

JULIETE LIRA DE SOUZA LIMA

ESTUDO DA ATIVIDADE CICATRIZANTE DA LECTINA DE FOLHAS DA *Bauhinia monandra* KURZ EM FERIDAS CUTÂNEAS DE RATOS

RECIFE
2019

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL

JULIETE LIRA DE SOUZA LIMA

ESTUDO DA ATIVIDADE CICATRIZANTE DA LECTINA DE FOLHAS DA *Bauhinia monandra* KURZ EM FERIDAS CUTÂNEAS DE RATOS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como pré-requisito para obtenção do grau de Doutora em Biociência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Joaquim Evêncio Neto

Co Orientador: Prof. Dr. Emmanuel Viana Pontual

RECIFE
2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- L732e Lima, Juliete Lira de Souza
Estudo da atividade cicatrizante da lectina de folhas da Bauhinia monandra kurz em feridas cutâneas de ratos / Juliete Lira de Souza Lima. - 2019.
110 f. : il.
- Orientador: Joaquim Evêncio Neto.
Coorientador: Emmanuel Viana Pontual.
Inclui referências.
- Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal, Recife, 2019.
1. Cicatrização. 2. Fitoterápico. 3. Lectina. 4. Creme. 5. Pele. I. Neto, Joaquim Evêncio, orient. II. Pontual, Emmanuel Viana, coorient. III. Título

CDD 636.089

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL

ESTUDO DA ATIVIDADE CICATRIZANTE DA LECTINA DE FOLHAS DA *Bauhinia monandra* KURZ EM FERIDAS CUTÂNEAS DE RATOS

Tese de Doutorado elaborada por

JULIETE LIRA DE SOUZA LIMA

Aprovada em 20 de novembro de 2019

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Joaquim Evêncio Neto (Presidente)
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da UFRPE

Profa. Dra. Liriane Baratella Evêncio
Departamento de Histologia e Embriologia da UFPE

Prof. Dr. Fabrício Bezerra de Sá
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da UFRPE

Profa. Dra. Lígia Reis de Moura Estevão
PNPD – PPGBA/CAPES/UFRPE

Dra. Mariana Gomes do Rêgo
PNPD – PPGCV/CAPES/UFRPE

*Dedico a Deus, aos meus pais
José e Maria, minha irmã
Juliana, meu esposo Thúlio e
as minhas cadelinhas Bela e
Mel, pelo suporte e auxílio em
todos os momentos desta
jornada.*

AGRADECIMENTOS

“A sabedoria é a essência da conquista. É iniciada nos sonhos, desenvolvida na coragem, eternizada no tempo.”

Bruno Raphael da Cunha Dobicz

A Deus, agradeço por tudo que eu vivi e que me possibilitou chegar até aqui, que me fez ser quem eu sou. Agradeço pelos bons momentos que me fizeram celebrar a vida, e agradeço pelos momentos difíceis que me fizeram crescer.

Aos meus pais, José Roberto e Maria, pelo amor incondicional, pelo exemplo de força, determinação, humildade e caráter. Obrigada pela dedicação e ensinamentos.

Ao meu esposo Thúlio, que além de me fazer feliz, ajudou-me durante todo o percurso da minha vida acadêmica e profissional. Obrigada pelo o apoio, paciência e entender meus momentos de estresse e angústia, e por vibrar pelas minhas conquistas.

A minha irmã Juliana, cunhado Rodrigo, pelo apoio, companheirismo e por acreditar em mim.

Aos meus avós paternos, Nilza (*in memorian*), Agnaldo (*in memorian*) e bisavó Angelina (*in memorian*), sei que onde estiverem, irão orar e torcer por mim.

Aos meus avós maternos, Sílvia (vovó de Surubim) e Paulo (*in memorian*), que vibraram em todas as minhas conquistas, principalmente vovó, pois é muito bom saber que sou o orgulho dela.

Aos tios, tias, primos, primas, madrinhas, padrinhos, sogro, sogra e cunhados, que acreditaram até o fim na minha formação.

Aos meus afilhados Emanuel (Neneu) e Ana Beatriz (Bia), pela simplicidade de transmitir alegria na minha vida.

Aos amigos (colegas do trabalho) do Centro Acadêmico de Vitória CAV/UFPE, Anna, Michelle, Niedja, Emyliane, Vinicius, Daniely, Sidcleia, Danilo, Gabriel e Gleybson pela força, entusiasmo e por torcerem por mim, e a meu amigo Silvio, que teve um papel fundamental na parte experimental, não me deixou desanimar e sempre confiou em mim.

Aos amigos da UFRPE, Leandro, Thais e Prof. Fábيا por várias vezes me deram força, carinho e atenção em todos os momentos que precisei.

A equipe de cicatrização Ana, Agnes, Érica, Marcela e Lúgia, que foram fundamentais em todos os momentos, recebi muito apoio, carinho e atenção.

Aos animais do biotério, pela tão inocente e valiosa contribuição como fonte da minha pesquisa.

Aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal, por terem contribuído para a minha formação.

Ao meu Orientador Professor Evêncio, pela confiança e ensinamentos, que tem sido precioso para minha formação acadêmica, profissional e pessoal. Obrigada, por todas as horas de atenção e compreensão e por ter dado o privilégio de ser sua orientanda.

A meu Co-orientador Professor Emmanuel, pelo apoio e auxílio durante a pesquisa. Obrigada pela atenção.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos durante o curso.

A todos e a todas, que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigada.

RESUMO

As lectinas de origem vegetal, são proteínas não imunológicas que aglutinam hemácias devido sua alta capacidade de se ligar reversivelmente a carboidratos. Diversas pesquisas têm evidenciado a sua ação como agente inseticida, antimicrobiano, antitumoral, anti-inflamatório e cicatrizante. Portanto, este trabalho tem como objetivo avaliar a atividade cicatrizante em creme contendo a lectina BmoLL em folhas de *Bauhinia Monandra* Kurz (pata-de-vaca) aplicada diariamente em feridas cutâneas em ratos Wistar, avaliada através de técnicas macroscópicas, morfométricas e histológicas. Foram utilizados 40 animais, divididos em dois grupos contendo 20 animais cada, formando um grupo tratado (recebeu o creme e identificados por LL) e o grupo controle (recebeu o veículo e identificados por L). Cada grupo foi dividido em quatro subgrupos contendo cinco animais cada (por exemplo, para o grupo controle, L1, L2, L3, L4 e L5), os quais foram avaliados com 4°, 7°, 14° e 21° dias de pós-operatório, respectivamente. Em cada animal foram realizadas duas feridas cirúrgicas (antímerno direito e esquerdo) deixando a fáscia muscular adjacente. As feridas foram mensuradas quanto ao grau de contração e avaliadas morfológica e histologicamente quanto ao número de mastócitos, densidade das fibras colágenas e neovascularização. O grau de contração das feridas foi significativamente maior no grupo tratado ($p < 0,05$) quando comparado ao grupo controle. O grupo tratado apresentou também maior quantidade de vasos sanguíneos, fibras colágenas e mastócitos. O creme contendo lectina BmoLL de folhas da *Bauhinia Monandra* Kurz, mostrou ser eficiente no processo de cicatrização de feridas, na qual, foi capaz de expressar propriedades de modular o processo inflamatório e de estimular a multiplicação celular e das estruturas necessárias ao processo cicatricial

PALAVRAS-CHAVES: Cicatrização, Fitoterápico, Lectina, Creme, Pele

ABSTRACT

Lectins of plant origin are non-immunological proteins that agglutinate red blood cells due to their high ability to bind reversibly to carbohydrates. Several researches have evidenced its action as insecticidal, antimicrobial, antitumor, anti-inflammatory and healing agent. Therefore, this work aims to evaluate the healing activity in cream containing lectin BmoLL in *Bauhinia Monandra* Kurz (cowpaw) leaves applied daily to skin wounds in Wistar rats, evaluated by macroscopic, morphometric and histological techniques. Forty animals were used, divided into two groups containing 20 animals each, forming a treated group (received the cream and identified by LL) and the control group (received the vehicle and identified by L). Each group was divided into four subgroups containing five animals each (for example, for the control group, L1, L2, L3, L4, and L5), which were evaluated at 4th, 7th, 14th, and 21st postoperative days. -operatively, respectively. In each animal were made two surgical wounds (right and left antimer) leaving the adjacent muscle fascia. Wounds were measured for degree of contraction and evaluated morphologically and histologically for mast cell number, collagen fiber density and neovascularization. The degree of wound contraction was significantly higher in the treated group ($p < 0.05$) when compared to the control group. The treated group also presented larger amount of blood vessels, collagen fibers and mast cells. *Bauhinia Monandra* Kurz's BmoLL lectin-containing cream showed to be efficient in the wound healing process, in which it was able to express properties of modulating the inflammatory process and stimulating cell multiplication and the structures necessary for the healing process.

KEYWORDS: Healing, Herbal, Lectin, Cream, Skin

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 Plantas medicinais	15
2.2 <i>Bauhinia Monandra</i> Kurz	17
2.3 Lectina	19
2.4 Pele	22
2.5 Ferida	27
2.6 Processo Cicatricial	28
3 OBJETIVO	36
3.1 Geral	36
3.2 Específico	36
4 MATERIAL E MÉTODOS	37
4.1 Material vegetal e isolamento da lectina	37
4.2 Elaboração do creme	37
4.3 Local e Animais	38
4.4 Ferida Cirúrgica	38
4.5 Teste <i>in vivo</i> da atividade cicatrizante do creme	39
4.6 Avaliação clínica dos animais e das feridas	40
4.7 Avaliações morfológica e morfométrica	40
4.8 Delineamento e Análise Estatística	42
5 REFERÊNCIAS	43
ARTIGO 1	59
Lectinas vegetais como ferramentas terapêuticas: uma revisão	60
ARTIGO 2	83
Avaliação da cicatrização cutânea após aplicação tópica de creme contendo Lectina BmoLL de folhas de <i>Bauhinia Monandra</i> Kurz em ratos: Estudo macroscópico e morfológico	84
ARTIGO 3	97
Análise morfométrica em feridas cutâneas de ratos tratados com creme contendo Lectina BmoLL de folhas da <i>Bauhinia monandra</i> Kurz	98
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	109

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. <i>Bauhinia monandra</i> (Fonte: pessoal).	18
Figura 2. Atividade hemaglutinante utilizando eritrócitos humanos ou de outros animais, empregado para detecção da presença de lectinas em determinada amostra. (B) Ensaio de inibição da atividade hemaglutinante realizado em presença de carboidratos livres com o objetivo de confirmar a presença de lectinas em amostras contendo atividade hemaglutinante, ou de determinar a especificidade das lectinas detectadas. Adaptado de Lima et al., 2018	20
Figura 3. Visualização do ensaio para detecção da presença de lectinas utilizando eritrócitos de coelho mostrando a ausência de atividade hemaglutinante e a formação da malha de hemaglutinação (Fonte: pessoal).	21
Figura 4. Imagem ilustrativa da pele, identificando suas 3 camadas (Fonte: BOHJANEN, 2015)	23
Figura 5. Procedimentos para a realização da ferida cirúrgica. A: Delineamento da área através da tricotomia, seguida de limpeza. B: Animal posto em decúbito lateral, seguida da incisão da pele em forma circular com auxílio do punch. C: Incisão realizada no antímero direito e esquerdo.	39
Figura 6. Corte realizado para coleta da pele e da ferida, ficando exposta a fáscia muscular adjacente.	40
<u>ARTIGO 1</u>	65
Figura 1. (A) Ensaio de atividade hemaglutinante utilizando eritrócitos humanos ou de outros animais, empregado para detecção da presença de lectinas em determinada amostra. (B) Ensaio de inibição da atividade hemaglutinante realizado em presença de carboidratos livres com o objetivo de confirmar a presença de lectinas em amostras contendo atividade hemaglutinante, ou de determinar a especificidade das lectinas detectadas.	
Figura 2. Aspecto do ensaio para detecção da presença de lectinas utilizando eritrócitos mostrando a ausência de atividade hemaglutinante e a formação da malha de hemaglutinação.	66
<u>ARTIGO 2</u>	96
Figura 1. Imagens de feridas cutâneas em ratos do grupo L, tratados apenas com o veículo (Lanette) (A, B, C, D) e do grupo LL tratados com	

creme contendo BmoLL + Lanette (E, F, G, H) no 4º, 7º, 14º, e 21º dias pós-operatório, respectivamente

Figura 2. Contração da ferida. Percentual médio do fechamento de ferida para os diferentes grupos. Observar diferença do grupo tratado LL (Lanette+Lectina) até o 7º dia, quando comparado ao grupo controle L (Lanette). **96**

ARTIGO 3 **102**

Figura 1. Gráfico evidenciando a quantificação de mastócitos nos grupos tratado com creme contendo Lanette + Lectina (LL) e grupo controle tratado apenas com o veículo Lanette (L), no 4º, 7º, 14º e 21º dias pós-operatório. Pode-se notar diferença significativa ($p < 0,05$) nos grupos tratados LL7 e LL14 do grupo controle (L).

