

**UNIVERSIDADE DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
CURSO DE BIOMEDICINA**

MIRELLA CUNHA LIRA

**RESÍDUOS DA CARCINICULTURA COMO FONTE DE GLICOSAMINOGLICANOS
COM POTENCIAL TERAPÊUTICO**

**NATAL, RN
Novembro,2018**

MIRELLA CUNHA LIRA

**RESÍDUOS DA CARCINICULTURA COMO FONTE DE GLICOSAMINOGLICANOS
COM POTENCIAL TERAPÊUTICO**

Trabalho apresentado à Coordenação do Curso de Biomedicina da Universidade Federal do Rio Grande do Norte como Requisito Parcial à Obtenção do Título de Bacharel em Biomedicina

Orientador: Suely Ferreira Chavante

Coorientador: Adriana da Silva Brito

NATAL, RN

2018

Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN

Sistema de Bibliotecas - SISBI

Catálogo de Publicação na Fonte. UFRN - Biblioteca Setorial Prof. Leopoldo Nelson - -Centro de Biociências - CB

Lira, Mirella Cunha.

Resíduos da carcinicultura como fonte de glicosaminoglicanos com potencial terapêutico / Mirella Cunha Lira. - Natal, 2018. 32 f.: il.

Monografia (Graduação) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Biociências. Curso de Biomedicina.

Orientadora: Profa. Dra. Suely Ferreira Chavante.

Coorientadora: Profa. Dra. Adriana da Silva Brito.

1. Glicosaminoglicanos - Monografia. 2. Reaproveitamento - Monografia. 3. *Litopenaeus vannamei* - Monografia. 4. Modelos Terapêuticos - Monografia. I. Chavante, Suely Ferreira. II. Brito, Adriana da Silva. III. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. IV. Título.

RN/UF/BSE-CB

CDU 547.458

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
CURSO DE BIOMEDICINA

A monografia **Resíduos da carcinocultura como fonte de glicosaminoglicanos com potencial terapêutico**

Elaborada por Mirella Cunha Lira

E aprovada por todos os membros da Banca examinadora foi aceita pelo Curso de Biomedicina, e homologada pelos membros da banca, como requisito parcial à obtenção do título de

BACHAREL EM BIOMEDICINA

Natal, 29 de novembro de 2018

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr^a. Suely Ferreira Chavante
Departamento de Bioquímica – CB/UFRN
(Orientadora)

Me. Dayse Santos Arimatéia
Departamento Microbiologia e Parasitologia
– CB/UFRN
(1^o examinador)

Me. Rômulo dos Santos Cavalcante
Departamento de Morfologia – CB/UFRN
(2^o examinador)

AGRADECIMENTOS

Em breves palavras, registro nesse trabalho um forte sentimento aos que se fizeram presentes nos mínimos detalhes, Primeramente a Deus, que me segurou nos momentos de mais angústia e desmotivação e, indiretamente também a Ele, por colocar pessoas incríveis que me apoiaram tanto academicamente quanto emocionalmente. Aos meus pais por priorizarem meus estudos me permitindo cumprir mais uma etapa assim como irmãos e demais familiares. A minha incrível equipe de laboratório(atual e passada) pelos ensinamentos e acalentos: Suely, Adriana, Laís, Bárbara, Isabela, Rômulo, Jefferson, Matheus, Arlen e vários outros. Aos mestres da Biomedicina de uma forma geral, uma vez que me acrescentaram conhecimentos diversos me permitindo crescer academicamente e profissionalmente. E, não posso deixar de mencionar minhas grandes amigas: Carla, Maria Heloísa, Marília Yema, Thaís e Rayane, obrigada por me sustentarem quando faltaram as forças. Ademais, registro minha gratidão aos membros do Departamento de Bioquímica como um todo por sempre trabalhar em conjunto cedendo espaços, equipamentos e conhecimentos por diversas vezes. E ainda, por todos que foram de grande direta ou indireta nesse trabalho que eu porventura não tenha mencionado. Meu muito obrigado a todos, vocês tornaram tudo possível.

LISTA DE ABREVIações

AH	Ácido hialurônico
CS	Condroitim sulfato
DS	Dermatam sulfato
F-IIa	Fator II-a/trombina
GAG	Glicosaminoglicano
Gal	Galactosamina
GalNAc	N-acetil galactosamina
Glc	Glicosamina
GlcA	Ácido glicurônico
IdoA	Ácido idurônico
H	Heparina
HS	Heparam sulfato
PG	Proteoglicano
RMN	Ressonância magnética nuclear
sH/HS	Híbrido de heparina e heparam sulfato do camarão
TP	Tempo de protrombina
TTPa	Tempo de tromboplastina parcial ativada

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Ilustração da atividade moduladora dos proteoglicanos.....	13
Figura 2. Ilustração das unidades dissacarídicas dos glicosaminoglicanos.....	15
Figura 3. Esquema de interdependência entre eventos fisiopatológicos modulados pela atividade do fator IIa.....	17
Figura 4. Esquema de interdependência entre eventos fisiopatológicos modulados pela atividade do fator IIa.....	20

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. GAGs obtidos do cefalotórax do <i>L. vannamei</i>	18
--	----

RESUMO

Uma importante classe de polissacarídeos sulfatados, os glicosaminoglicanos (GAGs), possuem papel de destaque enquanto biomoléculas sinalizadoras. Complexas composições e arranjos estruturais conferem a esses GAGs ampla capacidade de interagir com componentes biológicos e, assim, modular importantes eventos como hemostasia e resposta imunológica. Devido a extensa variabilidade não apenas estrutural, mas também funcional desses compostos, apesar dos muitos estudos realizados há, ainda, muito que se explorar e elucidar de sua síntese, estrutura e bioatividade. Dentre os GAGs, o mais estudado, logo, mais representativo é a heparina. Inicialmente utilizada como anticoagulante ela apresentou, posteriormente, outros interessantes e expressivos potenciais terapêuticos, por exemplo, antitumoral e anti-inflamatório. Em contrapartida à sua extraordinária eficácia terapêutica, contaminação de lote e efeitos adversos como trombocitopenia e complicações hemorrágicas tendo em vista o monitoramento inadequado, restringem sua administração. Sob tal perspectiva, foi impulsionada a busca por moléculas análogas à heparina, que mimetizem suas propriedades farmacológicas, porém apresentem reduzidos efeitos adversos. Dentre as fontes alternativas estudadas, constatou-se a ocorrência de GAGs no cefalotórax do camarão *Litopenaeus vannamei*, um resíduo industrial. Dessa forma, interessantes modelos para o desenvolvimento sustentável de novas abordagens terapêuticas a partir do reaproveitamento de toneladas de resíduos gerados pela carcinicultura. Os compostos obtidos do camarão incluem: tipo heparina, dois tipos de condroitim e um híbrido de heparina e heparam sulfato. O estudo de suas características estruturais e bioatividades demonstram potenciais terapêuticos já descritos e sugerem outros ainda a investigar.

Palavras-chave: Glicosaminoglicanos; Reaproveitamento; *Litopenaeus vannamei*; modelos terapêuticos

ABSTRACT

An important class of sulfated polysaccharides, the glycosaminoglycans (GAGs), possesses a remarkable role as signalling biomolecules. Complex compositions and structural arrangements grant them a wide capacity of interacting with biological components and, then, modulate important events such as haemostasis and immunological response. Its adaptive relevance is so evident that reflects on the maintenance of molecules of this nature in the Animal Kingdom through evolution. Because of the extensive variability not only structural but also functional of these compounds, despite all the studies realized there's, yet, so much to explore and elucidate of its synthesis, structure and bioactivity. Among GAGs, the most studied, though, most representative is heparin. Initially used as anticoagulant/antithrombotic, it presented, later, other interesting and expressive therapeutic potentials, for example, antitumoral and anti-inflammatory. On the other hand of its extraordinary therapeutic efficacy, cotaminated lots and inconvenient haemorrhagic complications, limit its administration. Under such perspective, the search for molecules capable of mimetize its pharmacological properties, but present reduced adverse effects grown up. In this context, it was noticed the occurrence of GAGs in the cephalothorax of the shrimp *L. vannamei*, an industrial subproduct. This way, interesting models for a sustainability way for developing new therapeutic approaches. From this shrimp, is possible to isolate compounds heparin-like, two different types of chondroitin-like such as a hybrid of heparin/heparan sulfate. The study of its structural features and bioactivities consolidate therapeutic potentials already described in literature and suggest others still to explore. This study aims to discuss the structural features and therapeutic potentials of shrimp compounds.

