não tratada corretamente, pode evoluir para algumas complicações, dentre elas estão a embolia pulmonar, a cardiopatia isquêmica e o acidente vascular cerebral, sendo essas duas últimas as principais causas de morte no mundo (Organização Mundial da Saúde, 2020).

Atualmente, o tratamento da trombose consiste na utilização de agentes trombolíticos como os anticoagulantes e antiplaquetários (KILLER *et al.*, 2010) que são medicamentos que necessitam de alta dosagem para serem eficazes, podendo causar hemorragias, reações alérgicas e recorrência de oclusão, além de possuírem alto custo de produção, curta duração de ação e alta toxicidade (MEDCALF, 2011; GARCÍA-PASTOR *et al.*, 2015; MURRAY *et al.*, 2010). Em virtude dessas limitações, surgiu o interesse por novos agentes trombolíticos, antiplaquetários e anticoagulantes mais eficazes e específicos e que possuam menos efeitos colaterais (CHAN *et al.*, 2003; ADEBOYEJE *et al.*, 2017).

Por outro lado, algumas enzimas fibrinolíticas como Streptokinase, Urokinase, Ativador do plasminogênio tecidual recombinante (rtPA), Reteplase e Tenecteplase ganharam visibilidade devido a sua especificidade e consequente diminuição de efeitos colaterais (ALTAF *et al.*, 2021). Essas enzimas fibrinolíticas são vantajosas pois atuam diretamente no trombo causando a lise da fibrina que é a principal proteína dos coágulos sanguíneos (ALTAF *et al.*, 2021), porém, mesmo que reduzidos, essas enzimas ainda apresentam efeitos colaterais, como hemorragia e reações de hipersensibilidade, desse modo, estudos adicionais acerca do desempenho desses agentes trombolíticos se fazem necessários.

As microalgas possuem inúmeras vantagens na síntese de novos compostos a nível industrial devido às suas exigências nutricionais mínimas, baixo custo, taxa de crescimento rápido, alta produtividade e resistência a condições adversas (BRASIL *et al.* 2017; JEON *et al.*, 2005). Como fonte de anticoagulantes e enzimas fibrinolíticas, esses microrganismos se mostram promissores porque além da sua alta atividade fibrinolítica, as microalgas também possuem várias outras atividades biológicas como propriedades antioxidantes, citotóxicas, antibióticas, antiangiogênicas, antitumorais, antivirais, antifúngicas e imunossupressoras (SAEED *et al.*, 2021; CHU, 2012). Diante disto, o presente estudo se faz necessário para analisar os trabalhos mais recentes sobre atividade trombolítica obtidas de microalgas quanto a novas descobertas, desempenho e efeitos colaterais. Para isso, foi escolhida a modalidade de revisão sistemática de literatura, visando expor lacunas e perspectivas dessa área de estudo.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### ESTRATÉGIA DE BUSCA

O presente estudo trata-se de uma revisão sistemática de literatura realizada através das bases de dados eletrônicas Periódicos Capes e Google Scholar. Na pesquisa feita em outubro de 2022 foram utilizados os descritores "Microalgae", "Fibrinolytic Agent", "Thrombolytic Agent", "Anticoagulant" e "Antithrombotic Agent" previamente verificados na plataforma Descritores em Ciências da Saúde (DeCS). Esses descritores foram aplicados da seguinte forma: Microalgae AND Fibrinolytic Enzyme, Microalgae AND Thrombolytic Agent, Microalgae AND Anticoagulant, Microalgae AND Antithrombotic Agent. Em ambos os bancos de dados foram aplicados os filtros artigos originais e artigos publicados nos últimos 7 anos (2015-2022).

### CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

No processo de seleção dos artigos, os critérios de inclusão estabelecidos foram: artigos originais publicados em inglês e português; publicações datadas no período de 2015 a 2022; que abordam o estudo, uso ou as propriedades trombolíticas de enzimas fibrinolíticas obtidas de microalgas. Os critérios de exclusão foram: teses, monografias, dissertações, artigos de revisão, artigos repetidos, relatórios técnicos, cartas, comentários, editoriais, capítulos de livros e artigos sem relação com o tema.

### SELEÇÃO DE ESTUDOS

No processo de busca, inicialmente, foram excluídas as duplicatas, o que permitiu a identificação de 25 artigos, em seguida, os trabalhos foram selecionados a partir da leitura e avaliação dos títulos e resumos obedecendo os critérios de inclusão e exclusão previamente citados.