Figura 2. Gráfico evidenciando a quantidade de vasos sanguíneos neoformadas nos grupos tratados com creme contendo Lanette + Lectina (LL) e grupo controle tratados apenas com o veículo Lanette (L), no 4º, 7º, 14º e 21º dias pós-operatório. Pode-se observar diferença significativa na quantidade de vasos do grupo tratado quando comparado ao grupo controle ($p < 0,05$) no 7º dia. **103**

Figura 3. Gráfico evidenciando a quantificação das fibras colágenas nos grupos tratado com creme contendo Lanette + Lectina (LL) e grupo controle tratado apenas com o veículo Lanette (L), no 4º, 7º, 14º e 21º dias pós-operatório. Pode-se observar diferença do 4º ao 7º dia pós-operatório no grupo tratado (LL7 e LL14) quando comparado ao grupo controle **104**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Função de algumas células presentes na derme. Adaptado de JUNQUEIRA & CARNEIRO (2013) **25**

Tabela 2. Fases do processo cicatricial. Adaptado de MANDELBAUM, DI SANTIS & MANDELBAUM, 2003 **29**

Tabela 3: Tabela de Scores (Adaptado de Estevão et al., 2019) **41**

ARTIGO 1 **61**

Tabela 1. Lectinas vegetais que têm sido relatadas como candidatas a potenciais ferramentas terapêuticas

LISTA DE ABREVIATURAS

AT: Azul de Toluidina

CAV: Centro Acadêmico de Vitória

FGF: Fator de Crescimentos de Fibroblastos

HE: Hematoxilina-Eosina

KGF: Fator de Crescimento de Queratinócitos

LL: Grupo Tratado

L: Grupo Controle

MAF: Fator de Ativação de Macrófago

MIF: Fator de Inibição da Migração

NaCl: Cloreto de Sódio

OMS: Organização Mundial de Saúde

PDGF: Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas

SUS: Sistema Único de Saúde

TGF: Fator de Transformação do Crescimento

TM: Tricrômico de Masson

TNF: Fator de Necrose Tumoral

UFPE: Universidade Federal de Pernambuco

UFRPE: Universidade Federal Rural de Pernambuco

VEGF: Fator de Crescimento Endotelial Vascular

1 INTRODUÇÃO

Plantas medicinais são aquelas que administradas ao homem ou outro animal, por qualquer via ou forma, exercem alguma ação terapêutica (ALMASSY JUNIOR et al., 2005). O tratamento feito com uso de plantas medicinais é denominado de fitoterapia, e os fitoterápicos são os medicamentos produzidos a partir dessas plantas, permitindo que o ser humano se reconecte com o ambiente, acessando o poder da natureza para normalizar suas funções fisiológicas, restaurar imunidade enfraquecida, promover a desintoxicação e o rejuvenescimento (SCHENKEL; GOSMAN; PETROVICK, 2000).

Pertencente a subfamília Caesalpinioideae e gênero *Bauhinia*, a espécie *Bauhinia monandra* Kurz, é conhecida popularmente como “pata-de-vaca” na Amazônia, onde possui grande valor econômico, e também conhecida por “unha-de-vaca” e “Orquídea dos pobres” (BORGES; MENDONÇA, 2009), utilizada com fins ornamental, forrageiro e principalmente medicinal (MARTINS et al., 1995) onde suas folhas são usadas popularmente em forma de chás (infusão) para o tratamento de diabetes, como anti-inflamatório e analgésico (SILVA; CECHINEL-FILHO, 2002).

Estudos demonstraram o potencial antioxidante do extrato de folhas de *B. monandra* por meio de suas ações inibitórias *in vitro* sobre radicais livres de DPPH, radicais de peróxido de hidrogênio e radicais livres de íons ferrosos (NWORIE; OKORIE, 2018). As sementes de *B. monandra* são fontes ricas de vitamina A e contêm uma quantidade elevada de ácido linoleico e baixa quantidade de ácido mirístico (KEAY, 1989).

Segundo pesquisas, a *B. monandra* tem potencial antidiabético contra diabetes induzida experimentalmente em ratos (MCCUNE; JOHNS, 2002) e este potencial antidiabético tem sido ligado à presença de componentes antioxidante (ANOSIKE, OBIDOA; EZEANYIKA, 2012). Lectina BmoLL extraída das folhas da *B. monandra* a partir do processo de purificação, possui potentes propriedades anti-inflamatórias e antinociceptivas em experimentos com camundongos (CAMPOS et al., 2016).

Dentre diversos compostos purificados de plantas estão as lectinas (proteínas ou glicoproteínas) que são capazes de reconhecer carboidratos e/ou glicoconjugados, as quais têm sido reportadas como potenciais agentes inseticidas (AGRA-NETO et al., 2014), antimicrobianos (MOURA et al., 2015), antitumorais (ALBUQUERQUE et

al., 2014), anti-inflamatórios (LACERDA et al., 2015) e cicatrizantes (BRUSTEIN et al., 2012), dentre outras atividades biológicas.

As lectinas fazem parte de um grupo de proteínas estruturalmente heterogêneo, capaz de reconhecer sítios específicos em moléculas glicídicas e ligar-se reversivelmente. Primeiramente identificadas como proteínas tóxicas, as lectinas tornaram-se ferramentas indispensáveis em diagnósticos de doenças, tipagem sanguínea e na identificação de cepas de microrganismos. Elas têm dado suporte a estudos moleculares, estruturais, genéticos e de fisiologia vegetal, através do detalhamento das interações proteína-proteína e proteína-carboidrato (POVINELI; FINARDI FILHO, 2002).

A aplicabilidade das lectinas no reparo de lesões tem estimulado muitos estudos nessa área como os que avaliaram efeitos cicatrizantes das lectinas de *Dioclea violácea* (Dviol), *Canavalia brasiliensis* (ConBr), *Canavalia ensiformis* (ConA) e *Cratylia mollis* (Cramoll 1,4) em feridas cutâneas (SILVA et al., 2009; MELO et al., 2011).

Com base nos relatos prévios da atividade anti-inflamatório, antinociceptivas, antioxidante e antidiabético em preparações de folhas da *Bauhinia Monandra* Kurz (Pata-de-vaca) e da presença da lectina nessa parte da planta, este trabalho propôs avaliar a atividade cicatrizante em creme contendo a lectina BmoLL de folhas da *Bauhinia Monandra* Kurz através de técnicas morfométricas e histopatológicas em ferida cutânea de ratos Wistar.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Plantas medicinais

A utilização de plantas como fins medicinais, para tratamento, cura e prevenção de doenças, é uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade (VEIGA JUNIOR, PINTO; MACIEL, 2005). Desde cedo as primeiras civilizações perceberam que algumas plantas continham, em suas essências, princípios ativos os quais ao serem experimentados no combate às doenças revelaram empiricamente seu poder curativo (BADKE et al., 2011). Os primeiros registros datam do período de 2838- 2698 a.C. quando o imperador chinês Shen Nung catalogou 365 ervas medicinais e venenos que eram usados sob inspiração taoísta de Pan Ku, considerado deus da criação (VALE, 2002).

O emprego de plantas medicinais para a manutenção e a recuperação da saúde tem ocorrido ao longo dos tempos desde as formas mais simples de tratamento local até as formas mais sofisticadas de fabricação industrial de medicamentos (HAMILTON, 2004; LORENZI; MATOS 2008).

A percepção sobre o poder curativo de algumas plantas é uma das formas de relação entre populações humanas e plantas, e as práticas relacionadas ao uso tradicional de plantas medicinais são o que muitas comunidades têm como alternativa para a manutenção da saúde ou o tratamento de doenças. (AMOROZO, 2002). No início da década de 1990, a Organização Mundial de Saúde (OMS) divulgou que 65-80% da população dos países em desenvolvimento dependiam das plantas medicinais como única forma de acesso aos cuidados básicos de saúde (AKERELE, 1993).

No entanto, sua continuidade pode ser ameaçada pela interferência de fatores como: maior exposição das comunidades à sociedade urbano-industrial e, conseqüentemente, às pressões econômicas e culturais externas; maior facilidade de acesso aos serviços da medicina moderna devidos aos avanços ocorridos no meio técnico-científico, sobretudo no âmbito das ciências da saúde com o uso de medicamentos industrializados, gradativamente introduzidos no cotidiano das pessoas modernas, através de campanhas publicitárias que prometem curar as mais diversas doenças (AMOROZO, 2002).

A toxicidade dos medicamentos preparados com plantas pode parecer trivial quando comparada com os tratamentos convencionais, entretanto é um problema sério de saúde pública. Plantas medicinais podem desencadear reações adversas pelos seus próprios constituintes, devido a interações com outros medicamentos ou alimentos, ou ainda relacionados a características do paciente (idade, sexo, condições fisiológicas, características genéticas, entre outros). Erros de diagnóstico, identificação incorreta de espécies de plantas e uso diferente da forma tradicional podem ser perigosos, levando a superdose, inefetividade terapêutica e reações adversas (WHO, 2002). Além disso, o uso desses produtos pode comprometer a eficácia de tratamentos convencionais, por reduzir ou potencializar seu efeito (CAPASSO et al., 2000). O uso de plantas medicinais vem sendo substituído pelos medicamentos alopáticos (AMOROZO, 2002; BADKE et al., 2011).

Por outro lado, a introdução da medicina moderna traz outra opção para as práticas de saúde em locais já estabelecidos e pode não eliminar o uso da medicina popular. Ao invés disso, em muitas instâncias, procedimentos da medicina moderna e da medicina popular são complementares (AMOROZO, 2004).

A atenção dirigida pelas autoridades e administrações de saúde para o uso de plantas medicinais aumentou consideravelmente nos últimos anos, por diferentes razões e em diferentes setores. Incentivos em investimentos públicos em plantas medicinais tem sido feito pela OMS desde 1978, observando-se crescente aceitação da fitoterapia por profissionais de saúde da atenção básica, assim como a observação do aumento de seu uso pela população (HOMAR, 2005).

Atualmente, muitos fatores têm contribuído para o aumento da utilização das plantas como recurso medicinal, entre eles, o alto custo dos medicamentos industrializados, o difícil acesso da população à assistência médica, bem como a tendência ao uso de produtos de origem natural. Acredita-se, que o cuidado realizado por meio das plantas medicinais seja favorável à saúde humana, desde que o usuário tenha conhecimento prévio de sua finalidade, riscos e benefícios. O profissional de saúde, deve considerar tal recurso de origem popular na sua prática de cuidar, viabilizando um cuidado singular, centrado nas crenças, valores e estilo de vida das pessoas cuidadas (ISERHARD et al., 2009).

No Brasil, foi publicada a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no Sistema Único de Saúde (SUS), que visa ampliar as opções

terapêuticas oferecidas aos usuários do SUS, com garantia de acesso a plantas medicinais, fitoterápicos e outros serviços relacionados, com segurança, eficácia e qualidade (Ministério da Saúde, 2006a).