Key-words: Glycosaminoglycans; Reutilization; *Litopenaeus vannamei*; Therapeutic models.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	GLICOSAMINOGLICANOS(GAGS).....	12
2.1	HEPARINA(H) E HEPARAM SULFATO(HS).....	13
2.2	DERMATAM SULFATO(DS) E CONDROITIM SULFATO(CS).....	14
2.3	ÁCIDO HIALURÔNICO(AH).....	14
2.4	QUERATAM SULFATO(KS).....	14
2.5	APLICABILIDADE TERAPÊUTICA DOS GAGS	16
2.5.1	UTILIZAÇÃO CLÍNICA DA HEPARINA.....	16
2.6	INVERTEBRADOS MARINHOS	17
2.6.1	<i>Litopenaeus vannamei</i>	18
2.6.1.1	GAGs do <i>L. vannamei</i>	21
2.6.1.2	COMPOSTO TIPO CONDROITIM	21
2.6.1.3	COMPOSTO HÍBRIDO DE HEPARINA E HEPARAM SULFATO	21
2.6.1.4	COMPOSTO TIPO HEPARINA.....	22
3	OBJETIVOS	23
3.1	OBJETIVOS GERAIS.....	23
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
4	METODOLOGIA.....	24
5	DISCUSSÃO	25
6	CONCLUSÃO.....	27
	REFERÊNCIAS.....	28

1 INTRODUÇÃO

A complexa dinâmica fisiológica dos organismos, como hoje se apresentam, é resultado de milhares de anos de ação de um rigoroso processo evolutivo, o qual garante a manutenção dos traços que conferem vantagem adaptativa em detrimento dos que se apresentam como vulnerabilidades. Partindo do pressuposto que as características dos organismos vigentes foram finamente selecionadas, fica evidente a relevância dos estudos que investiguem as suas biomoléculas constituintes (proteínas, polissacarídeos, ácidos nucleicos, entre outras) não apenas de forma individual, mas principalmente, estabelecendo inter-relações entre elas próprias assim como entre elas e fatores exógenos. Tal compreensão ultrapassa a descrição dos mecanismos responsáveis por manter o equilíbrio fisiológico, permitindo reconhecer variadas alterações que culminam em patologias além de identificar potenciais alvos terapêuticos para tratá-las. Nesse contexto, uma classe de polissacarídeos sulfatados em particular, os glicosaminoglicanos (GAGs), demonstra possuir expressivo significado adaptativo. Sua ampla distribuição filogenética, entre invertebrados mas também entre vertebrados, sugere uma função conservada no reino animal [19,37]. Por isso, o papel dos GAGs tem sido muito explorado e, com sucesso, uma vez que os resultados obtidos apontam imensa heterogeneidade estrutural bem como funcional. Possuem ampla capacidade de interagir com sistemas biológicos mostrando-se efetivos na modulação de eventos dentre os quais: coagulação, inflamação, carcinogênese, progressão tumoral, geração de radicais livres, entre outros [2-5; 7-10]. Nesse grupo, sendo a representante mais significativa, encontra-se a heparina, inicialmente utilizada como anticoagulante na clínica, porém com o passar dos anos, mostrou-se um potente antitrombótico e antitumoral. Em contrapartida, sua administração torna-se restrita, principalmente, em virtude das complicações hemorrágicas que a acompanham e uma contaminação de lote culminando em sérias implicações [21-25]. Por isso a busca por GAGs que, como a heparina, possuam tais propriedades terapêuticas, mas que sejam isentos dos inconvenientes efeitos adversos. Diante dessa problemática, nesse trabalho de revisão será discutida a presença de GAGs de valor terapêutico no cefalotórax do camarão *L. vannamei*, um subproduto da carcinicultura, como promissores modelos farmacológicos.

2. GLICOSAMINOGLICANOS

Os glicosaminoglicanos são uma classe de polissacarídeos complexos lineares, formados por unidades dissacarídicas básicas que se repete as quais consistem na ligação glicosídica entre uma hexosamina: galactosamina (Gal) ou glicosamina (Glc) e um ácido urônico: ácido idurônico(IdoA) ou glicurônico (GlcA) e, ainda, podendo ser entre uma hexosamina e galactosamina. Encontrados principalmente na matriz extracelular(MEC) e superfície celular, possuem expressivo significado adaptativo no que diz respeito aos processos sinalizatórios a partir da modulação de atividades proteicas diversas sendo, portanto, importantes moduladores de eventos biológicos como hemostasia, inflamação, resposta imune, crescimento celular e outros[1-13; 15-16; 18-37] .

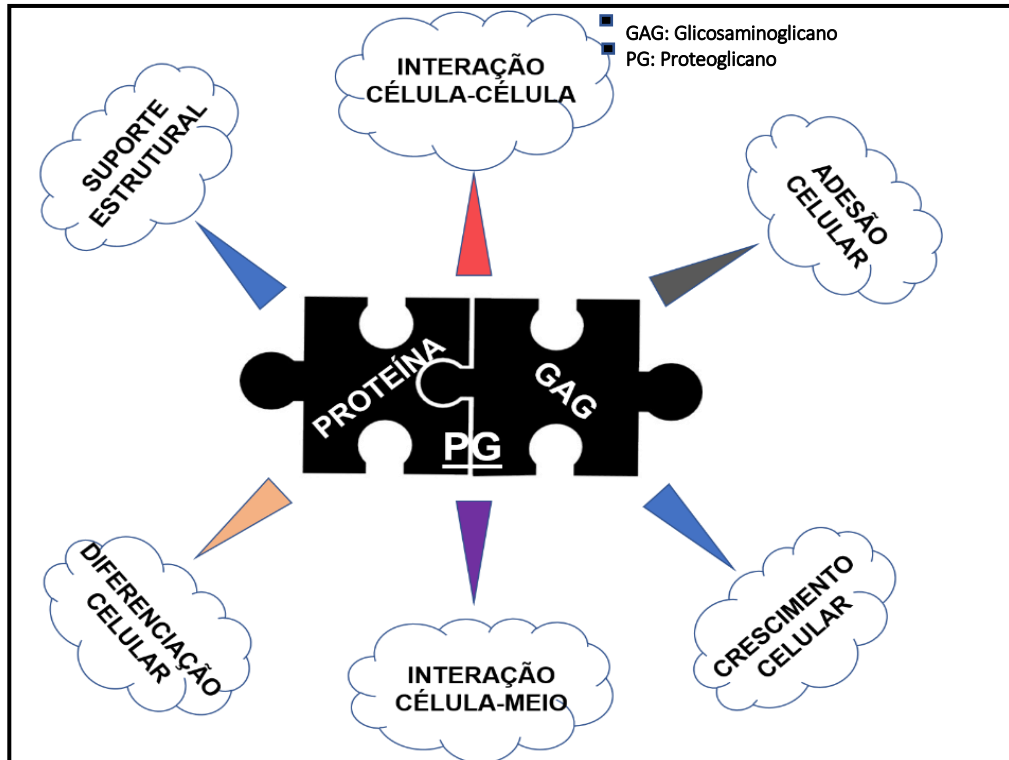
A importância de moléculas dessa natureza se evidencia à luz da Evolução; sua ampla distribuição filogenética , ocorrendo desde organismos primitivos aos de hoje e em diferentes classes de vertebrados e invertebrados, sugere uma função conservada ao longo do processo de Seleção Natural. Considerando o nobre papel fisiológico desempenhado pelos GAGs, é natural que os mecanismos biossintéticos assim como a heterogeneidade estrutural sejam de alta complexidade e variabilidade.