### DESENVOLVIMENTO

Para essa revisão sistemática, foram selecionados 8 artigos para compor os resultados da presente pesquisa após leitura dos resumos e uma análise crítica dos trabalhos.

A Tabela 1 apresenta as principais características e apontamentos de cada artigo selecionado.

**Tabela 1.** Características dos artigos incluídos na revisão. Fonte: Dados da pesquisa.

Autor e ano	Espécie	Solvente de Extração	Tipo de extração	Atividade
WU et al. 2021	<i>Tetraselmis subcordiformis</i>	Tampão de extração (10 mM Tris pH 8.0, 0.02% NaN <sub>3</sub> , e 0.001% PMSF)	Homogeneização	Atividade fibrinolítica
SILVA et al. 2017	<i>Chlorella Vulgaris</i>	Tampão fosfato 0.1 M pH 7,0	Homogeneização	Atividade fibrinolítica
SILVA et al. 2018	<i>Chlorella Vulgaris</i>	Tampão Tris-HCl 20 mM pH 7.0	Homogeneização	Atividade fibrinolítica
KOUKOURAKI et al. 2020	<i>Arthrospira maxima</i>	Água destilada; Clorofórmio-metanol	Congelamento e descongelamento; Filtração a vácuo	Atividade plaquetária
BARROS et al. 2020	<i>Arthrospira platensis</i>	Tampão fosfato de sódio 20mM pH 7,0	Sonicação e Homogeneização	Atividade fibrinolítica
SHIELS et al. 2021	<i>Chlorococcum sp.</i>	Clorofórmio-metanol	Moagem	Atividade antiplaquetária
SHIELS et al. 2022	<i>Arthrospira subsalsa</i>	Clorofórmio-metanol	Moagem	Atividade antiplaquetária
MOUSAVIAN et al. 2022	<i>Chlorella sorokiniana</i> , <i>Chlorella sp. (L2)</i> , <i>Chlorella sp. (D1)</i> e <i>Chlorella sp. (N4)</i>	Ácido clorídrico 0,07%	Homogeneização	Atividade anticoagulante

A Tabela 1 mostra que 37,5% (n = 3) dos artigos analisados utilizaram o gênero *Chlorella* nos seus estudos, assim como o gênero *Arthrospira* (37,5%, n = 3), portanto, estes são os gêneros mais utilizados para estudos acerca da obtenção de agentes trombolíticos a partir de microrganismos fotossintetizantes. Já os gêneros *Chlorococcum* e *Tetraselmis* foram utilizados em apenas um artigo dentre os oito incluídos nesta revisão (12,5%, n = 1).

A predominância do uso do gênero *Chlorella* provavelmente está associado ao fato de que essas microalgas já possuem várias outras atividades biológicas descritas, como as antioxidantes, antitumorais, antiasmáticas, anti-inflamatórias,

antimicrobianas e antifúngicas (YUAN *et al.*, 2020; PERVEEN *et al.*, 2022). Adicionalmente, *Chlorella* sp. apresenta um teor de proteína total de 47,0±8,0% (MUYS *et al.*, 2019), que se caracteriza como um alto teor protéico se comparado ao conteúdo protéico de outros gêneros de microalgas como *Spirogyra* (6-20%), *Dunaliella* (9,7-49%), *Hormidium* (41%) e *Scenedesmus* (29-48%) (BECKER, 2013; LÓPEZ *et al.*, 2010). Além disso, esse gênero de microalgas também possui vários outros compostos bioativos como os lipídios, carboidratos, pigmentos, minerais e vitaminas que são utilizados nas indústrias de biocombustíveis, fármacos, cosméticos, alimentos e até mesmo na agricultura e aquicultura (RU *et al.*, 2020).

Da mesma forma, o gênero *Arthrospira* também possui muitas outras atividades biológicas já descritas como as antioxidantes, anti-inflamatórias, anticancerígenas, antimicrobianas, antidiabéticas, antiobesidade e antitóxicas (SHAO *et al.*, 2019), razão pela qual esse gênero é tão comumente utilizado comercialmente (MUYS *et al.*, 2019). Assim como *Chlorella* sp., *Arthrospira* sp. possui um alto teor de proteínas totais que corresponde a 55-71% (BECKER, 2007), além de apresentar biocompostos como sulfolipídios, carotenóides, ficocianobilinas e polissacarídeos atrativos para as indústrias de biocombustíveis, fármacos, cosméticos e de alimentos (LAFARGA *et al.*, 2020; DAGNINO-LEONE *et al.*, 2022; LAFARGA *et al.*, 2021).