2.2 *Bauhinia Monandra* Kurz

A família das Fabaceas é uma das mais importantes no reino vegetal, com abundante número de gêneros e espécies distribuídos nas suas três subfamílias, Mimosoideae, Papilionoideae e Caesalpinioideae (ENGLER, 1964). Nesta última está presente o gênero *Bauhinia*, constituído aproximadamente 300 espécies, sendo no Brasil, ocorrem cerca de 20% destas (HAVER, 2002), onde são utilizadas na medicina tradicional, vendidas em feiras livres ou encontradas na composição de diversos fitoterápicos (MELO et al., 2011).

Estas espécies apresentam diversas indicações populares, principalmente como adstringente, cicatrizante, anti-inflamatória, antialérgica, tônico, expectorante, hipocolesterolemiantes, hipoglicemiantes, efeito diurético, anti-hipertensiva, anti-inflamatório, antioxidante, inseticida e tendo as flores ação laxativa suave (SILVA; CECHINEL FILHO, 2002; ARGOLLO et al., 2004; ALMEIDA et al., 2006; ALBUQUERQUE, 2006; ALBUQUERQUE et al., 2007; AGRA, FREITAS; BARBOSA-FILHO, 2007; CARNEIRO et al., 2014).

Pertencente a subfamília Caesalpinioideae e gênero *Bauhinia*, a espécie *Bauhinia monandra* Kurz, é conhecida vulgarmente como “pata-de-vaca” na Amazônia onde possui grande valor econômico, e também por “Unha-de vaca” e “Orquídea dos pobres” (BORGES; MENDONÇA, 2009), utilizada com fins ornamental, forrageiro e principalmente medicinal (MARTINS et al., 1995). É um arbusto ou uma árvore perene com uma coroa arredondada e que chega a crescer entre 3 a 15 metros de altura. Apresentam flores róseas ou brancas que possuem apenas um estame, sendo essa a característica que nomeou a espécie (SILVA; CECHINEL FILHO, 2002) (Figura 1).

Muitas vezes é cultivada por suas flores serem elegantes e folhagens ornamentais. É popularmente plantada em jardins de rua nas regiões tropicais da Austrália, América, Ásia e na Índia ocidental (KEAY, 1989). Crescem em solos secos e pouco ricos em nutrientes e seu fruto é tipicamente um legume, chamado de vagem (ALVES; BRETT, 2002). Em Pernambuco, podem ser encontradas espécies nativas

como *B. chelantha* Stend, *B. forficata* Link, *B. heterandra* Benth, *B. membranacea* Benth, *B. monandra* Kurz, entre outras (ALVES et al., 2000).

As sementes de *B. monandra* são fontes ricas de vitamina A e contêm uma quantidade elevada de ácido linoleico e baixa quantidade de ácido mirístico (KEAY, 1989). Segundo pesquisas, a *B. monandra* tem potencial antidiabético contra diabetes induzida experimentalmente em ratos (MCCUNE; JOHNS, 2002) e este potencial antidiabético tem sido ligado à presença de componentes antioxidante (ANOSIKE, OBIDOA; EZEANYIKA, 2012). Estudos demonstraram o potencial antioxidante do extrato de folhas de *B. monandra* por meio de suas ações inibitórias in vitro sobre radicais livres de DPPH, radicais de peróxido de hidrogênio e radicais livres de íons ferrosos (NWORIE; OKORIE, 2018).



Figura 1: *Bauhinia monandra* Kurz (Fonte: pessoal).

Argolo et al. (2004), demonstram que os extratos clorofórmicos e acetato de etila das folhas de *B. monandra* Kurz contém compostos com significantes efeitos antioxidantes (flavonoides e esteroides). Já o extrato etanólico apresentou atividade hipoglicemiante em ratos com diabetes tipo 2 induzida e acredita-se que essa atividade esteja relacionada com a forte ação antioxidante demonstrada nos experimentos. Fernandes et al. (2012) detectaram a presença de rutina no extrato hidroetanólico das folhas de *B. monandra*.

2.3 Lectina

O termo lectina, origina do latim “lectus” (que significa selecionado ou escolhido), foi introduzido por Boyd & Shapleigh no ano de 1954, para indicar um

grupo de proteínas que apresentam característica de se ligarem de um modo específico e seletivo a resíduos de carboidratos de uma forma não covalente (HONG et al., 2001; SHARON & LIS, 2004) e são conhecidas como aglutinina, devido à capacidade de aglutinar eritrócitos ou outras células (PEUMANS; VAN DAMME, 1995; KENNEDY et al., 1995; MATSUI et al., 2001).

Em 1888, datam os primeiros relatos sobre as lectinas descrito por Stillmark, a partir de uma preparação proteica parcialmente pura, obtida da *Ricinus communis* (mamona), a qual foi denominada ricina. Desde o momento que a ricina mostrou aglutinar as células vermelhas do sangue, o termo hemaglutinina vem sendo também utilizado (VANDENBORRE, SMAGGHE; VAN DAMME, 2011) e somente no ano de 1954 Boyd e Shapleigh propuseram o termo lectina para definir essas proteínas.

A ricina, foi a primeira lectina de origem vegetal a ser descoberta e é uma proteína heterodimérica (dois monômeros não idênticos) com especificidade para Galactose e N-acetil galactosamina (LORD, 1994). Chegando na década de 60, pesquisadores descobriram que as lectinas promoveram estimulação miogênica de linfócitos e da inibição do crescimento de células tumorais (SHARON; LIS, 2001).

As Lectinas são consideradas de natureza ubíqua, pois estão presentes em todas as classes e famílias de organismos, sendo encontradas em vegetais superiores em todos os tecidos, como nas folhas (COELHO; SILVA, 2000), cascas, bulbos, tubérculos (RÜDIGER; GABIUS., 2001), sementes (SHARMA et al., 2010), raízes (SOUZA et al., 2011), frutos, rizomas (PEUMANS et al., 2001), cerne (SÁ et al., 2009), também podemos encontrar em algas, fungos, bactérias, vírus, animais (vertebrados e invertebrados) e também em células-tronco embrionárias (ALVAREZ-MANILLA et al., 2010).

A maioria das lectinas de origem vegetal é obtida de semente, principalmente de leguminosas, onde são acumuladas no período de maturação e desaparecem após a germinação (ALENCAR et al., 2005). Já as lectinas de origem bacteriana, viral e animal possuem a função de mediar vários eventos de reconhecimento biológico como na defesa do hospedeiro, fertilização, no desenvolvimento, metástase tumoral e inflamação (CAVADA et al., 2001).

As lectinas vegetais apresentam uma diversidade estrutural em relação ao seu domínio ligante, onde foram classificadas em: Merolectinas que possuem um único domínio ligante a carboidrato; Hololectinas com no mínimo dois domínios idênticos ou

homólogos; Quimerolectinas com um ou mais domínios ligantes, associados com outro domínio distinto e as Superlectinas que possuem no mínimo dois domínios ligantes a carboidrato estruturalmente idênticos (PEUMANS; VAN DAMME, 1998).

Diante de sua diversidade estrutural, cada lectina pode apresentar características próprias, em uma variedade de especificidades, podendo interagir com glicoproteínas, oligossacarídeos ou monossacarídeos específicos (SHARON, 2008).

As interações entre lectinas e carboidratos ocorrem através de especificidade com ligações reversíveis de determinada lectina com glicoproteínas ou grupo de carboidratos (oligossacarídeos) ou um carboidrato específico (WU et al., 2006). Sabendo que a seletividade é obtida por pontes de hidrogênio, interações de Van der Waals, coordenações metálicas, interações hidrofóbicas entre a lectina e o carboidrato (SHARON, 2008) e na interação mediada diretamente por moléculas de água (YOSHIZUMI et al., 1999).

Em sua estrutura, as lectinas apresentam um ou mais sítios de ligação para as unidades glicídicas. Elas são glicoproteínas de origem não-imunológica que podem ligar carboidratos e aglutinar células (ISKRATSCHE et al, 2009) (Figura 2A). No entanto, carboidratos específicos podem ligar-se a lectinas impedindo a aglutinação de células (RANTANAPO et al., 1998) (Figura 2B).

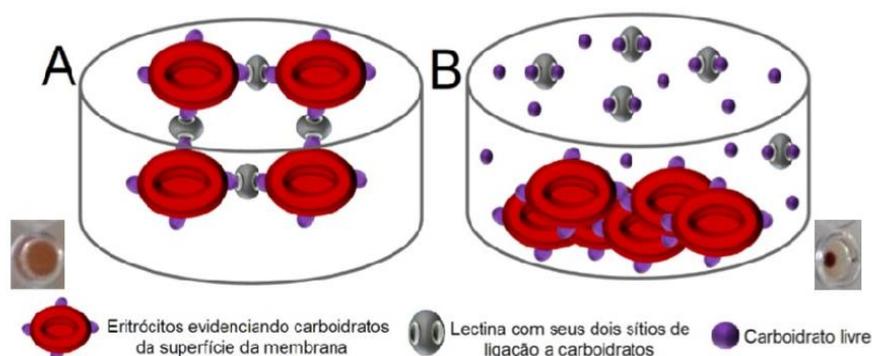


Figura 2: Atividade hemaglutinante utilizando eritrócitos humanos ou de outros animais, empregado para detecção da presença de lectinas em determinada amostra. (B) Ensaio de inibição da atividade hemaglutinante realizado em presença de carboidratos livres com o objetivo de confirmar a presença de lectinas em amostras contendo atividade hemaglutinante, ou de determinar a especificidade das lectinas detectadas. Adaptado de Lima et al., 2018.

A investigação da atividade hemaglutinante das lectinas em determinada solução, pode ser através de um extrato ou uma proteína pura, onde se dá devido à capacidade das lectinas em aglutinar eritrócitos, os quais podem ser tratados enzimaticamente por tripsina, como também quimicamente por glutaraldeído ou formaldeído (MO et al., 2000). A hemaglutinação permite a avaliação da estabilidade da lectina a valores de pH e temperatura e pode determinar as condições a serem usadas na aplicação biotecnológica de lectina (PAIVA et al., 2010) (Figura 3).



Figura 3: Visualização do ensaio para detecção da presença de lectinas utilizando eritrócitos de coelho mostrando a ausência de atividade hemaglutinante e a formação da malha de hemaglutinação (Fonte: pessoal).

Sobre sua ação, segundo pesquisas, as lectinas nos animais participam no processo da endocitose, transporte intracelular de glicoproteínas (MECKLENBURG et al., 2002), apoptose (SUZUKI et al., 2008), defesa contra microrganismos, na regulação da migração e adesão celular (JANKOVIC; GOLUBOVIC, 2000), influência na homeostasia de leucócitos e na modulação de processos inflamatórios (STOWELL et al., 2008). As lectinas têm demonstrado também um papel importante na área de microbiologia, pois demonstram ação contra o crescimento de bactérias gram-negativas e gram-positivas, além de ação contra fungos (KNAUT, 2016), devido a sua capacidade em reconhecer sutis diferenças na estrutura de carboidratos complexos presentes na superfície celular de bactérias e fungos (LUO et al., 2007).

Essas proteínas possuem ação pró-inflamatória devido a indução proliferativa de linfócitos, atuando como agente mitogênico útil para o estudo de interação da lectina com células linfocitárias *in vitro* (KIPATRICK, 1999), como também participando na produção de macrófagos e atuando com efeito cicatrizante (PEREIRA et al., 2012). Algumas lectinas apresentam atividade antitumoral devido a sua ação imunomodulatória (TIMOSHENKO et al., 2001), aplicada na pesquisa do câncer devido habilidade em detectar alterações em células malignas e redução do potencial

tumoral (SINGH, SINGH; KAMBOJ, 2004). Também apresentam potencial inseticida com aplicação biotecnológica no controle de pragas agrícolas (SANTOS et al., 2013).