À exceção do ácido hialurônico(AH), os GAGs são majoritariamente encontrados sob a forma de proteoglicanos (PGs), ou seja, covalentemente ligados a um core proteico específico por glicosilação(Figura1). Embora a biossíntese de PGs não seja integralmente compreendida, é unânime afirmar que é finamente regulada e diferencial quanto a bioatividade correspondente. Por isso a importância de se estudar as características estruturais dessas moléculas, as modificações a que são submetidas e, por fim, de que forma determinam a capacidade de interagir com diferentes sistemas biológicos.

Apesar da existência de um "esqueleto glicosídico básico" para os GAGs, a variabilidade estrutural destes, logo, também funcional, vai além das diferentes combinações dissacarídicas e monossacarídicas possíveis. Parâmetros como o tipo de hexosamina, tipo de ácido urônico, ligação glicosídica(α ou β), posição da ligação(1 \rightarrow 3 ou 1 \rightarrow 4) e eventual presença e posição de grupos sulfato são considerados para distingui-los[8]. De acordo com as respectivas particularidades estruturais, eles podem ser classificados em diferentes tipos, sendo os principais:

heparina, heparam sulfato, condroitim sulfato, dermatam sulfato, queratan sulfato e ácido hialurônico(Figuras2, 3 4 e 5)

Figura 1 – Ilustração da atividade moduladora dos proteoglicanos



Compilação do autor

2.1 HEPARINA(H) E HEPARAM SULFATO(HS)

Heparina e heparam sulfato são poliânions estruturalmente relacionados. Embora compartilhem a mesma via biossintética e, assim, possuam similaridades estruturais diversas, diferem em modificações estruturais enzimaticamente guiadas. O esqueleto base de ambos, heparosam $[\rightarrow 4)\text{-}\beta\text{-D-GlcA-(1}\rightarrow 4)\text{-}\alpha\text{-D-GlcNAc-(1}\rightarrow]$ é, então, submetido a modificações como N-desacetilação, N-sulfatação, epimerização e O-sulfatação por ação enzimática. Tais modificações, os padrões de substituição, definem a natureza tipo heparina ou heparam sulfato(Figura2) e, para um mesmo tipo molecular conferem extensa variabilidade de cadeias e, até mesmo, em uma mesma cadeia, certo grau de diversidade dissacarídica. Comparativamente, diferem quanto a distribuição tecidual, composição dissacarídica predominante, sequência dissacarídica (sequência em que se organizam), domínios, variação estereoquímica entre monossacarídeos, grau de sulfatação e conformação estrutural. A distinção

estrutural, ainda eu relativamente sutil, reflete na distribuição dessas moléculas no organismo assim como os papéis desempenhados. A heparina, marjoritariamente encontrada em grânulos de mastócitos, primariamente classificada como importante mediadora de eventos inflamatórios e anticoagulante, após mais de cem anos de estudos, permanece demonstrando modular outros eventos fisiológicos diversos. Em conformidade, o heparam sulfato, encontrado principalmente distribuído pela matriz extracelular, funcionalmente, semelhante a heparina, modula eventos diversos dentre eles: crescimento e diferenciação celular, respostas imunológicas, entre outros.

2.2 DERMATAM SULFATO(DS) E CONDROITIM SULFATO(CS)

Assim, como ocorre com heparina e heparam sulfato, condroitim e dermatam sulfato compartilham entre si etapas biossintéticas. Isso porque são epímeros de ácido urônico, ou seja, pela ação de uma epimerase(Figura3), sua principal diferença é a conformação do ácido urônico, definindo se trata-se de um condroitim ou dermatam sulfato.

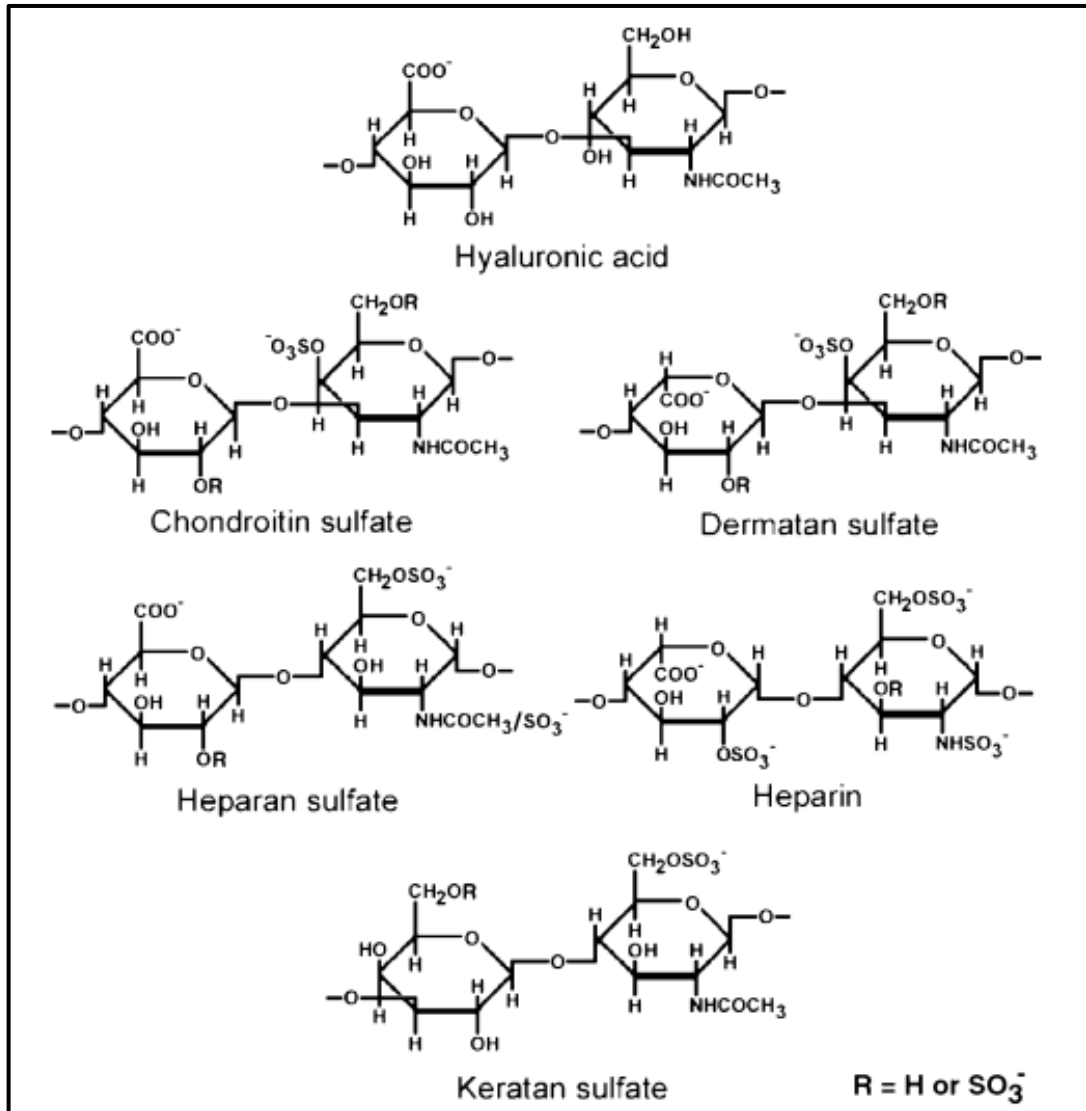
2.3 ÁCIDO HIALURÔNICO(AH)

O ácido hialurônico, único GAG não encontrado sobre a forma de proteoglicano, é encontrado em abundância na matriz extracelular desempenhando importantes funções no que diz respeito, por exemplo, a redução de impactos em tecidos conectivos. Levando em conta seu caráter de suporte mecânico tecidual, ele tem sido empregado massivamente em tratamentos estéticos, devido ao potencial de reparação e proteção tecidual assim como na engenharia de tecidos para o desenvolvimento de biomateriais.