Dentre os diferentes tipos de solventes que foram usados para a extração dos agentes trombolíticos, o solvente clorofórmio-metanol foi o mais utilizado, equivalente a 37,5% (n=3) dos trabalhos. O artigo de SHIELS (2022), utilizou dois tipos de solventes para finalidades diferentes: clorofórmio-metanol e água destilada, por isso, o resultado final, em números relativos, referente aos tipos de solventes utilizados para extração resultam em mais de 100%. Além de água destilada (12,5%, n = 1), outros solventes aquosos também foram utilizados para extração dos agentes trombolíticos, a saber: um tampão de ligação composto por tampão fosfato de sódio, NaCl e imidazol (12,5%, n = 1), tampão fosfato (12,5%, n = 1) e tampão Tris-HCl (12,5%, n=1). Por fim, o ácido clorídrico também foi utilizado em apenas um artigo (12,5%).

O uso do solvente clorofórmio-metanol em 3 trabalhos desta revisão se deve ao fato de que em todos eles foram realizadas extração de lipídios. Solventes orgânicos como clorofórmio-metanol são os mais utilizados na obtenção de lipídios, já que esses solventes têm propriedades apolares e polares, portanto, podem extrair lipídios apolares (triglicerídeos) e polares (fosfolipídios) (ROSE *et al.*, 2021). Além disso, a polaridade dos solventes orgânicos influencia a difusão de lipídios através da parede celular, aumentando assim a eficiência da extração de lipídios (SAINI *et al.*, 2021).

Quanto ao tipo de extração, a homogeneização foi a mais utilizada, correspondendo a 62,5% (n = 5), seguida da moagem com 25,0% (n = 2). Já congelamento e descongelamento, filtração a vácuo e sonicação equivalem, individualmente, a 12,5% (n = 1). Devido ao fato de que dois artigos utilizaram 2 tipos de extração diferentes em sua metodologia, o resultado total das porcentagens apresentadas será maior do que 100,0%.

A homogeneização é o método mais simples e efetivo dentre os métodos de ruptura celular mecânicos, com a capacidade de reduzir o uso de água no processo e os custos de recuperação e purificação dos produtos biossintéticos graças ao seu tempo de contato curto e do potencial de processar suspensões com concentração de peso de células secas relativamente altas (2-6% p/p) (GÜNERKEN *et al.*, 2015). Além disso, maiores rendimentos de extração de diferentes bioquímicos foram observados com a utilização deste tipo de extração (BALASUBRAMANIAN *et al.*, 2013; GONZÁLEZ-DELGADO; KAFAROV, 2012; KHOO *et al.*, 2011; WANG; WANG, 2011).

Das atividades abordadas nos trabalhos, a atividade fibrinolítica foi a mais presente, correspondendo a 50,0% (n=4) dos artigos, seguida da atividade antiplaquetária com 37,5% (n = 3) e da atividade anticoagulante, equivalente a 12,5% (n = 1) do total.

O predomínio da abordagem da atividade fibrinolítica nos estudos provavelmente está ligado ao fato de que agentes fibrinolíticos como Streptokinase, Nattokinase, Urokinase, Staphylokinase, Ativador do plasminogênio tecidual recombinante (rtPA), Reteplase e Tenecteplase são atualmente as melhores alternativas para o tratamento de doenças cardiovasculares (ALTAFF *et al.*, 2021). A principal vantagem do tratamento com enzimas fibrinolíticas em detrimento de anticoagulantes e antiplaquetários é que elas têm a capacidade de agir sobre um coágulo existente, podendo eliminar trombos com alta taxa de eficácia e não apresentam desvantagens significativas por degradar diretamente a fibrina. Além disso, enzimas fibrinolíticas ao contrário de outros agentes trombolíticos poderiam ser produzidas com alto rendimento e de maneira econômica a partir de microorganismos como as microalgas e cianobactérias (KUMAR; SABU, 2019).