A BmoLL, uma lectina específica a galactose, é purificada a partir das folhas da *Bauhinia monandra*, através do fracionamento com sulfato de amônio (0-60%) seguido pela cromatografia de afinidade em gel de guar (COELHO; SILVA, 2000). Comporta-se de modo interfacial e possui habilidade de interagir com monocamadas de lipídios por medidas de tensão de superfície (ROSILIO et al., 2004).

Entre suas aplicações biológicas, BmoLL reconheceu de forma seletiva os diferentes sorotipos de dengue, atribuindo-se aos diferentes padrões de glicoproteínas nos soros produzidos pela resposta imune a partir de pacientes infectados pelo vírus da dengue (ANDRADE et al., 2011), apresentando ação inseticida contra larvas de *Zabrotes subfasciatus* e *Anagasta kuehniella* (MACEDO et al., 2007) e possível efeito antioxidante não apresentando genotoxicidade nem citotoxicidade em células e bactérias (SISENANDO et al., 2009).

2.4 Pele

A pele é o maior e mais complexo órgão dos animais vertebrados, desempenhando várias funções importantes como na manutenção da homeostase controlando a perda de água e proteínas, apresenta receptores sensoriais, age como órgão do sentido, participa da termorregulação corpórea, proteção contra agentes externos (químico, físico e biológico), produção de vitamina D e principal barreira de proteção do organismo. Há mais de 150 anos, a pele foi descrita por Virchow como um envoltório com função de revestimento e proteção a órgãos mais complexos (VIRCHOW, 1860).

Durante os últimos anos, estudos têm demonstrado que a pele também é um órgão funcionalmente sofisticado. Suas interações celulares e moleculares são complexas e ocorre renovação e reparo de seus componentes a todo o momento. É um tecido altamente dinâmico, capaz de responder a alterações no ambiente externo e interno e isto permite que muitas das manifestações do organismo se expressem por alterações cutâneas (BARBOSA, 2011).

Anatomicamente, a pele é dividida em três partes: a epiderme que compreende a parte superficial, a derme que fica logo abaixo da epiderme, tendo a presença da

membrana basal separando essas camadas e logo abaixo da derme, temos a hipoderme (Figura 4).

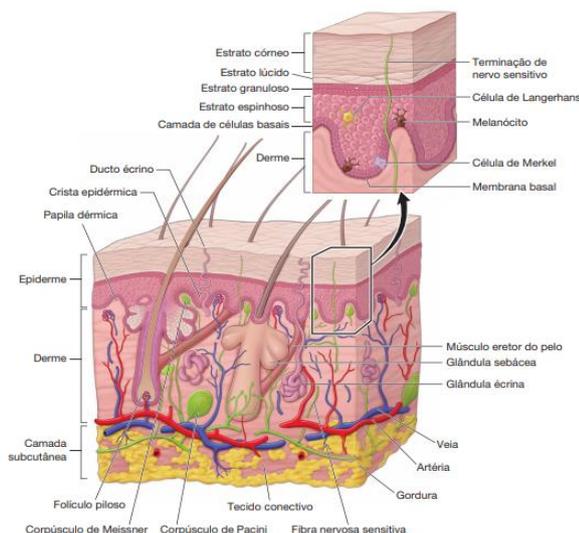


Figura 4: Imagem ilustrativa da pele, identificando suas 3 camadas (Fonte: BOHJANEN, 2015)

A epiderme é formada por camadas de células diferenciadas pela morfologia, grau de maturação e profundidade, que são elas: a camada basal (estrato germinativo), a camada espinhosa, a camada granulosa, o estrato lúcido e a camada córnea. As mais superficiais são justapostas umas às outras e cobertas por queratina. Daí segue a sua denominação histológica: tecido epitelial plano/pavimentoso estratificado queratinizado (BARBOSA, 2011).

As células da camada mais profunda da epiderme, a camada basal, dividem-se continuamente, diferenciam e se tornam achatadas passando a fabricar e a acumular dentro de si quantidades crescentes de queratina, uma proteína resistente e impermeável, integrante da pele, dos cabelos e das unhas. As células mais superficiais, ao se tornarem repletas de queratina, perdem o núcleo e passam a constituir um revestimento resistente ao atrito e altamente impermeável à água, denominado camada queratinizada ou córnea. O tempo de maturação de uma célula basal até atingir a camada córnea é de, aproximadamente, 26 a 28 dias (CESTANI, 2018).

A epiderme contém, junto à camada basal, os queratinócitos que são células responsáveis pelo processo de queratinização, pela formação de filamentos de queratina, em associação com desmossomos, hemidesmossomos e a membrana

basal possibilitam a integridade estrutural da epiderme (URMACHER, 1997) e garantido a sua renovação. Na camada basal também podemos encontrar os melanócitos, que são células onde estendem seus prolongamentos dendríticos superiormente até as outras células epidérmicas, sendo responsáveis pela pigmentação da pele, os quais sintetizam a melanina que tem ação protetora contra a radiação ultra-violeta, este pigmento é progressivamente transferida aos queratinócitos (WATT, 1988).

Durante a diferenciação epidérmica, os queratinócitos sofrem modificações morfológicas e biológicas. A partir da camada basal, eles movem-se através das camadas espinhosa e granulosa e fixam-se na camada mais superficial (córnea), constituindo então estruturas multilamelares de corneócitos anucleados, circundados por lipídeos extracelulares (TAUBE et al., 2000).

Outras células que podemos encontrar na epiderme, são as células de Langerhans, que reconhecem e processam sinais antigênicos e os comunicam às células linfoides e também possuem morfologia dendrítica e as células de Merkel basais, que são células neuroendócrinas as quais atuam na proliferação de queratinócitos e parecem ter papel na regulação de doenças cutâneas (BOULAIS et al., 2009).

A epiderme não possui vascularização, ela recebe seus nutrientes por contiguidade com a derme (GAWKRODGER, 2002). A adesão da epiderme à derme ocorre pela projeção de cristas epidérmicas, enquanto a derme se projeta superiormente pelas papilas dérmicas. A interface entre estas camadas é conhecida como junção dermoepidérmica ou zona da membrana basal (BARBOSA, 2011).

A derme, está localizada sob a epiderme e apresenta espessura variável de 0,3 a 3 milímetros, de acordo com a região do corpo. É um tecido de sustentação da epiderme, formado por um denso estroma fibroelástico de tecido conectivo, em meio à substância fundamental, que serve de suporte para extensas redes vasculares, nervosas e anexos cutâneos que derivam da epiderme. Os principais componentes da derme incluem o colágeno (70% a 80%), que confere a resistência; a elastina (1% a 3%), que dá a elasticidade; e os proteoglicanos, que constituem a substância amorfa em torno das fibras colágenas e elásticas; além de fibras proteicas, fibras de reticulina, vasos sanguíneos e linfáticos, terminações nervosas, órgãos sensoriais, folículos pilosos e glândulas sudoríparas e sebáceas (CESTANI, 2018).

Todo esse conjunto está envolvido pela substância fundamental, que contém, ainda, vários tipos celulares como fibroblastos, macrófagos, mastócitos, leucócitos (como neutrófilos, eosinófilos, linfócitos, monócitos e plasmócitos), linfócitos T e células dendríticas, envolvidas com a defesa imunológica da pele (Tabela 1). As fibras e a substância fundamental são produzidas pelos fibroblastos, as principais células da derme (CESTANI, 2018).

Tabela 1: Função de algumas células presentes na derme. Adaptado de JUNQUEIRA; CARNEIRO (2013)

Células	Funções
Fibroblastos	Produção de moléculas da matriz extracelular (fibras e substância fundamental)
Macrófagos	Fagocitose de substâncias estranhas e bactérias, processadora e apresentadora de antígenos, secreção de citocinas e fatores quimiotáticos que participam da inflamação
Mastócitos	Defesa imunológica, participa da re-epitelização e revascularização do tecido, remodelação da matriz conjuntiva
Leucócitos	Proteger o organismo contra infecções
Linfócitos	Participa da defesa imunológica
Células Dendríticas	Identifica a infecção e desenvolvimento da resposta imune

As fibras colágenas perfazem cerca de 70% da derme e são responsáveis pela rigidez e força desta camada. Além disto, a fisiologia e a reparação da pele dependem da síntese e da degradação do colágeno (AZULAY; AZULAY, 1999). As fibras elásticas conferem elasticidade ao tecido. Elas formam uma rede que se estende desde a junção dermo-epidérmica até a hipoderme. Também estão dispostas ao longo dos folículos pilosos e do endotélio vascular. A substância fundamental amorfa da pele é constituída basicamente por glicosaminoglicanos (ácido hialurônico, sulfato de dermatan ou condroitino sulfato B, sulfato de heparana, sulfato de condroitina e sulfato de queranato). Esta substância permite a adesão de diversos componentes do meio extracelular (BARBOSA, 2011).

A derme é constituída por duas camadas: a papilar, superficial, e a reticular mais profunda. A derme papilar acompanha a camada basal, é mais delgada, altamente vascularizada e preenche as concavidades entre as cristas epidérmicas, dando origem às papilas dérmicas. É formada por feixes delicados de fibras colágenas

(principalmente do tipo III) e elásticas, dispostas em uma rede frouxa, circundada por abundante gel de mucopolissacarídeos. Na derme papilar, as fibras colágenas e elásticas estão orientadas verticalmente e a substância fundamental é mais abundante do que na derme reticular, porém, menos espessa, rica em tecido conjuntivo frouxo e fibroblastos, além de vasos sanguíneos de menor espessura e calibre (CESTARI, 2018) que são responsáveis pela nutrição e oxigenação da epiderme (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

A derme reticular representa 4/5 da espessura da derme, estando localizada abaixo do nível das cristas epidérmicas. É constituída por tecido conjuntivo denso e contém fibras colágenas espessas (principalmente do tipo I) entrelaçadas, com direção paralela à epiderme, misturadas com fibras elásticas (responsáveis, em partes, pela elasticidade da pele), dispostas paralelamente à superfície da pele, reunidas com a substância fundamental (CESTARI, 2018). Além dos vasos sanguíneos e linfáticos, e dos nervos, também são encontrados na derme estruturas derivadas da epiderme: folículos pilosos, glândulas sebáceas e glândula sudoríparas (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2013).

A hipoderme (do grego hipo = abaixo; derma = pele), também denominada de tecido celular subcutâneo ou panículo adiposo, é a camada mais profunda da pele, localizada abaixo da derme e unindo-a à fáscia muscular subjacente. É um tecido complexo constituído por adipócitos, que são células especializadas no armazenamento de gordura. Esse tecido está localizado em lóbulos de gordura divididos por septos fibrosos compostos de colágeno, por onde correm vasos sanguíneos, linfáticos e nervos (CESTARI, 2018).

As principais funções da hipoderme são: reservatório energético, isolante térmico, protetora contra choques mecânicos, modeladora da superfície corporal e fixadora dos órgãos. A espessura e a consistência da hipoderme variam de modo individual e conforme as diferentes regiões do corpo. Nos mamilos, nádegas e abdômen, a hipoderme é mais espessa e mole. Nos calcanhares, palmas e fronte, é menos espessa, menos fibrosa e menos elástica (CESTARI, 2018).

2.5 Ferida

É qualquer interrupção na continuidade de um tecido corpóreo, em maior ou menor extensão, causada principalmente por trauma ou desencadeada por uma afecção clínica. Podem ser agudas e de fácil cicatrização ou crônicas quando ultrapassam seis semanas para cicatrizar (MANDELBAUM, DI SANTIS; MANDELBAUM, 2003). As feridas podem ser classificadas quanto a etiologia, complexidade e tempo de existência (KANJ, WILKING; PHILLIPS, 1998). O interesse da medicina pelos cuidados com a perda de continuidade do tecido vem desde a Antiguidade (JONES; NELSON, 2005), tendo com os métodos clínicos e cirúrgicos para o tratamento das feridas.