2.4 QUERATAM SULFATO

O queratam sulfato, encontrado primordialmente na córnea mas também em outros tecidos conectivos, desempenha uma importante função na hidratação dos tecidos e atenuação de impactis mecânicos sendo atribuído a ele, por exemplo, a transparência e proteção da córnea.

Figura 2. Ilustração das unidades dissacarídicas dos glicosaminoglicanos



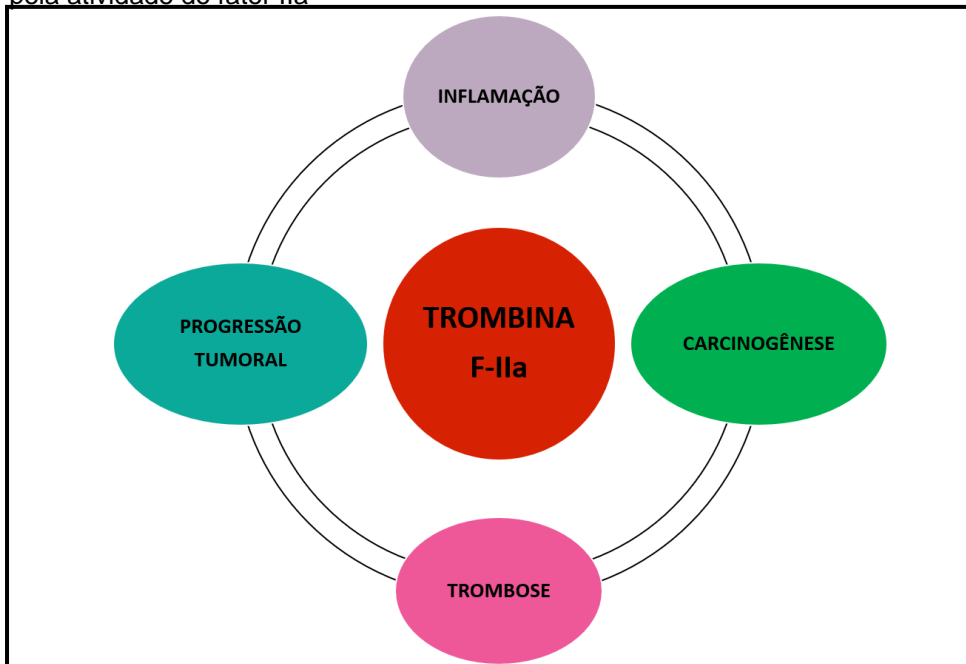
2.5 APLICABILIDADE TERAPÊUTICA DOS GAGs

Em virtude da elevada heterogeneidade estrutural e vasta capacidade de se ligar a proteínas, modulando suas respectivas funções, os GAGs compõem interessantes modelos para desenvolvimento de abordagens terapêuticas diversas. Nesse quesito, o pioneiro foi a heparina. Com mais de 100 anos de estudo, seu emprego clínico iniciou como anticoagulante. Porém, com o passar dos anos e advento de novos estudos, ela demonstrou atuar, também, como anti-inflamatória, antitumoral, antioxidante e outros. Com a ampliação de estudos na área de glicobiologia e, mais pontualmente, acerca de glicosaminoglicanos, *crossroads* biológicos diversos foram descritos, ou seja, pontos de intersecção entre diferentes aspectos fisiopatológicos. Um exemplo está na relação de interdependência observada entre processos de coagulação, inflamatórios e tumorais mediada por, entre outras moléculas, a trombina(figura6), tradicionalmente envolvida na formação do coágulo de fribina. Embora a heparina tenha impulsionado o interesse clínico nos GAGs, compostos como ácido hialurônico, aliado clínico em procedimentos estéticos e reparos de lesões osteoarticulares, assim como condroitim, efetivo em terapias osteoarticulares e quadros inflamatórios, demonstram a versatilidade dessa classe de moléculas e potencial biotecnológico atrelado.

2.5.1 UTILIZAÇÃO CLÍNICA DA HEPARINA

Mesmo com o inconveniente potencial hemorrágico, requerindo um monitoramento constante da função de coagulação do paciente e frente a pontual contaminação do lote em 2008, levando a centenas de óbitos nos Estados Unidos, a heparina ainda é utilizada em larga escala na clínica médica, devido à sua eficácia. Sua estrutura favorece a interação com variados componentes biológicos como quimiocinas, moléculas de adesão, fatores de crescimento, plaquetas e outros. Assim, ela exibe potenciais anticoagulantes, anti-inflamatórios e antitumorais/antiangiogênicos já reconhecidos[4; 8; 9; 11; 30] , justificando a razão risco e benefício. Tendo em vista este panorama, emerge a necessidade de estudos que revelem alternativas a heparina tão eficazes quanto, mas apresentando reduzidos efeitos secundários. Nesse contexto, dentre as fontes alternativas estudadas, os invertebrados marinhos demonstraram possuir uma ampla diversidade estrutural e funcional de GAGs com potencial terapêutico.

Figura 3 - Esquema de interdependência entre eventos fisiopatológicos modulados pela atividade do fator IIa



Compilação do autor

2.6 INVERTEBRADOS MARINHOS

É provável que a elevada pressão seletiva exercida pelo ambiente marinho seja a responsável por promover a ocorrência da ampla variabilidade de moléculas protetoras e reparativas observada em invertebrados marinhos, dentre as quais diferentes tipos de polissacarídeos sulfatados (PSs) [2-5; 7-12; 16; 20; 21]. Sob essa perspectiva, os invertebrados marinhos ganharam enfoque enquanto fonte promissora de biomoléculas dotadas de atividades biológicas de interesse clínico como diferentes tipos de GAGs.

Embora a iniciativa de explorar a diversidade estrutural e funcional de compostos tipo GAG tenha sido encabeçada pela busca por moléculas alternativas à heparina, que preservem suas propriedades farmacológicas mas possuam negligentes efeitos adversos, os resultados obtidos foram tão satisfatórios que compostos dessa natureza deixaram de ser abordados meramente como potenciais substitutos da heparina para serem encarados como competentes modelos para as mais diversas abordagens terapêuticas.