## CONCLUSÕES

De modo geral, poucos estudos acerca de agentes trombolíticos obtidos de microalgas foram realizados nos últimos 8 anos. A maioria dos estudos utilizaram os gêneros *Chlorella* e *Arthrospira* como fonte de agentes trombolíticos, mas o gênero *Chlorococcum* e a espécie *Tetraselmis subcordiformis* também estão presentes nos trabalhos. O solvente de extração predominante foi o de clorofórmio-metanol que foi usado para extração de lipídios através, principalmente, do método de homogeneização. Quanto às atividades relacionadas aos agentes trombolíticos, a atividade fibrinolítica foi a mais abordada devido às diversas vantagens que possui comparado a outras terapias trombolíticas como antiplaquetários e anticoagulantes. Apesar dos dados obtidos serem promissores, a pesquisa nesse campo de estudo ainda é inicial e possui resultados inconclusivos. Para que esses estudos possam avançar para testes pré-clínicos e clínicos, são necessários estudos adicionais que avaliem possíveis mecanismos de ação e princípios ativos principalmente para os estudos que realizaram seus testes utilizando extrato bruto. Além disso, aspectos como a atividade citotóxica desses compostos também precisam ser investigados para tornar esse avanço viável e permitir a utilização de compostos bioativos oriundos de microrganismos fotossintetizantes na terapia trombolítica.

## REFERÊNCIAS

ADEBOYEJE, G.; SYLWESTRZAK, G.; BARRON, J. J.; WHITE, J.; ROSENBERG, A.; ABARCA, J.; CRAWFORD, G.; REDBERG, R. Major

Bleeding Risk During Anticoagulation with Warfarin, Dabigatran, Apixaban, or Rivaroxaban in Patients with Nonvalvular Atrial Fibrillation. **Journal of Managed Care & Specialty Pharmacy**, v. 23, n. 9, p. 968–978, 2017.

ALTAF, F.; WU, S.; KASIM, V. Role of Fibrinolytic Enzymes in Anti-Thrombosis Therapy. **Frontiers in Molecular Biosciences**, v. 8, 2021.

BALASUBRAMANIAN, S.; ALLEN, J. D.; KANITKAR, A.; BOLDOR, D. Oil extraction from *Scenedesmus obliquus* using a continuous microwave system – design, optimization, and quality characterization. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 3, p. 3396–3403, 2011.

BARROS, P. D. S.; SILVA, P. E. C.; NASCIMENTO, T. P.; COSTA, R. M. P. B.; BEZERRA, R. P.; PORTO, A. L. F. Fibrinolytic enzyme from *Arthrospira platensis* cultivated in medium culture supplemented with corn steep liquor. **International journal of biological macromolecules**, v. 164, p. 3446–3453, 2020.

BECKER, E. W. Microalgae for Human and Animal Nutrition. In: RICHMOND, A.; HU, Q. **Handbook of Microalgal Culture**, 2. ed, Wiley-Blackwell, 2013. p. 461–503.

BECKER, E. W. Micro-algae as a source of protein. **Biotechnology Advances**, v. 25, n. 2, p. 207–210, 2007.

BRASIL, B. S. A. F.; SIQUEIRA, F. G.; SALUM, T. F. C.; ZANETTE, C. M.; SPIER, M. R. Microalgae and cyanobacteria as enzyme biofactories. **Algal Research**, v. 25, p. 76–89, 2017.

CHAN, A. K.; DEVEBER, G.; MONAGLE, P.; BROOKER, L. A.; MASSICOTTE, P. M. Venous thrombosis in children. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 1, n. 7, p. 1443–1455, 2003.

CHU, W. Biotechnological applications of microalgae. **leJSME**, v. 6, p 24-37, 2012.

DAGNINO-LEONE, J.; FIGUEROA, C. P.; CASTAÑEDA, M. L.; YOULTON, A. D.; VALLEJOS-ALMIRALL, A.; AGURTO-MUÑOZ, A.; PÉREZ, J. P.; AGURTO-MUÑOZ, C. Phycobiliproteins: Structural aspects, functional characteristics, and biotechnological perspectives. **Computational and Structural Biotechnology Journal**, v. 20, p. 1506–1527, 2022.