Quanto à complexidade, a ferida é considerada como simples, sendo aquela que evolui espontaneamente para a resolução, seguindo os três estágios principais da cicatrização fisiológica: inflamação, proliferação celular e remodelagem tecidual (ISAAC et al., 2010). Já lesões que acometem áreas extensas e/ou profundas, que necessitam de recursos especiais para sua resolução, têm seu processo de evolução natural alterado e representam ameaça à viabilidade de um membro ou feridas recorrentes que reabram ou necessitem de tratamento mais elaborado, são denominadas feridas complexas (FERREIRA et al., 2006).

O reparo tecidual é um processo complexo, que envolve a interação entre células estromais e circulatórias que são ativadas por uma plêiade de mediadores de natureza química, fragmentos de células, matriz extracelular, por alterações físico-químicas no microambiente da lesão e das áreas a ela circunjacentes (PAVLETIC, 2010), o reparo conta também com a proliferação e crescimento das células da derme (como os fibroblasto) e da epiderme (queratinócitos e melanócitos) remanescentes (JANSSON, HAEGERSTRAND; KRATZ, 2001).

A perda tecidual pode atingir a derme completa ou incompletamente ou mesmo atingir todo o órgão, chegando ao tecido celular subcutâneo, com isso, a ferida é dividida em dois tipos: ferida de espessura parcial, que ocorre após muitos procedimentos dermatológicos como a dermoabrasão, o *resurfacing* por laser ou peelings químicos; pode também ser causada por traumatismos. A reparação faz-se pela reepitelização dos anexos epiteliais ou epitélio derivado da pele adjacente não

acometida, tendo como resultado uma cicatriz praticamente imperceptível (FAZIO, ZITELLI; GOSLEN, 2000).

Já as feridas de espessura total, necessitam da formação de um novo tecido, o tecido de granulação; a epitelização, base da cicatrização nas feridas de espessura parcial, acontece apenas nas margens da ferida. Nesse caso, a cicatriz é totalmente perceptível e, muitas vezes, pronunciada (FAZIO, ZITELLI; GOSLEN, 2000).

No momento que a pele sofre uma lesão, seja qual for a natureza, é interrompida a continuidade tecidual, alterando a fisiologia da pele e ativando o sistema primário de defesa do organismo (ISAAC et al., 2010). O rompimento desta solução de continuidade tecidual em região vascularizada tem como consequência o extravasamento de sangue, que preenche a área lesada com plasma e plaquetas. A coagulação é iniciada pelas plaquetas e fibrinas, logo após a injúria com ativação da cascata de coagulação, aumento da permeabilidade vascular e liberação de proteínas plasmáticas, aminas vasoativas e dentre outros mediadores (BEANES et al., 2003).

No Brasil, as feridas acometem a população de uma forma geral, independente do sexo, idade ou etnia, determinando um alto índice de pessoas com alterações na integridade da pele, constituindo assim, um sério problema de saúde pública. Porém não há dados estatísticos que comprovem este fato, devido os registros desses atendimentos serem escassos. Contudo, o surgimento de feridas onera os gastos públicos e prejudica a qualidade de vida da população (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2002).

2.6 Processo Cicatricial

É um processo pelo qual um tecido lesado é substituído por tecido conjuntivo vascularizado, quer a lesão tenha sido traumática ou necrótica (PANOBIANCO et al., 2012). A cicatrização de feridas consiste em uma perfeita e coordenada cascata de eventos celulares e moleculares que interagem para que ocorra a repavimentação e a reconstituição do tecido (ORTONNE; CLÉVY, 1994). Tal evento é um processo dinâmico que envolve fenômenos bioquímicos e fisiológicos que se comportam de forma harmoniosa a fim de garantir a restauração tissular (MANDELBAUM, DI SANTIS; MANDELBAUM, 2003). Assim sendo, o processo de cicatrização tem como finalidade restabelecer a homeostasia tecidual (CAVALCANTE et al., 2012).

O início da cicatrização ocorre após a criação de uma ferida, definida como uma lesão corporal que normalmente envolve laceração ou ruptura de uma membrana e danos aos tecidos subjacentes. A lesão superficial pode ocorrer pela ação de agentes mecânicos ou térmicos, que levam à ruptura da pele ou de outros órgãos e danos ao tecido e sua vascularização. Em seguida ocorre o sangramento, a lesão de endotélio e o extravasamento de proteínas intravasculares e extravasculares (MEDEIROS, 1992).

O processo de reparação tecidual é dividido em fases, de limites não muito distintos, mas sobrepostas no tempo, onde podemos dividir em coagulação, inflamação, proliferação e remodelação (Tabela 2).

Tabela 2: Fases do processo cicatricial. Adaptado de MANDELBAUM, DI SANTIS; MANDELBAUM, 2003

Fases	Funções
Coagulação	Ocorre logo após o surgimento da ferida, formando uma matriz provisória e liberação de substâncias que ditam o desencadeamento das fases seguintes
Inflamação	Presença de células inflamatórias, vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular
Proliferação	Fechamento da ferida, ocorrem os processos da formação de tecido de granulação, angiogênese, epitelização e deposição de colágeno
Remodelação	Diminuição do tamanho da cicatriz e aumento da força de tensão, reorganização da nova matriz

A fase coagulativa, inicia-se logo após o surgimento da ferida, ocorrendo a vasoconstrição e a formação de coágulo, levando à cessação do sangramento. Essa fase depende da atividade plaquetária e da cascata de coagulação (TERKELTAUB; GINSBERG, 1998). As plaquetas são as primeiras células a atuarem na resposta à lesão e quando ativadas, contribuem para hemostasia através do processo de adesão, agregação e desgranulação (FURIE; FURIE 2008).

A agregação plaquetária no meio da matriz de fibrina forma um coágulo (que atua na cooptação das bordas da ferida) e o trombo (impede o sangramento contínuo), estabelecendo uma barreira protetora contra agentes exógenos, e fornecendo um

reservatório de substâncias liberadas pela desgranulação das plaquetas (ROZMAN; BOLTA, 2007).

A desgranulação, envolve a liberação de diversas citocinas, fatores de crescimento e de proteínas da matriz armazenada dentro dos grânulos alfa das plaquetas. Estas substâncias promovem mecanismos celulares e extracelulares importantes para hemostasia, bem como para várias outras fases da cura das feridas: deposição de matriz, quimiotaxia (migração de neutrófilos), proliferação celular, angiogênese e remodelamento (ROZMAN; BOLTA, 2007).

Após a hemostasia tem início imediato os mecanismos da inflamação, evidenciada através de alguns sinais físicos, como no eritema, calor, edema e dor, e a nível celular a inflamação é representada pela dilatação dos vasos, aumento da permeabilidade vascular e no recrutamento das células inflamatórias, como os leucócitos, macrófagos e linfócitos para o local da lesão. Ambos apresentam função crítica no desbridamento das feridas, no entanto os macrófagos promovem também o recrutamento e ativação de outras células necessárias para as etapas subsequentes na cicatrização (ROZMAN; BOLTA, 2007; FURIE; FURIE 2008).

As reações inflamatórias podem ser agudas ou crônicas. Quando agudas têm duração de no máximo alguns dias. Suas características principais são a presença de exsudato (líquido inflamatório extravascular com concentração proteica elevada e grande quantidade de restos celulares) e migração de leucócitos. Na inflamação crônica a duração é prolongada, o que permite o surgimento de um novo padrão histológico com neovascularização, fibrose, necrose tecidual e a presença de linfócitos e macrófagos. Nas lesões crônicas de pele a camada epidérmica sofre hipertrofia (aumento do tamanho das células) e hiperplasia (aumento do número de células), enquanto na derme transcorre fibrose (BARBOSA, 2011).

Intimamente ligada à fase de coagulação, a inflamação depende, além de inúmeros mediadores químicos, das células inflamatórias, como os leucócitos macrófagos e linfócitos. Os Neutrófilos são as primeiras células a chegarem à ferida, com maior concentração 24 horas após a lesão. São atraídos por substâncias quimiotáticas liberadas pelas plaquetas. Os Neutrófilos aderem à parede do endotélio mediante ligação com as selectinas (receptores de membrana) e produzem radicais livres e de enzimas proteolíticas que auxiliam na destruição bacteriana, (BROUGHTON, JANIS; ATTINGER, 2006).

O papel secundário dos neutrófilos é manter a fase inicial do processo inflamatório através da excreção de citocinas (EFRON et al., 2005; SCHMAIER, 2008) como a TNF- α que amplifica quimiotaxia de neutrófilos e estimula macrófagos, queratinócitos, fibroblastos e expressão de fatores de crescimento necessários na angiogênese e síntese de colágeno (EFRON et al., 2005), sendo gradativamente substituídos pelos macrófagos (BROUGHTON, JANIS; ATTINGER, 2006).

Os macrófagos são células inflamatórias mais importantes dessa fase. Derivados de monócitos extravasados, os macrófagos apresentam capacidade fagocítica, além de atuarem como células apresentadoras de antígenos, fonte de fatores de crescimento e mediadores bioquímicos que ditam e sustentam o processo de cicatrização (MANDELBAUM, DI SANTIS; MANDELBAUM, 2003). Os macrófagos são necessários para apoiar o recrutamento e ativação celular, a síntese da matriz extracelular, a angiogênese e a remodelação. Estimulam a formação de fibroblastos, a síntese do colágeno pelos fibroblastos e a neoformação de vasos sanguíneos na ferida. Ao contrário dos neutrófilos, os macrófagos permanecem dentro de um ferimento até a sua cura completa (EFRON et al., 2005; EMING, KRIEG; DAVIDSON, 2007; CHILDS; MURTHY, 2017).

Os linfócitos aparecem na ferida em aproximadamente uma semana, porém sua participação para a cicatrização não é totalmente conhecida. Aproximadamente, entre seis a sete dias após a injúria, a quantidade de linfócitos que aparece na ferida é menor que na circulação. Elas secretam linfocinas importantes, como o fator de inibição da migração (MIF), interleucina-2, fator de ativação de macrófago (MAF) e fatores quimiotáticos, além de aumentar o estágio inicial da cicatrização através da estimulação de macrófagos, células endoteliais e fibroblastos (NETO, 2003).

Além da presença dos neutrófilos, macrófagos e linfócitos na fase inflamatória, estão presentes também os mastócitos que podem alcançar um aumento cinco vezes maior em número no local da lesão (CHILDS; MURTHY, 2017). Essa célula é proveniente do tecido conjuntivo que auxiliam no mecanismo de defesa imunológica, estando envolvidos em reações de hipersensibilidade, respostas imunes locais, como na expulsão de alguns patógenos (KRISHNASWAMY et al., 2006).

Atuando na fase inflamatória, o mastócito participa na reepitelização, revascularização do tecido lesado, na deposição de tecido conjuntivo temporário

e na remodelação da matriz conjuntiva (ARTUC et al., 2006). Grânulos do citoplasma dos mastócitos contêm histamina, citocinas (TNF- α), prostaglandinas e protease. A sua desgranulação leva ao aumento da permeabilidade vascular, ativação celular, deposição de colágeno, e remodelação dos tecidos em cicatrização (CHILDS; MURTHY, 2017).

Quando os mastócitos são ativados, aumentam em número, tamanho e granulosidade (BEZERRA et al., 2003). Desta forma, a relação da população de mastócitos, inflamação e reparo tem sido extensivamente pesquisada na literatura, especialmente em modelo animal (MUSSED et al., 2003; RIBEIRO, 2006; NETTO et al., 2007).

Os eventos da inflamação se levam ao desbridamento e limpeza da ferida. Uma vez desbridada, a cicatrização das feridas entra em uma etapa conhecida como fase proliferativa. A proliferação ocorre no período de 4 a 12 dias pós-lesão. Durante este período, fibroblastos, células musculares lisas, células endoteliais e células epiteliais começam a cobrir o local da lesão. Essas células restabelecem a continuidade do tecido através da deposição da matriz, angiogênese e da epitelização (CHILDS; MURTHY, 2017).