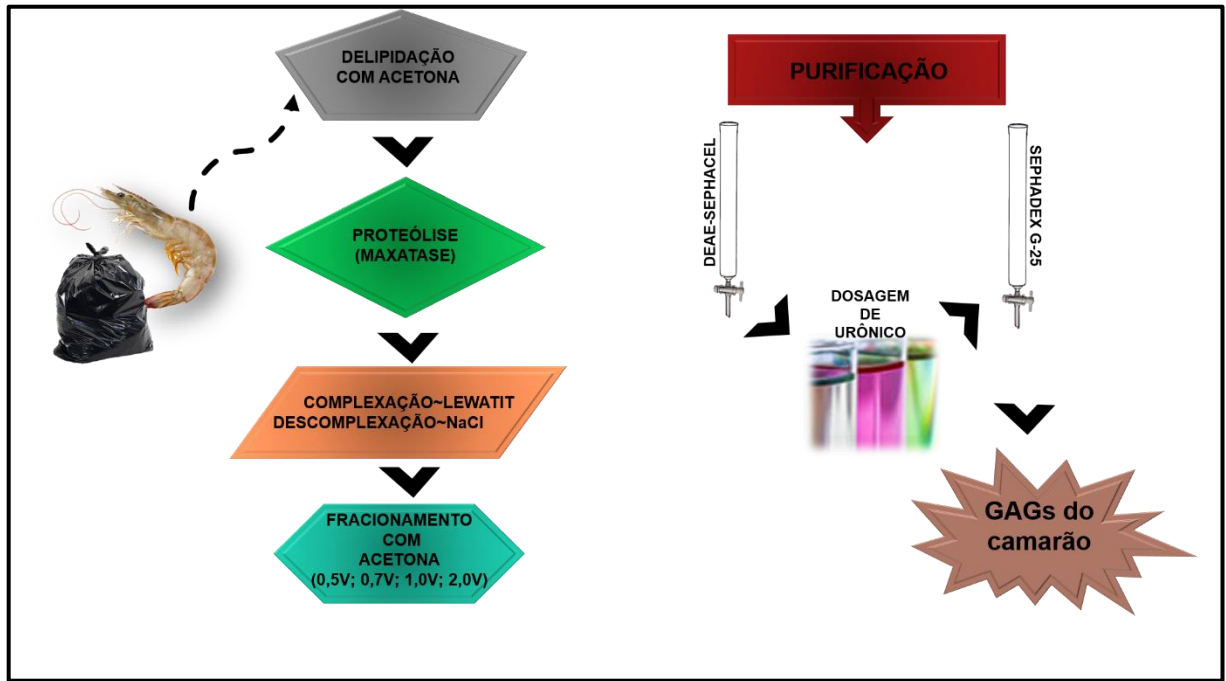
Assim, GAGs dos invertebrados marinhos em particular, demonstram curiosas peculiaridades estruturais comparados aos de mamíferos. Uma vez sendo os GAGs importantes moduladores de atividades proteicas, e sabendo da elevada especificidade requerida para a formação de PGs, o advento de novos aspectos estruturais levanta a possibilidade, também, de atividades biológicas ainda inexploradas. Uma das espécies de camarão estudadas, a do *Litopenaeus vannamei*, chamou atenção uma vez que os GAGs podem ser obtidos a partir do seu cefalotórax, o qual compõe toneladas de resíduo industrial proveniente da carcinicultura, importante atividade econômica em escala mundial, assim como no Brasil que é um grande exportador de camarão.

2.6.1 *Litopenaeus vannamei*

O camarão *L. vannamei*, originário do Pacífico oriental, é a espécie mais cultivada para fins comerciais no Brasil e uma das três mais cultivadas no mundo. Assim, com o crescimento da carcinicultura e, em decorrência, dos resíduos industriais associados, inevitavelmente danos ambientais por descarte inadequado são uma realidade. Nesse contexto, à semelhança de outros invertebrados marinhos, o *L. vannamei* possui GAGs bioativos de interesse biotecnológico[7].

Os compostos isolados do cefalotórax do camarão trazem a perspectiva do desenvolvimento sustentável de novos fármacos reaproveitando um resíduo proveniente da carcinicultura; dessa forma, reduzindo impactos ambientais gerados por eventuais descartes inadequados[7]. Os compostos são obtidos mediante processo de extração[4] em que os cefalotórax são triturados e seguem para as etapas de delipidação, proteólise, complexação, descomplexação, fracionamento e, por fim, purificação com resinas DEAE-SEPHACEL (troca iônica) e SEPHADEX (gel filtração) (Figura 1). Dessa extração resultam dois tipos de condroitim sulfato (CSs e um atípico) um tipo de heparina (HL) e um híbrido de H e HS (sH/HS) com suas respectivas estruturas e atividades biológicas, além de outros ainda não estudados.[3-5;8-10] (Quadro 1).

Figura 4. Esquema de interdependência entre eventos fisiopatológicos modulados pela atividade do fator IIa



Compilação do autor

Quadro 1. GAGs obtidos do cefalotórax do *L. vannamei*

Composto do <i>L. vannamei</i>	Estrutura	Bioatividade	Referência
Heparin-like(HL)	Glc-O-sulfatada, alto conteúdo de Glc NS e 6-O-sulfatada e baixo conteúdo de GlcNAc com presença de alto conteúdo de GlcA e pouco conteúdo de IdoA 2-O-sulfatado	<ul style="list-style-type: none"> - Anticoagulante(TTPa e anti-IIa); -Anti-inflamatória(inibe recrutamento leucocitário, <i>in vivo</i>, MMP-2 e 9 e redução de níveis de IL-1β, TNF- α e ON <i>in vitro</i>) -Antioxidante(sequestro do radical DPPH) 	BRITO et al., 2008 BRITO, 2016 CAHÚ et al., 2012 CHAVANTE et al., 2014 DREYFUSS et al., 2010 LIMA et al., 2013
Híbrido (sH/HS)	Alto conteúdo de GlcNS e 6-O-sulfatada e baixo conteúdo de GlcNAc com presença de alto conteúdo de GlcA e pouco conteúdo de Ido-A- 2-O-sulfatado	<ul style="list-style-type: none"> - Anticoagulante(TTPa, anti-IIa e termoestabilização da AT) - Antitrombótica(síntese de HS em células endoteliais) - Antitumoral(inibição da proliferação e migração <i>in vitro</i> e proliferação <i>in vivo</i>) - Antiangiogênica(inibição da formação de capilar <i>in vitro</i>) 	BRITO et al., 2014 BRITO et al., 2018 CAHÚ et al., 2012 LIMA et al., 2013 MENEQUETTI et al., 2017
Condroitim super sulfatado(sCS)	GlcA 2-O-sulfatado, 3-O sulfatado, 2,3-O-dissulfatado e não sulfatado ligados a resíduos de GalNAc 4-O-sulfato e/ou 6-O-sulfato	<ul style="list-style-type: none"> - Anticoagullante(TTPa e anti-IIa) - Antitrombótica(síntese de HS endotelial e indução de trombose por estase sanguínea <i>in vivo</i>) 	CAVALCANTE et al., 2017
Condroitim atípico	GlcA 2-O-sulfatado, 3-O-sulfatado e não sulfatado ligados a resíduos de GalNAc 4-O-sulfato e 4,6-O- dissulfato	<ul style="list-style-type: none"> - Anticoagulante(TTPa e anti-IIa) - Antitrombótica(indução de trombose por estase sanguínea <i>in vivo</i>) -Antitumoral(inibição da migração e proliferação <i>in vitro</i>) - Antiangiogênica(inibição da formação capilar <i>in vitro</i>). 	PALHARES, 2016

2.6.1.1 GAGs do *L. vannamei*

Através do protocolo de extração mencionado, é possível isolar diferentes frações de acordo com o volume de acetona utilizado no fracionamento e com a molaridade em que foi eluída na cromatografia de troca iônica(DEAE-SEPHACEL). O grupo de pesquisa Glicoconjugados Bioativos I tem se dedicado a isolar, caracterizar e investigar as atividades biológicas atreladas aos compostos obtidos do camarão. Até o presente momento, as estruturas de três dos compostos já foram descritas: um tipo heparina, um tipo condroitim e um híbrido de H e HS. Além desses, um se encontra em andamento; até então, o perfil eletrofóretico e produtos da despolimerização enzimática levavam a crer que se tratava de um composto tipo dermatam sulfato porém, recentes achados de ressonância magnética nuclear(RMN)(dados ainda não registrados), contradizem essa hipótese inicial e a redirecionam para um tipo peculiar de condroitim sulfato ainda a ser elucidado.[3-5; 7-11; 20-23].