GARCÍA-PASTOR, A.; DÍAZ-OTERO, F.; FUNES-MOLINA, C.; BENITO-CONDE, B.; GRANDES-VELASCO, S.; SOBRINO-GARCÍA, P.; VÁZQUEZ-ALÉN, P.; FERNÁNDEZ-BULLIDO, Y.; VILLANUEVA-OSORIO, J. A.; GIL-NÚÑEZ, A. Tissue plasminogen activator for acute ischemic stroke: calculation of dose based on estimated patient weight can increase the risk of cerebral bleeding. **Journal of Thrombosis and Thrombolysis**, v. 40, n. 3, p. 347–352, 2015.

GONZÁLEZ-DELGADO, A. D.; KAFAROV, V. Microalgae based biorefinery: Issues to consider. **CT&F - Ciencia, Tecnología y Futuro**, v. 4, p. 5, 2011.

GÜNERKEN, E.; D'HONDT, E.; EPPINK, M. H. M.; GARCIA-GONZALEZ, L.; ELST, K; WIJFFELS, R. H. Cell disruption for microalgae biorefineries. **Biotechnology Advances**, v. 33, n. 2, p. 243–260, 2015.

JEON, Y.; CHO, C.; YUN, Y. Measurement of microalgal photosynthetic activity depending on light intensity and quality. **Biochemical Engineering Journal**, v. 27, n. 2, p. 127–131, 2005.

KHOO, H. H.; SHARRATT, P. N.; DAS, P.; BALASUBRAMANIAN, R. K.; NARAHARISSETTI, P. K.; SHAIK, S. Life cycle energy and CO<sub>2</sub> analysis of microalgae-to-biodiesel: Preliminary results and comparisons. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 10, p. 5800–5807, 2011.

KILLER, M.; LADURNER, G.; KUNZ, A.B.; KRAUZ, J. Current endovascular treatment of acute stroke and future aspects. **Drug Discovery Today**, v. 15, n. 15-16, p. 640–647, 2010.

KOUKOURAKI, P.; TSOUPRAS, A. B.; SOTIROUDIS, G.; DEMOPOULOS, C.; SOTIROUDIS, T. G. Antithrombotic properties of *Spirulina* extracts against platelet-activating factor and thrombin. **Food bioscience**, v. 37, p. 100686, 2020.

KUMAR, S. S.; SABU, A. Fibrinolytic Enzymes for Thrombolytic Therapy. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, V. 1148, p. 345–381, 2019.

LAFARGA, T.; FERNÁNDEZ-SEVILLA, J. S.; GONZÁLEZ-LÓPEZ, C.; ACIÉN-FERNÁNDEZ, F. G. *Spirulina* for the food and functional food industries. **Food Research International**, v. 137, p. 109356, 2020.

LAFARGA, T.; SÁNCHEZ-ZURANO, A.; VILLARÓ, S.; MORILLAS-ESPAÑA, A.; ACIÉN, G. Industrial production of *spirulina* as a protein source for bioactive peptide generation. **Trends in Food Science & Technology**, v. 116, p. 176–185, 2021.

LÓPEZ, C. V. G.; GARCÍA, M. C. C.; FERNÁNDEZ, F. G. A.; BUSTOS, C. S.; CHISTI, Y.; SEVILLA, J. M. F. Protein measurements of microalgal and cyanobacterial biomass. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 19, p. 7587–7591, 2010.

MEDCALF, R. L. Plasminogen Activation-Based Thrombolysis for Ischaemic Stroke: The Diversity of Targets may Demand New Approaches. **Current Drug Targets**, v. 12, n. 12, p. 1772–1781, 2011.

MOUSAVIAN, Z.; SAFAVI, M.; AZIZMOHSENI, F.; HADIZADEH, M.; MIRDAMADI, S. Characterization, antioxidant and anticoagulant properties of exopolysaccharide from marine microalgae. **AMB Express**, v. 12, n. 1, 2022.

MURRAY, V.; NORRVING, B.; SANDERCOCK, P. A. G.; TERÉNT, A.; WARDLAW, J. M.; WESTER, P. The molecular basis of thrombolysis and its clinical application in stroke. **Journal of Internal Medicine**, vol. 267, no. 2, p. 191–208, 2010.

MUYS, M.; SUI, Y.; SCHWAIGER, B.; LESUEUR, C.; VANDENHEUVEL, D.; VERMEIR, P.; VLAEMINCK, S. E. High variability in nutritional value and safety of commercially available Chlorella and Spirulina biomass indicates the need for smart production strategies. **Bioresource Technology**, v. 275, p. 247–257, 2019.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **The top 10 causes of death**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>>. Acesso em: 3 nov. 2022.