A fase proliferativa é constituída por quatro etapas fundamentais: formação do tecido de granulação, angiogênese, epitelização e deposição de colágeno. Nesta fase ocorre a reparação do tecido conjuntivo e do epitélio. Na reparação do tecido conjuntivo ocorre a formação do tecido de granulação, com proliferação endotelial e de fibroblastos (SARANDY, 2007), célula crítica na formação da matriz. Longe de ser apenas produtor de colágeno, o fibroblasto produz elastina, fibronectina, glicosaminoglicano e proteases, estas responsáveis pelo desbridamento e remodelamento fisiológico (VAN WINKLE, 1967).

Os fibroblastos dos tecidos vizinhos migram para a ferida, porém precisam ser ativados para sair de seu estado de quiescência. O fator de crescimento mais importante na proliferação e ativação dos fibroblastos é o PDGF (BROUGHTON, JANIS; ATTINGER, 2006). Em seguida é liberado o TGF- β , que estimula os fibroblastos a produzirem colágeno tipo I e a transformarem-se em miofibroblastos, que promovem a contração da ferida (CAMPOS, BORGES-BRANCO; GROTH, 2007).

A síntese e secreção de componentes da matriz extracelular tem início devido a presença dos fibroblastos, com a secreção de glicosaminoglicanos e fibras

colágenas tipo I e III, associadas à proliferação e ao crescimento interno dos capilares (angiogênese) (KUMAR et al., 2005). Como consequência da angiogênese, o tecido conjuntivo é formado, recebendo a denominação de tecido de granulação, devido a sua aparência granular, pela presença de inúmeros capilares (WERNER; GROSE, 2003).

A angiogênese é estimulada pelo fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), e é caracterizada pela migração de células endoteliais e formação de capilares, essencial para o suprimento de oxigênio e nutrientes à cicatrização (CAMPOS, BORGES-BRANCO; GROTH, 2007). Começa nos primeiros dias após a lesão vascular e pode tornar-se evidente em cerca de 4 dias após a lesão. As células endoteliais de vênulas intactas migram da periferia para a borda da ferida e novos capilares são formados (RAJA, GARCIA; ISSEROFF, 2007).

A ação direta dos fatores de crescimento principalmente o VEGF (fator de crescimento endotelial vascular) sobre as células endoteliais dos vasos, a indução da angiogênese é também influenciada pela baixa tensão de oxigênio que ocorre no centro da ferida (KNIGHTON, SILVER; HUNT, 1981). Ainda sob estímulo dos fatores de crescimento, as células endoteliais dos vasos intactos, as margens das feridas passam a secretar colagenase e ativador de plasminogênio que promove aberturas na membrana basal, permitindo a migração destas células em direção a área lesada, sofrendo diferenciações para formação de novos tubos capilares (BALBINO, PEREIRA; CURI, 2005).

Nas feridas fechadas, neovasos de bordas opostas coalescem para revascularizar da ferida, já em feridas abertas os novos capilares de uma ferida fundem-se e crescem na mesma direção, o que contribui para a formação do tecido de granulação (HUNT, 2006). Os eventos da angiogênese são regulados pelos fatores de crescimento (TNF-a, TGF-b, VEGF, FGF, PDGF) derivados de plaquetas, macrófagos e células endoteliais danificadas (RAJA, GARCIA; ISSEROFF, 2007). Além destes mediadores, o ambiente metabólico da ferida influencia a angiogênese. Em condições de isquemia, o aumento de lactato, juntamente com a diminuição do pH e oxigênio contribuem para a inibição da angiogênese (SCHUGART et al, 2008).

No mesmo modo que a angiogênese, a epitelização ocorre precocemente. Se a membrana basal estiver intacta, as células epiteliais migram em direção superior, e as camadas normais da epiderme são restauradas em três dias. Se a membrana basal

for lesada, as células epiteliais das bordas da ferida começam a proliferar na tentativa de restabelecer a barreira protetora (LAWRENCE; DIEGELMANN, 1994). A epitelização restabelece a barreira externa que minimiza as perdas de líquidos e a invasão bacteriana (CHILDS; MURTHY, 2017).

Os eventos da epitelização são influenciados por sinalizações intercelulares, fatores do crescimento e pelas condições metabólicas intrínsecas da própria ferida. A baixa tensão de oxigênio que ocorre após a lesão estimula a produção de TGF- β , que ajuda a diferenciação das células epiteliais permitindo a migração e mitogênese. O TGF- β e o fator de crescimento de queratinócitos (KGF) estimulam diretamente a replicação celular (RAJA, GARCIA; ISSEROFF, 2007).

O último fenômeno da fase proliferativa é a deposição do colágeno, iniciando na primeira semana após a lesão e continuando por 12 a 18 meses. Durante este período, a matriz de colágeno continuamente sofre reabsorção e deposição no processo de remodelação. A matriz inicial de colágeno difere em conteúdo e organização daquela do tecido normal, não lesado. A matriz de colágeno da ferida jovem contém de 20% de colágeno tipo III, o que torna essa matriz muito frágil (CHILDS; MURTHY, 2017).

Além disso, as fibrilas de colágeno da matriz são altamente glicosiladas e finas. Elas são dispostas paralelamente e não se entrelaçam. Após uma semana de evolução, a resistência da ferida atinge apenas 3% daquela do tecido normal. As collagenases e proteinases degradam as fibrilas de colágeno jovem e novo colágeno continua sendo depositado pelos fibroblastos (CHILDS; MURTHY, 2017).

Chegando na última fase do processo cicatricial, a remodelação ocorre no colágeno e na matriz; dura meses e é responsável pelo aumento da força de tensão e pela diminuição do tamanho da cicatriz e do eritema. É o período no qual os elementos reparativos da cicatrização são transformados para tecido maduro de características bem diferenciadas (NETO, 2003).

A característica mais importante da remodelação é a deposição de colágeno de maneira organizada e da ocorrência na diminuição da atividade celular, do número de vasos sanguíneos e da perda do núcleo dos fibroblastos, levando à maturação da cicatriz (VIEIRA et al., 2002). O colágeno produzido inicialmente é mais fino do que o colágeno presente na pele normal, e tem orientação paralela à pele. Com o tempo, o colágeno inicial (colágeno tipo III) é reabsorvido e um colágeno mais espesso é

produzido e organizado ao longo das linhas de tensão, diminuindo o número de células, mas aumentando a síntese e a produção de colágeno do tipo I (NETO, 2003; BROUGHTON, JANIS; ATTINGER, 2006).

As fibras de colágeno, dispostas paralelamente às linhas de tensão, formam feixes de várias unidades, preferencialmente inter cruzadas, enquanto as fibras orientadas aleatoriamente são digeridas pela colagenase que são secretadas pelos fibroblastos e leucócitos. O conteúdo aquoso da matriz diminui, aumentando a agregação das fibras de colágeno (NETO, 2003). Estas mudanças se refletem em aumento da força tênsil da ferida. (BROUGHTON, JANIS; ATTINGER, 2006).

Gradativamente os feixes de fibras colágenas tornam-se mais espessos, resultando em uma configuração mais regular, que está diretamente relacionada às forças mecânicas as quais o tecido está sujeito durante a atividade normal. Assim, a lesão torna-se mais resistente após o colágeno ter sofrido maturação (OLIVEIRA, 2008). Com a evolução do processo, acentua-se a deposição de colágeno e a maioria das células desaparece, observando-se a apoptose de fibroblastos e células endoteliais, formando finalmente o tecido cicatricial (BALBINO, PEREIRA; CURI, 2005). Mesmo após um ano a ferida apresentará um colágeno menos organizado do que o da pele sã, e a força tênsil jamais retornará a 100%, atingindo em torno de 80% após três meses (BROUGHTON, JANIS; ATTINGER, 2006).

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Investigar a atividade cicatrizante da lectina BmoLL de folhas da *Bauhinia Monandra* Kurz em ferida cutânea de ratos Wistar, utilizando técnicas macroscópica, histológica e histométrica.

3.2 Específicos

- Isolar a Lectina da folha da *Bauhinia Monandra* Kurz (Pata-de-vaca) por purificação;
- Observar o estado geral dos animais durante 21 dias do pós-operatório;
- Avaliar macroscopicamente o grau de contração de ferida cutânea tratadas com a lectina BmoLL, no 4º, 7º, 14º e 21º dia do pós-operatório;
- Avaliar morfológicamente as feridas cutâneas quanto a formação de crosta, epitelização, inflamação e formação de matriz extracelular por escores;
- Avaliar morfometricamente a cicatrização das feridas pela contagem de vasos sanguíneos, fibras colágenas e mastócitos.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Material vegetal e isolamento da lectina

BmoLL (0.5mg/ml) foi purificada através de um protocolo previamente definido usando uma fração precipitada com sulfato de amônio (0-60%) seguida por cromatografia de afinidade em coluna de gel de guar. A lectina ficou mantida a -20 °C (COELHO; SILVA 2000).

As folhas da *Bauhinia monandra* foram coletadas na Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) no campus Recife, tendo registro nº 33637 pelo Herbário Geraldo Mariz da UFPE.

O pó triturado de folhas de *B. monandra* (15g) foi disposto em um recipiente, para um volume final de 150mL de tampão citrato-fosfato 10mM, contendo NaCl 0,15M, pH 6,5. Manteve-se sob agitação branda, durante a noite (16h), a 4 °C. Então, passou-se o material através de gaze, centrifugado por 15 min a 10.000 rpm em centrífuga refrigerada.

Ao sobrenadante separado, adicionou-se sulfato de amônio para precipitar as proteínas; o material foi mantido sob agitação branda, em temperatura ambiente, por 4h, sendo então centrifugado. O sobrenadante final separado do precipitado (0-60%), o qual foi ressuspenso em um volume final de 20mL. Após diálise com tampão citrato-fosfato 10mM, pH 6,5, a preparação disposta em coluna de afinidade de 10mL de gel de guar, devidamente lavada e zerada com tampão citrato-fosfato 10mM, contendo Na Cl 0,15M, pH 6,5. Após lavagem da coluna a lectina foi eluída com galactose 200mM.

Realizou-se a determinação da atividade hemaglutinante de acordo com Correia e Coelho (1995), e medidas concentrações de proteína por absorbância a 280nm e através de Lowry et al. (1951).

4.2 Elaboração do creme

Creme elaborado através da incorporação do isolamento da lectina (concentração 553,3 µg/ml) das folhas a um veículo (Lanette) seguindo orientação da

farmacotécnica. Procedimento realizado no Laboratório de Bromatologia do Centro Acadêmico de Vitória da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

4.3 Local e Animais

Este experimento teve seu protocolo experimental submetido e aprovado pelo Comitê de Ética da UFPE sob número 0044/2018 para análise de projetos de pesquisa. Foram utilizados 40 ratos macho, da linhagem Wistar aos 3 meses de idade, pesando aproximadamente 300g, provenientes do Biotério do Centro Acadêmico de Vitória (CAV) - UFPE.

Os animais foram acondicionados em gaiolas individuais de policarbonato forradas com maravalha de pinus, mantidas em temperatura ambiente de 22 °C a 25 °C, expostas a fotoperíodo de 12 horas de luz (400 Lux) por 12 horas de escuridão e com acesso a água e ração (Labina para roedores-Purina), *ad libitum*.

4.4 Ferida Cirúrgica

O procedimento cirúrgico, foi realizado no laboratório Multifuncional do CAV. Para a realização da ferida cirúrgica, procedeu-se anestesia dissociativa utilizando cloridrato de xilazina a 2% e cloridrato de quetamina a 10% administrado por via intramuscular nas doses de 10mg/kg e 80mg/kg respectivamente. Depois de anestesiados os animais mantiveram-se posicionados em decúbito ventral e submetidos à tricotomia das regiões torácicas dorsolaterais direita e esquerda, seguida de limpeza da área com clorexidina e álcool a 70%. Com auxílio de um punch de 8 mm de diâmetro foram realizadas 2 incisões de pele e tela subcutânea com o animal em decúbito lateral. Uma no antímero direito e outra no esquerdo, ficando exposta a fáscia muscular adjacente (Figura 5).