2.6.1.2 COMPOSTOS TIPO CONDROITIM(sCS)

São, ainda, obtidos dois tipos de condroitim do cefalotórax do camarão. Um, até então descrito como sendo dermatam, porém, uma recente análise em ressonância eletromagnética, mostrou tratar-se de um condroitim atípico ainda a se elucidar(dados não disponíveis). Este, formado por GlcA 2-O-sulfatado, 3-O-sulfatado ou não sulfatado ligados a resíduos de GalNAc 4-O-sulfato ou 4,6,O-dissulfato, possui atividade anticoagulante demonstrada pelo ensaio de TTPa, logo, inibe a via intrínseca da coagulação, assim como pelo ensaio cromogênico, sendo capaz de inibir a atividade do F-IIa. Condizendo com seu perfil anticoagulante, o condroitim atípico foi capaz, *in vivo*, de apresentar atividade antitrombótica em modelo de indução de trombose por estase sanguínea. E, sabendo da estreita relação entre distúrbio hemostático e progressão tumoral, possivelmente esteja relacionada às propriedades antitumorais/antiangiogênicas inibindo, *in vitro*, a migração e proliferação celular, assim como a formação de capilares em matrigel.

Um outro condroitim, recentemente reconhecido como tal devido aos sinais obtidos por RMN(dados não mostrados), demonstrando tratar de dissacarídeos formados por GlcA 2-O sulfatado ou 3-O sulfatado ou não sulfatado ligado a resíduos de GalNAc 4-O sulfato ou 4,6-O dissulfato. Embora anteriormente, em virtude do perfil de migração eletroforética e produtos de despolimerização enzimática, tenha sido considerado, de forma equívoca, um dermatam sulfato, muito de suas atividades biológicas foi esclarecido. Trata-se de um condroitim atípico, dotado de potenciais anticoagulante(inibindo a via intrínseca da coagulação e o F-IIa), antitrombótico, avaliado em modelo de indução de trombose por estase sanguínea e antitumoral e antiangiogênico avaliado em experimentos *in vitro*. (artigo em construção, PALHARES)

2.6.1.3 COMPOSTO HÍBRIDO DE HEPARINA E HEPARAM SULFATO

A ocorrência de um composto híbrido de heparina e heparam sulfato, de peso molecular 16kDa[5], foi verificada e, além de sua natureza híbrida descrita, demonstrou interessantes biopotenciais[3; 5]. Seu perfil eletroforético revela um padrão de corrida semelhante ao heparam sulfato e à banda de migração rápida da heparina; somando a esse aspectos, semelhanças estruturais também foram apontadas no conteúdo proveniente da despolimerização enzimática, majoritariamente dissacarídeos dissulfatados (Δ U-ANS,6S/ Δ U,2S-ANS); dessa forma, embora produtos semelhantes ao da heparina sejam observados, as proporções diferem. Enquanto o híbrido apresenta maior proporção de dissacarídeos dissulfatados, a heparina apresenta de trissulfatados[5]. Os sinais obtidos por RMN, demonstram semelhança aos obtidos com heparina porcina, diferindo apenas por não apresentar sinais de ácido urônico não sulfatado[5]. Sua atividade anticoagulante, pela inibição da via extrínseca da coagulação e da serino protease trombina além da capacidade de termoestabilizar a antitrombina [19], evidenciam o potencial biotecnológico desta molecular, cujo potencial antitumoral e antiangiogênico(possivelmente via inibição da trombina) foi posteriormente descrito[3]. Assim, aliado ao negligente efeito residual hemorrágico apresentado, o híbrido se constitui como mais um composto do camarão promissor ao desenvolvimento sustentável de novas terapias anticoagulantes e relacionadas.

2.6.1.4 COMPOSTO TIPO HEPARINA

É, ainda, isolado um composto tipo heparina com propriedades anticoagulantes e anti-inflamatórias[4]. Sua composição, descrita através do método de despolimerização enzimática, consiste, majoritariamente em dissacarídeos dissulfatados de glicosamina N-sulfatada ou O-sulfatada ligada ao ácido urônico(GlcA ou IdoA 2-O-sulfatado)[4] e, a utilizando-se de cromatografia de exclusão e RMN, conferiu-se ao composto peso molecular de 36 kDa e abundância de ácido glicurônico e resíduos de glicosamina N,6-sulfatadas assim como de glicosamina 3-O-sulfatada.[11] . Observou-se, pelo métodos de tempo de protrombina(TP) e tempo tromboplastina parcial ativada(TTPa), reduzido potencial anticoagulante comparado à heparina de mamíferos, corroborando seu negligente efeito residual hemorrágico verificado por escarificação de cauda de rato.[4] Seu potencial anti-inflamatório, demonstrado em modelo de peritonite aguda em camundongos, inibindo o recrutamento leucocitário e, *in vitro*, inibindo moléculas pró inflamatórias como Metaloproteinases(MMPs), interleucina 1 β (IL-1 β), fator de necrose tumoral(TNF- α) e óxido nítrico(ON), além do estímulo a síntese de heparam sulfato antitrombótico[4] e o colocam como interessante modelo de intervenção anti-inflamatória.[4].

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVOS GERAIS

Realizar uma revisão bibliográfica a partir das produções científicas referentes a ocorrência de GAGs com potencial terapêutico em um resíduo da carcinicultura, o cefalotórax do camarão *L. vannamei*.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Conceituar GAGs
- Sumarizar a utilização clínica da heparina
- Relatar a ocorrência GAGs no camarão *L. vannamei*, resíduo da carcinicultura
- Relatar o potencial terapêutico dos compostos do camarão

4.METODOLOGIA

O presente trabalho foi realizado a partir de uma pesquisa de revisão bibliográfica sobre o tema "Resíduos da Carcinicultura como Fonte de Glicosaminoglicanos com Potencial Terapêutico" através das bases de dados científicas PUBMED, Scientific Eletronic Library Online(Scielo) e Science Direct.. As palavras chave utilizadas foram, em inglês: *heparin*, *glycosaminoglycans*, *marine carbohydrates* e *Litopenaeus vannamei* e o parâmetros de busca: periódicos publicados no intervalo de tempo do ano 2000 a 2018. As produções científicas foram selecionadas à medida que abordavam questões referentes a ocorrência de glicosaminoglicanos em invertebrados marinhos, as interações entre o sglicosaminoglicanos e sistemas biológicos e o potencial terapêutico apresentado por esses compostos. Foram utilizados nesse estudo 35 artigos, 1 capítulo de livro e uma dissertação.

5. DISCUSSÃO

A manutenção da hemostasia, nome dado ao equilíbrio entre fatores pró e anticoagulantes que garante a fluidez do sangue, é essencial à saúde do organismo. Além do dano direto: no quadro hemorrágico, hipovolemia e, no quadro trombótico, oclusão vascular e isquemia, evidências apontam o desequilíbrio hemostático como componente central na progressão de diversas doenças, inclusive o câncer[24-28]. Considerando o propósito comunicante da circulação sanguínea, fica claro o porquê de tantas alterações patológicas, aparentemente não relacionadas, culminam em desequilíbrio hemostático. No caso do câncer, por exemplo, o estado de hipercoagulabilidade é fundamental para progressão tumoral.

Conforme a associação entre distúrbios da coagulação e outros eventos como inflamação, carcinogênese, progressão tumoral, estresse oxidativo, diabetes e muitos outros foi se consolidando, corroborando uma espécie de *crossroad* entre eles, os fatores da coagulação passaram por uma ressignificação clínica. Efeitos pleiotrópicos, “dissociados” do papel na hemostasia passaram a ser investigados. Assim, moléculas como F-IIa, F-Xa e fator tecidual(FT) se mostraram competentes biomarcadores bem como alvos terapêuticos para variados processos patológicos[28;34].