RASKOB, G. E.; ANGCHAIKUSIRI, P.; BLANCO, A. N.; BULLER, H.; GALLUS, A.; HUNT, B. J.; HYLEK, E. M.; KAKKAR, A.; KONSTANTINIDES, S. V.; MCCUMBER, M.; OZAKI, Y.; WENDELBOE, A.; WEITZ, J. I. Thrombosis: A major contributor to global disease burden. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 34, n. 11, p. 2363–2371, 2014.

PERVEEN, K.; BUKHARI, N. A.; MASOUDI, L. M. A.; ALQAHTANI, A. N.; ALRUWAYS, M. W.; ALKHATTAF, F. S. Antifungal potential, chemical composition of Chlorella vulgaris and SEM analysis of morphological changes in Fusarium oxysporum. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 29, n. 4, p. 2501–2505, 2022.

ROSE, A.; JACZYNSKI, J.; MATAK, K. Extraction of lipids from insect powders using a one-step organic solvent extraction process. **Future Foods**, v. 4, p. 100073, 2021.

RU, I. T. K.; SUNG, Y. Y.; JUSOH, M.; WAHID, M. E. A.; NAGAPPAN, T. Chlorella vulgaris: a perspective on its potential for combining high biomass with high value bioproducts. **Applied Phycology**, v. 1, p. 1–10, 2020.

SAEED, M. U.; HUSSAIN, N.; SHAHBAZ.; HAMEED.; IQBAL, H. M. N.; BILAL, M. Bioprospecting microalgae and cyanobacteria for biopharmaceutical applications. **Journal of Basic Microbiology**, v. 62, n. 9, p. 1110–1124, 2021.

SAINI, R. K.; PRASAD P.; SHANG, X.; KEUM, Y. Advances in Lipid Extraction Methods—A Review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 24, p. 13643, 2021.

SHAO, W.; EBAID, R.; EL-SHEEKH, M.; ABOMOHRRA, A.; ELADEL, H. Pharmaceutical applications and consequent environmental impacts of Spirulina (Arthrospira): An overview. **Grasas y Aceites**, v. 70, p. 292, 2019.

SHIELS, K.; TSOUPRAS, A.; LORDAN, R.; NASOPOULOU, C.; ZABETAKIS, I.; MURRAY, P.; SAHA, S. K. Bioactive Lipids of Marine Microalga Chlorococcum sp. SABC 012504 with Anti-Inflammatory and Anti-Thrombotic Activities. **Marine Drugs**, v. 19, n. 1, p. 28, 2021.

SHIELS, K.; TSOUPRAS, A.; LORDAN, R.; ZABETAKIS, I.; MURRAY, P.; SAHA, S. K. Anti-inflammatory and antithrombotic properties of polar lipid extracts, rich in unsaturated fatty acids, from the Irish marine cyanobacterium Spirulina subsalsa. **Journal of Functional Foods**, v. 94, p. 105124, 2022.

SILVA, P. E. C.; BARROS, R. C.; ALBUQUERQUE, W. W. C.; BRANDÃO, R. M. P.; BEZERRA, R. P.; PORTO, A. L. F. In vitro thrombolytic activity of a purified fibrinolytic enzyme from Chlorella vulgaris. **Journal of chromatography B**, v. 1092, p. 524–529, 2018.

SILVA, P. E. C.; SOUZA, F. A. S. D.; BARROS, R. C.; MARQUES, D. A. V.; PORTO, A. L. F.; BEZERRA, R. P. Enhanced production of fibrinolytic protease from microalgae Chlorella vulgaris using glycerol and corn steep liquor as nutrient. **Annals of Microbiology and Research**, v. 1, n. 1, 2017.

WANG, G.; WANG, T. Characterization of Lipid Components in Two Microalgae for Biofuel Application. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 89, n. 1, p. 135–143, 2011.

WU, C.; ZHENG, C.; WANG J.; JIANG, P. Recombinant Expression of Thrombolytic Agent Reteplase in Marine Microalga Tetraselmis subcordiformis (Chlorodendroales, Chlorophyta). **Marine Drugs**, v. 19, n. 6, p. 315, 2021.

YUAN, Q.; LI, H.; WEI, Z.; LV, K.; GAO, C.; LIU, Y.; ZHAO, L. Isolation, structures and biological activities of polysaccharides from Chlorella: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 163, p. 2199–2209, 2020.