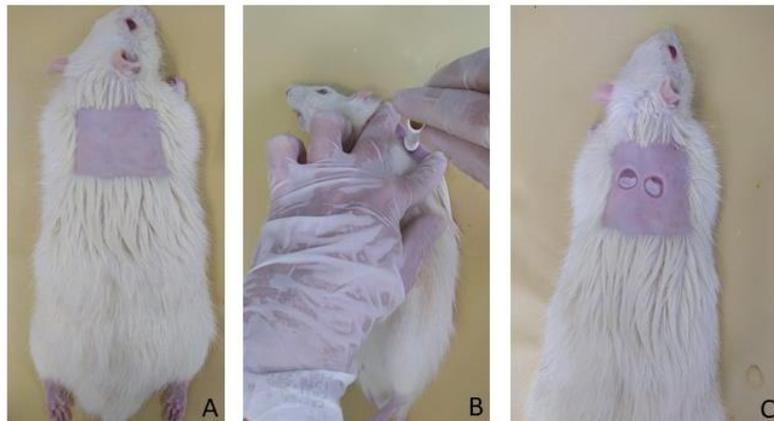


Figura 5: Procedimentos para a realização da ferida cirúrgica. A: Delineamento da área através da tricotomia, seguida de limpeza. B: Animal posto em decúbito lateral, seguida da incisão da pele em forma circular com auxílio do punch. C: Incisão realizada no antímero direito e esquerdo.

Após a mensuração das áreas, com paquímetro digital, cada falha cutânea recebeu o tratamento de acordo com a metodologia estabelecida:

- Animais do Grupo Tratado (LL):
Aplicação tópica diária do creme contendo lectina das folhas da *Bauhinia Monandra* Kurz associado ao veículo.
- Animais do Grupo Controle/Veículo (L):
Aplicação tópica diária do creme contendo apenas o veículo.

4.5 Teste *in vivo* da atividade cicatrizante do creme

Escolhidos aleatoriamente, os animais foram divididos em dois grupos contendo 20 animais cada, formando um grupo dos animais tratados (recebeu o creme e identificados por LL) e um grupo dos animais controle (recebeu o veículo e identificados por L). Em cada animal foram realizados dois ferimentos: um no antímero direito e um no antímero esquerdo. Cada grupo foi dividido em quatro subgrupos contendo cinco animais cada, os quais foram avaliados com 4°, 7°, 14° e 21° dias de pós-operatório, respectivamente.

4.6 Avaliação clínica dos animais e das feridas

Realizou-se diariamente as avaliações clínicas a partir das 24h do pós-operatório, observando-se o estado geral dos animais. As feridas foram avaliadas diariamente, observando-se a presença de hiperemia, edema, reação de dor, secreção, prurido, crosta, contração da ferida, tecido de granulação e tecido cicatricial.

4.7 Avaliações morfológica e morfométrica

No dia 0 (dia da cirurgia) e no 4º, 7º, 14º e 21º dias do pós-operatório todas as feridas foram medidas com paquímetro digital. Para o cálculo das áreas das feridas foram observados os diâmetros maior e menor. A partir destes dados a área da ferida foi calculada, utilizando-se a equação matemática $A = \pi.R.r$, onde A representa a área, R o raio maior e r o raio menor da ferida. Os cálculos do grau de contração serão expressos em percentual, utilizando-se a equação matemática proposta por Ramsey et al. (1995): $100 \times \frac{(A_o - A_i)}{A_o} = \% \text{ média de contração} \pm DP$, onde A_o é a área inicial da ferida (dia 0) e A_i é a área da ferida no 4º, 7º, 14º e 21º dia de pós-operatório.

Para a coleta da pele, os animais foram previamente anestesiados, utilizando cetamina (80mg/kg) e xilazina (6mg/kg) por via intramuscular e em seguida, submetidos ao procedimento de eutanásia, com aplicação do Tiopental (30 mg/kg) por via intraperitoneal. Coletou-se fragmentos da pele através de incisão abrangendo a pele íntegra e a área anteriormente lesionada (Figura 6).



Figura 6: Corte realizado para coleta da pele e da ferida, ficando exposta a fáscia muscular adjacente.

A pele foi imediatamente fixada em formal tamponado a 10% permanecendo por 24h. Após esses procedimentos, os fragmentos foram desidratados em álcool etílico em concentrações crescentes, diafanizados pelo xilol, impregnados pela parafina líquida em estufa regulada à temperatura de 59 °C e incluídos em parafina. Em seguida, os blocos foram cortados em micrótomo do tipo *Minot*, ajustado para 5 micrômetros (μm). Os cortes obtidos foram colocados em lâminas previamente untadas com albumina de Mayer e mantidos em estufa regulada à temperatura de 37 °C, durante 24h, para secagem e colagem. Em sequência, os cortes foram submetidos à técnica de coloração pela Hematoxilina-Eosina (HE) para contagem de vasos, Tricrômico de Masson (TM) para contagem de fibras colágenas e Azul de Toluidina (AT) para contagem de mastócitos.

Para análise morfológica, os cortes histológicos das feridas no 4°, 7°, 14° e 21° dia do pós-operatório, foram avaliadas a partir de *scores*, conforme informações da tabela abaixo (Tabela 3):

Tabela 3: Tabela de Scores (Adaptado de Estevão et al., 2019)

Crosta	Re-epitelização	Inflamação	Tec. Granulação
0: ausente	0: ausente	0: ausente	0: ausente
1: presença leve	1: parcial + língua epitelial pequena	1: branda	1: imaturo
2: moderada	2: proeminente + língua epitelial proeminente	2: moderada	2: Muita celularidade e pouco colágeno
3: crostosa	3: total	3: intensa	3: pouca celularidade e muito colágeno

Nas análises morfométricas, foram realizadas a contagem dos vasos sanguíneos e dos mastócitos, por fotomicrografias de cinco campos (objetiva 40x), nos cortes histológicos corados pela Hematoxilina-Eosina e Azul de Toluidina respectivamente, fotografada em microscópio binocular com câmera acoplada, utilizando o *software* ImageLab. A quantificação de fibras colágenas foi realizada em

lâminas coradas com o Tricrômico de Gomori, fotografadas e analisadas em *software* Gimp2 (5 campos/lâmina – objetiva 40x).

4.8 Delineamento e Análise Estatística

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado (DIC). Os tratamentos foram avaliados nos períodos pós-operatórios do 4º, 7º, 14º e 21º dias, utilizando o esquema de parcela subdividida no tempo, na qual os tratamentos estavam na subparcela e os períodos considerados como parcelas. Foram realizadas cinco repetições por grupo, por experimento. Foram utilizadas 5 repetições para cada recurso farmacológico, sendo considerado cada animal uma unidade experimental. As variáveis analisadas: contração das feridas, contagem de vasos sanguíneos, fibras colágenas, mastócitos, nos 4º, 7º, 14º e 21º dias do pós-operatório. Os dados foram analisados utilizando o teste T não pareado com nível de significância de 5% ($p < 0,05$), utilizando o programa GraphPad PRISM 5.

5 REFERÊNCIA

AGRA, M.F.; FREITAS, P.F.; BARBOSA-FILHO, J.M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v.17, n.1, p.114-40, 2007.

AGRA-NETO, A.C.; NAPOLEÃO, T.H.; PONTUAL, E.V.; SANTOS, N.D.; LUZ, L DE A.; DE OLIVEIRA, C.M.; DE MELO-SANTOS, M.A.; COELHO, L.C.; NAVARRO, D.M.; PAIVA, P.M. Effect of *Moringa oleifera* lectins on survival and enzyme activities of *Aedes aegypti* larvae susceptible and resistant to organophosphate. **Parasitology Research**, v. 113, p. 175-184, 2014.

AKERELE, O. Herbal Gram, 28, 1, 1993.

ALBUQUERQUE, L. P.; PONTUAL, E.V.; SANTANA, G.M.; SILVA, L.R.; AGUIAR, J DOS S.; COELHO, L.C.; RÊGO, M.J.; PITTA, M.G.; DA SILVA, T.G.; MELO, A.M.; NAPOLEÃO, T.H.; PAIVA, P.M. Toxic effects of *Microgramma vacciniifolia* rhizome lectin on *Artemia salina*, human cells, and the schistosomiasis vector *Biomphalaria glabrata*. **Acta Tropica**, v. 138, p. 23-27, 2014.

ALBUQUERQUE, U.P. Re-examining hypotheses concerning the use and knowledge of medicinal plants: a study in the Caatinga vegetation of NE Brazil. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 2, n. 30, p.1-10, 2006.

ALBUQUERQUE, U.P.; MUNIZ DE MEDEIROS, P.; DE ALMEIDA, A.L.; MONTEIRO, J.M.; MACHADO DE FREITAS LINS NETO, E.; GOMES DE MELO, J.; DOS SANTOS, J.P. Medicinal plants of the Caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: a quantitative approach. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 114, p. 325-54, 2007.

ALENCAR, V.B.M.; ALENCAR, M.N.N.; ASSREUY, A.M.S.; MOTA, M.L.; BRITO, G.A.C.; ARAGÃO, K.S.; BITTENCOURT, F.S.; PINTO, V.P.T.; DEBRAY, M.; RIBEIRO, R.A.; CAVADA, B.S. Pro-inflammatory effects of *Arum maculatum* lectin and role of

residente cells. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 37, p. 1805-1814, 2005.

ALMASSY JÚNIOR, A.; LOPES, R.C.; ARMOND, C.; SILVA, F.; CASALI, V.W.D. Folhas de Chá – plantas medicinais na Terapêutica Humana. UFV: Viçosa, 2005.

ALMEIDA, E.R.; GUEDES, M.C.; ALBUQUERQUE, J.F.C.; XAVIER, H. Hypoglycemic effect of *Bauhinia cheilandra* in rats. **Fitoterapia**, v. 77, p. 276-8, 2006.

ALVAREZ-MANILLA, G.; WARREN, N.L.; ATWOOD, J.; ORLANDO, R.; DALTON, S.; PIERCE, M. Glycoproteomic analysis of embryonic stem cells: identification of potential glyco-biomarkers using lectin affinity chromatography of glycopeptides. **Journal of Proteome Research**, v. 9, p. 2062–2075, 2010.

ALVES, V.A.; BRETT, C.M.A. Characterisation of passive films formed on mild steels in bicarbonate solution by EIS. **Electrochimica Acta**, v. 47, p. 2081, 2002.

AMOROZO, M.C.M. Pluralistic medical settings and medicinal plant use in rural communities, **Journal of Ethnobiology**. v. 24, p. 139-161, 2004.

AMOROZO, M.C.M. Uso e diversidade de plantas medicinais em Santo Antônio do Laverger, **Acta Botanica Brasilica** v. 16, p. 189-203, 2002.

ANDRADE, C.A.S.; OLIVEIRA, M.D.L.; MELO, C.P.; COELHO, L.C.B.B.; CORREIA, M.T.S.; NOGUEIRA, M.L.; SINGH, P.R.; ZENG, X. Diagnosis of dengue infection using a modified gold electrode with hybrid organic–inorganic nanocomposite and *Bauhinia monandra* lectin, **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 362, p. 517–523, 2011.

ANOSIKE, C.A.; OBIDOA, O.; EZEANYIKA, L.U.S. The antiinflammatory activity of garden egg (*Solanum aethiopicum*) on egg albumin-induced oedema and granuloma tissue formation in rats. Asian Pac. **Journal Tropical Medicine**, v. 5, p. 62-66, 2012.

ARGOLO, A.C.C.; SANT'ANA, A.E.G.; PLETSCHE, M.; COELHO, L.C.B.B. Antioxidant activity of leaf extracts from *Bauhinia monandra*. **Bioresource Technology**, v. 95, n. 2, p. 229-233, 2004.

ARTUC, M.; HERMES, B.; STECKLINGS, U.M.; GRUTKZAU, A.; HENZ, B.M. Mast cells and their mediators in cutaneous wound healing: active participants or innocent bystanders? **Experimental Dermatology**, v. 8, p. 1-16, 1999.