Nessa linha de raciocínio, o F-IIa, enzima conversora de fibrinogênio em fibrina culminando na formação de um coágulo, demonstrou extrapolar esse conceito. verificou-se que ele participa ativamente, mediante ligação a receptores de protease ativada(PARs), de uma gama de processos como inflamação, doença cardíaca, etc[30]

Dessa forma ,verificou-se que o F-IIa, capaz de atuar via receptores de protease ativada(PARs) em processos inflamatórios, hemostáticos e carcinogênicos era um interessante marcador para as alterações mencionadas e, portanto, interessante alvo terapêutico, estimulando a busca por moléculas capazes de inibi-lo. A heparina, enquanto potente inibidor da trombina, vem sendo empregado e obtendo bons resultados. Foi-se observado, por exemplo, que a administração da heparina como tratamento coadjuvante, obteve sucesso em prolongar a sobrevida dos pacientes além de reduzir os riscos de doenças tromboembólicas, segunda maior causa de morte por câncer.

Assim, os compostos do camarão, obtidos por reaproveitamento de um subproduto da carcinicultura, com baixa atividade anticoagulante por inibição da via intrínseca da coagulação e razoável atividade anti-IIa, são candidatos promissores ao início de novas abordagens terapêuticas mais acessíveis e com maior razão risco/benefício. Para tal, é necessário que se avance nos estudos relativos a relação estrutura/ função dos GAGs uma vez que é de alta complexidade e determinante quanto a margem terapêutica dos composto. O impacto severo de mudanças estruturais foi verificado, em 2008, com a contaminação dos lotes de heparina. Lotes com contaminantes como condroitim oversulfatado exemplificaram a relevância da estrutura de uma biomolécula: um condroitim sulfato, similar ao endógeno ou ao obtido de outras fontes, cujos potenciais tetrapêuticos já são conhecidos, pela simples adição de grupos sulfato, foi capaz de causar mais de 100 mortes por indução a quadro de choque[11,14].

Sob essa perspectiva, é imprescindível o investimento em estudos que investiguem biomoléculas promissoras ao desenvolvimento sustentável de novos fármacos, suas estruturas, bioatividades e a relação entre esses parâmetros. Um estudo recente, utilizando modelagem 3-D e explorando a especificidade requerida a ação enzimática, um grande avanço foi dado, desconstruindo o paradigma da biossíntese hierárquica e caráter anticoagulante intrínseco da 3-O sulfatação[20]. Corroborando a heterogeneidade de cadeias e GAGs na natureza e, por vezes, até em um mesmo organismo, mostrou-se que a biossíntese de heparam sulfato, ao contrário da hipótese de sequência hierárquica antes adotada, pode apresentar diferentes vias resultando assim, em compostos peculiares como o resultante da via biossintética proposta para o camarão *L. vannamei* [20]. Esse mesmo estudo, esclarece a falha na atribuição de atividade anticoagulante a compostos 3-O sulfatados. Embora, de fato, exista certa constância na literatura da ocorrência desse padrão de sulfatação e atividade anticoagulante[19], esse não é o único aspecto envolvido. Reiterando a importância da diversidade estrutural dos GAGs, a mesma contribui para um alto grau de especificidade e condições ambientais. Logo, o entendimento não apenas das estruturas sozinhas, mas em consonância com as demais características dos composto além da interação com a vizinhança, são indispensáveis a construção de modelos terapêuticos.

6. CONCLUSÃO

Os invertebrados marinhos são uma rica fonte de compostos tipo GAGs; é provável que a elevada pressão seletiva exercida pelo ambiente marinho tenha promovido a ocorrência da ampla variabilidade de moléculas protetoras e reparativas verificadas. Um invertebrado em particular, o camarão *Litopenaeus vannamei*, apresenta-se como matéria prima promissora para obtenção de glicosaminoglicanos com potenciais terapêuticos diversos, mais especificamente, o seu cefalotórax. Sendo este um resíduo da carcinicultura é atrelado, ainda, aos estudos desses compostos um caráter sustentável, tendo em vista a reutilização de material residual de forma a reduzir impactos ambientais gerados por eventual descarte inadequado, a fim de isolar compostos de elevado valor biotecnológico que demonstram ser capazes de interromper processos fisiopatológicos e, assim, constituem interessantes modelos para o desenvolvimento de novas terapias anticoagulantes, antitrombóticas, antitumorais, antivirais e antioxidantes.

REFERÊNCIAS

1. Almond, A. Visions & Reflections (Minireview) Hyaluronan. *Cell Mol. Life Sci.*, v. 64, p. 1591-1596, 2007.
2. Andrade, G.P.V.; Lima, M.A.; Junior, A.A.S.; Fareed, J.; Hoppensteadt, D.A.; Santos, E.A.; Chavante, S.F.; Oliveira, F.W.; Rocha, H.A.O.; Nader, H.B. A heparin-like compound isolated from a marine crab rich in glucuronic acid 2-O-sulfate presents low anticoagulant activity. *Carbohydrate Polymers*, v. 94, p. 647-654, 2013.
3. Brito, A.S.; Cavalcante, R.S.; Cavalheiro, R.P.; Palhares, L.C.G.F.; Nobre, L.T.D.B.; Andrade, G.P.V.; Nader, H.B.; Lima, M.A.; Chavante, S.F. Anti-IIa activity and antimicrobial properties of a hybrid heparin/heparan sulfate-like compound from *Litopenaeus vannamei* shrimp, *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 118, p. 1470-1478, 2018.
4. Brito, A.S.; Arimatéia, D.S.; Souza, L.R.; Lima, M.A.; Santos, V.O.; Medeiros, V.P.; Ferreira, P.A.; Silva, R.A.; Ferreira, C.V.; Justo, G.Z.; Leite, E.L.; Andrade, G.P.V.; Oliveira, F.W.; Nader, H.B.; Chavante, S.F. Anti-inflammatory properties of a heparin-like glycosaminoglycan with reduced anti-coagulant activity isolated from a marine shrimp. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. V. 16, p. 9588-9595, 2008.
5. Brito, A.S.; Cavalcante, R.S.; Palhares, L.C.G.F.; Hughes, A.J.; Andrade, G.P.V.; Yates, E.A.; Nader, H.B.; Lima, M.A.; Chavante, S.F. A non-hemorrhagic hybrid heparin/heparan sulfate with anticoagulant potential. *Carbohydrate Polymers*, v. 99, p. 372-378, 2014.
6. Bukowska, A.; Zacharias, I.; Wenert, S.; Skopp, K.; Hartman, C.; Huth, C.; Goette, A. Coagulation factor Xa induces an inflammatory signalling by activation of protease activated receptors in human atrial tissue. *European Journal of Pharmacology*, v. 718, p. 114-123, 2013.
7. Cahú, T.B.; Santos, S.D.; Mendes, A.; Córdula, C.R.; Chavante S.F.; Carvalho, L.B.; Nader, H.B.; Bezerra, R.S. Recovery of protein, chitin, carotenoids and glycosaminoglycans from Pacific White shrimp (*Litopenaeus vannamei*) processing waste. *Process Biochemistry*, v.47, p.570-577, 2012.
8. Chavante, S.F.; Brito, A.S.; Lima, M.; Yates, E.; Nader, H.; Guerrini, M.; Torri, G.; Bisio, A. A heparin-like glycosaminoglycan from shrimp containing high levels of 3-O-sulfated D-glucosamine groups in an unusual trisaccharide sequence. *Carbohydrate Research*, v. 390, p. 59-66, 2014.
9. Chavante, S.F.; Brito, A.S.; Cavalcante, R.S.; Andrade, G.P.V. Unusual Heparin-Like Compounds from Marine Invertebrates, in: *Sulfated Polysaccharides*, Gama, M.; Nader, H.B.; Rocha, G.A.O. Eds. New York, **Nova Science Pub Inc.** 2015, pp 106-119.
10. Cavalcante, R.S.; Brito, A.S.; Palhares, L.C.G.F.; Lima, M.A.; Cavalheiro, R.P.; Nader, H.B.; Sasaki, G.L.; Chavante, S.F. 2-3-Di-O-sulfo glucuronic acid: An

unmodified and unusual residue in a highly sulfated chondroitin sulfate from *Litopenaeus vannamei*. *Carbohydrate Polymers*, v. 183, p. 192-200, 2018.

11. Dreyfuss, J. L.; Regatieri, C. V.; Lima, M. A.; Paredes-Gamero, E. J.; Brito, A. S.; Chavante, S. F.; Belfort, R., Jr.; Farah, M. E.; Nader, H. B. J. *Thromb. Haemost.*, v. 8, p. 1828–1837, 2010.

12. Estrada, N.; Velázquez, E.; Jaramillo, C.R.; Ascencio, F. Carbohydrate Moieties and Cytoenzymatic Characterization of Hemocytes in Whiteleg Shrimp *Litopenaeus vannamei*. *International Journal of Cell Biology*, v.

13. Gandhi, N. S.; Mancera, R. L. The structure of glycosaminoglycans and their interactions with proteins. *Chem. Biol. Drug Des*, v.72, p.455–482, 2008.

14. Hogwood, J.; Naggi, A.; Torri, G.; Page, C.; Rigsby, P.; Mulloy, B.; Gray, E. The effect of increasing the sulfation level of chondroitin sulfate on anticoagulant specific activity and activation of the kinin system. *PLOS ONE*, v. 13, p. 1-13, 2018.

15. Ghatak, S.; Maytin, E.V.; Mack, J.A.; Hascall, V.C.; Atanelishvili, I.; Rodriguez, R.M.; Markwald, R.R.; Misra, S. Roles of proteoglycans and glycosaminoglycans in wound healing and fibrosis. *Int. J. Cell Biol*, p. 1–20, 2015.

16. Karamanou, K.; Espinosa, D.C.R.; Costa, A.F.; Pavão, M.S.G. Biological function of unique sulfated glycosaminoglycans from in primitive chordates. *Glycoconjugate Journal*, v. 34, p. 277-283, 2017.

17. Kishimoto, T.K.; Viswanathan, K.; Ganguly, T.; Elankumaram, S.; Smith, S.; Pelzer, K.; Lansing, J.C.; Sriranganathan, N.; Zhao, G.; Gargova, Z.G.; Hakim, A.; Bailey, G.S.; Fraser, B.; Roy, S.; Cotrone, T.R.; Buhse, L.; Whary, M.; Fox, J.; Nasr, M.; Pan, G.J.D.; Shriver, G.; Langer, R.S.; Venkataraman, G.; Austen, F.; Woodcock, J.; Sasisekharam, R. Contaminated Heparin Associated with Adverse Clinical Events and Activation of the Contact System. *N Engl J Med*, v. 358, p. 2457-2467, 2008.

18. Kjellén, L.; Lindahl, U. Specificity of glycosaminoglycan-protein interactions. *Current Opinion in Structural Biology*, v. 50, p. 101-108, 2018.

19. Lima, M.A.; Hugues, A.J.; Veraldi, N.; R, T.R.; Hussain, R.; Brito, A.S.; CHAVANTE, S.F.; TERSARIOL, I.I.; SILIGARDI, G.; NADER, H.B.; YATES, E.A. Antithrombin stabilisation by sulfated carbohydrates correlates with anticoagulant activity. *MedChemComm*, v. 4, p. 870-873, 2013.

20. Meneguetti, M.C.Z.; Ferreira T.G.; Tashima, A.K.; Chavante, S.F.; Yates, E.A.; Liu, J.; Nader, H.B.; Lima, M.A. Insights into the role of 3-O-sulfotransferase in heparan sulfate biosynthesis. *Organic & Biomolecular Chemistry*, v.15, p. 6792-6799, 2017.

21. Pavão, M. S. G.; Glycosaminoglycans analogs from marine invertebrates: structure, biological effects, and potential as new therapeutics. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 4, 2014.

22. Pomin, V.H. Structure–Function Relationship of Anticoagulant and Antithrombotic Well-Defined Sulfated Polysaccharides from Marine Invertebrates. *Advances in Food and Nutrition Research*, v. 65, p. 195-209, 2012.
23. Pomin, V.H. NMR Structural determination of unique invertebrate glycosaminoglycans endowed with medical properties. *Carbohydrate Research*, v.413, p. 41-50, 2015.
24. Pomin, V.H. Keratan sulfate: An Up-To-Date Review. *Int. J. Biol. Macromol*, v. 72, p. 282-289, 2015.
25. Pomin, V.H. A Dilemma in the Glycosaminoglycan-Based Therapy: Synthetic or Naturally Unique Molecules? *Med. Res. Ver.*, v.35, p. 1195–1219, 2015.
26. Rabenstein, D.L. Heparin and heparan sulfate: Structure and Function. *Nat. Prod. Rep.*, v.19, p.312–333, 2002.
27. Sayari, N.; Balti, R.; Mansour, M.B.; Amor, I.B.; Graiet, I.; Gargouri, J.; Bougatef, A. Anticoagulant properties and cytotoxic effect against HCT116 human colon cell line of sulfated glycosaminoglycans isolated from the Norway lobster (*Nephrops norvegicus*) shell. *Carbohydrate Polymers*, v.99, p. 372-378, 2014.
28. Sasisekhara, R.; Raman, R.; Prabhakar, V. Glycomics Approach to Structure-Function Relationships of Glycosaminoglycans. *Annual Review of Biomedical Engineering*, v. 8, p. 181-231, 2006.
29. Spronk, H.M.H.; Jong, A.M.; Crijns, H.J.; Schotten, U.; Gelder, I.C.V.; Cate, H. Pleiotropic effects of factor Xa and thrombin: what to expect from novel anticoagulants? *Cardiovascular Research*, v. 101, p. 344-351, 2014.
30. Sugahara, K.; Kitagawa, H. Heparin and Heparan Sulfate Biosynthesis. *IUBMB Life*, v.54, p.163–175, 2002.
31. Thelin, M.A.; Bartolini, B.; Axelsson, J. Gustafsson, R.; Tykesson, E.P.; Oldberg, A.; Maccarana, M.; Malmstrom, A. Biological functions of iduronic acid in chondroitin/dermatan sulfate. *FEBS Journal*, v. 280, p. 2431-2446, 2013.
32. Tsai, C.; Zulueta, M.M.L.; Hung, S. Synthetic heparin and heparan sulfate: probes in defining biological functions. *Current Opinion in Chemical Biology*, v.40, p. 152-159, 2017.

33. Valcarcel, J.; Carballal, R.N.; Martín, R.I.P.; Reis, R.L.; Vázquez, J.A. Glycosaminoglycans from marine sources as therapeutic agents. *Biotechnology Advances*, v.35, p. 711-725, 2017.
34. Vasconcelos, A.A.; Pomin, V.H. The Sea as a Rich Source of Structurally Unique Glycosaminoglycans and Mimetics, *Microorganisms*,v. 5, p. 1-18, 2017.
35. Vergnolle, N.; Wallace, J.L.; Bunnet, N.W.; Hollenberg, M.D. Protease-activated receptors in inflammation, neuronal signaling and pain. *TRENDS in Pharmacological Sciences*, v. 22, p. 146-152, 2001.
36. West, C.J.M.; Yates, E.A.; Skidmore, M.A. Marine glycosaminoglycan-like carbohydrates as potential drugs candidates for infectious disease. *Biochemical Society Transactions*, v.
37. Yamada, S.; Sugahara, K.; Özbec, S. Evolution of glycosaminoglycans Comparative biochemical study. *Communicative and Integrative Biology*, v. 4, p. 150-158, 2011.