AZULAY, R. D.; AZULAY, D. R. A pele – embriologia, estrutura e fisiologia, In: *Dermatologia*, 2a edição, Editora Guanabara Koogan, cap. 1, p. 1-10, 1999.

BADKE, M.R.; BUDÓ, M.L.D.; SILVA, F.M.; RESSEL, L.B. Plantas medicinais: O saber sustentado na prática do cotidiano popular. **Escola Anna Nery – Escola de Enfermagem**, v. 15, n. 1, p. 132-139, 2011.

BALBINO, C.A.; PEREIRA, L.M.; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 1, p. 27-51, 2005.

BARBOSA, F, S. **Modelo de impedância de ordem fracional para a resposta inflamatória cutânea**, Dissertação (Programa de Engenharia Biomédica) UFRJ, Rio de Janeiro, 2011.

BEANES, S.R.; DANG, C.; SOO, C.; TING, K. Skin repair and scar formation. The central role of TGF β . **Expert Reviews in Molecular Medicine**, v. 2, p. 107-120, 2003.

BEHEREGARAY, W.K.; GIANOTTI, G.C.; LEAL, J.S.; GARCEZ, T.; CONTESINI, E.A. Eletroestimulação na cicatrização de feridas cutâneas experimentais em coelhos. **Ciência Rural**, v. 44, n. 5, p. 878-883, 2014.

BEZERRA, H.L.; RIZZO, L.V.; YUY, M.C.Z.; FREITAS, D. Avaliação da resposta terapêutica nas alergias oculares por meio da citologia esfoliativa. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, v.66, p.595-598, 2003

BOHJANEN, K. Estrutura e funções da pele. In: *Dermatologia Clínica*, p. 1-5, 2015.

BORGES, F.I.; MENDONÇA, M.S. Morfo-anatomia da semente de *Bauhinia monandra* Kurz. (Leguminosae-caesalpinioideae). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, p. 24-32, 2009.

BOULAIS, N.; PEREIRA, U.; LEBONVALLET, N.; GOBIN, E.; DORANGE, G.; ROUGIER, N.; CHESNE, C.; MISERY, L. Merkel Cells as Putative Regulatory Cells in Skin Disorders: An In Vitro Study, **PLoS One**, v. 4, n. 8, 2009.

BROUGHTON, G.; JANIS, J.E.; ATTINGER, C.E. The basic science of wound healing. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 117, p. 12-34, 2006.

BRUSTEIN, V.P.; SOUZA-ARAÚJO, F.V.; VAZ, A.F.; ARAÚJO, R.V.; PAIVA, P.M.; COELHO, L.C.; CARNEIRO-LEÃO, A.M.; TEIXEIRA, J.A.; CARNEIRO-DA-CUNHA, M.G.; CORREIA, M.T. A novel antimicrobial lectin from *Eugenia malaccensis* that stimulates cutaneous healing in mice model. **Inflammopharmacology**, v. 20, p. 315–322, 2012.

CAMPOS, A.C.L.; BORGES-BRANCO, A.; GROTH, A.K. Cicatrização de feridas. **Arquivo Brasileiro de Cirurgia Digestiva**, v. 20, n. 1, 2007.

CAMPOS, J.K.L.; ARAÚJO, C.S.F.; ARAÚJO, T.F.S.; SANTOS, A.F.S.; TEIXEIRA, A.J.; LIMA, V.L.M.; COELHO, L.C.B.B. Anti-inflammatory and Antinociceptive Activities of *Bauhinia monandra* Leaf Lectin. **Biochimie Open**, v. 2, p. 62-68, 2016.

CAPASSO, R.; IZZO A.A.; PINTO, L.; BIFULCO.; VITOBELLO, C.; MASCOLO, N. Phytotherapy and quality of herbal medicines. **Fitoterapia**, v. 71, p. 58-65, 2000.

CAVADA, B.S.; BARBOSA, T.; ARRUDA, S.; GRANGEIRO, T.B.; BARRAL-NETTO, M. Revisiting proteus: Do minor changes in lectin structure matter in biological activity: Lessons from and potencial biotechnonology uses of the *Diocleinae* subtribe lectins. **Current Protein and Pepide Sciences**, v. 2, p. 123-135. 2001.

CAVALCANTE, L.C.; MOREIRA, M.C.; MOTA, O.M.L.; TURATTI, E.; VIANA, F.A.C.; PEREIRA, S.L.S. 2012. Efeito da pedra umes no processo de cicatrização tecidual. Estudo histológico em dorso de ratos. **Brazilian Journal of Periodontology**. v. 22, n. 1, p. 69-73, 2012.

CESTANI, S.C.P. Noções de anatomia e histologia da pele. In: *Dermatologia Pediátrica: Diagnóstico e Tratamento*, Editora dos editores, cap. 2, p. 9-16, 2018.

CHILDS, D.R.; MURTHY, A.S. Overview of Wound Healing and Management. **Surgical Clinics of North America**. v. 97, n. 1, p. 189-207, 2017.

COELHO, L.C.B.B.; SILVA, M.B.R. Simple method to purify milligram quantities of the galactose-specific lectin from the leaves of *Bauhinia monandra*. **Phytochemistry Analysis**, v. 11, p. 295-300, 2000.

CORREIA, M.T.S.; COELHO, L.C.B.B. Purification of a glucose/mannose specific lectin, isoform 1, from seeds of *Cratylia mollis* Mart. (Camaratu bean). **Applied Biochemistry and Biotechnology**, p. 261-273, 1995.

DOM, Y.D.; FU, L.D.; JIA, Y.P.; DU, X.J.; WANG, Q.; WANG, Y.H.; ZHAO, X.F.; YU, X.Q.; WANG, J.X. A hepatopancreas-specific C-type lectin from the Chinese shrimp, *Fenneropenaeus chinensis* exhibits antimicrobial activity. **Molecular Immunology**, v. 45, p. 348-361, 2008.

DOMINGOS, A. H.; CAPELLARI JÚNIOR, L. Plantas medicinais: patas-de-vaca. Piracicaba: ESALQ - Divisão de Biblioteca, 29 p, 2016.

EFRON, D.E.; CHANDRAKANTH, A.; PARK, J.E. Wound healing. In: BRUNICARDI, C.; ANDERSEN, D.K.; BILLIAR, T.R, editors. *Schwartz's principles of surgery*. 8th edition. New York: McGraw-Hill; 2005.

EMING, S.A.; KRIEG, T.; DAVIDSON, J.M. Inflammation in wound repair: molecular and cellular mechanisms. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 127, p. 514–21, 2007.

ENGLER, A. Syllabus der pflanzenfamiliem. **Gebrüder Borntraeger**, v. 2, p. 49, 1964.

ESTEVIÃO, L.R.; CASSINI-VIEIRA, P.; LEITE, A.G.B.; BULHÕES, A.A.V.C.; BARCELOS, L.S.; EVENCIO-NETO, J. Morphological Evaluation of Wound Healing Events in the Excisional Wound Healing Model in Rats. **Bio-protocol**, v.9, n.13, 2019.

FAZIO, M.J.; ZITELLI, J.A.; GOSLEN, J.B. Cicatrização de feridas. In: COLEMAN III, W.P.; HANKE, C.W.; ALT, T.H.; ASKEN, S. Cirurgia Cosmética - Princípios e Técnicas. 2.ed. **Revinter**, v. 18, n. 23, 2000.

FERNANDES, A.J., FERREIRA, M.R., RANDAU; K.P., DE SOUZA, T.P., SOARES, L.A. Total flavonoids content in the raw material and aqueous extractives from *Bauhinia monandra* Kurz (Caesalpinaceae). **The Scientific World Journal**, ID 923462, v. 2012, 2012.

FERREIRA, M.C.; TUMA, J.R.P.; CARVALHO, V.F.; KAMAMOTO, F. Feridas complexas. **Clinics**. v. 61, n. 6, p. 571-8, 2006.

FURIE, B.; FURIE, C. Mechanisms of thrombus formation. **The New England Journal of Medicine**, v. 359, p. 938–49, 2008.

GAWKRODGER, D. J. Dermatology: An Illustrated Colour Text, 3 ed., Edinburgh, Churchill Livingstone, 2002.

HAMILTON, A.C. Medicinal plants, conservation and livelihoods. **Biodiversity and Conservation**, v. 13, p. 1477-1517, 2004.

HAYER, N.J. **Desenvolvimento, purificação e caracterização de IgG anti-lectina de folha de *Bauhinia monandra***. Tese (Doutorado - Ciências Biológicas) - Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2002.

HOMAR, J.C. Medicinas complementarias ou alternativas? Un dilema para el sistema público. **Atención Primaria**, v. 35, p. 389-391, 2005.

HUNT, T.K. Wound healing. In: Doherty GM, Way LW, editors. Current surgical diagnosis and treatment. 12th edition. New York: McGraw-Hill; 2006.

ISAAC, C.; LADEIRA, P.R.S.; REGO, F.M.P.; ALDUNATE, J.C.B.; FERREIRA, M.C. Processo de cura das feridas: cicatrização fisiológica. **Revista de Medicina**, v. 89, n.3/4, p.125-131, 2010.

ISERHARD, A.R.M.; BUDÓ, M.L.D.; NEVES, E.T.; BADKE, M.R. Práticas culturais de cuidados de mulheres mães de recém-nascido de risco do Sul do Brasil. **Escola Anna Nery – Escola de Enfermagem**, v. 13, n. 1, p. 116-22, 2009.

ISKRATSCH, T.; BRAUN, A.; PASCHINGER, K.; WILSON, I.B.H. Specificity analyses of lectins and antibodies using remodeled glycoproteins. **Analytical Biochemistry**, v. 386, p. 133-146, 2009.

JANKOVIC, M.; GOLUBOVIC, S. 200 kDa glycoprotein isolated from breast cancer tissue: a putative ligand for galectin-1. **Archive of Oncology**, v. 8, n. 2, p. 39-43, 2000.

JANSSON, K.; HAEGERSTRAND, A.; KRATZ, G. A biodegradable bovine collagen membrane as a dermal template for human in vivo wound healing. **Scandinavian Journal of Plastic and Reconstructive Hand Surgery**, v. 35, n. 4, p. 369-75, 2001.

JONES, J.E.; NELSON, E.A. Skin grafting for venous leg ulcers. **Cochrane Database Systematic Reviews**. v. 25, n. 1, 2005.

JUNQUEIRA, L.C.U.; CARNEIRO, J. Histologia básica. 12. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

KANJ, L.F.; WILKING, S.V.; PHILLIPS, T.J. Pressure ulcers. **Journal of the American Academy of Dermatology**. v. 38, n. 4, p. 517-36, 1998.

KEAY, R.W.J. Trees of Nigeria. Clarendo Press, Oxford, UK., ISBN: 9780198545606, pp: 74-78, 1989.

KILPATRICK, D.C. Mechanisms and assessment of lectin-mediated mitogenesis. **Molecular Biotechnology**, v. 11, p. 55-65, 1999.

KNAUT, J. L. **Avaliação do efeito citotóxico de lectinas extraídas de leguminosas sobre células de glioma C6**. Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Neurociências. Florianópolis, SC, 2016.

KNIGHTON, D.R.; SILVER, I.; HUNT, T.K. Regulation of wound-healing angiogenesis effect of oxygen gradientes and inspired oxygen concentration. **Surgery**, v. 90, p. 262-270, 1981.

KRISHNASWAMY, G.; AJITAWI, O.; CHI D.S. The human mast cell: an overview. **Methods in Molecular Biology**, v. 315, p. 13-14, 2006.

KUMAR, V.; ABBAS, A.K.; FAUSTO, N. Robbins e Cotran – Patologia: bases patológicas das doenças. 7a ed. Elsevier, Rio de Janeiro, 2005.

LACERDA, R.R.; DE LACERDA, A.C.S.; VIANA, G.S.B.; PESSOA, H.L.F.; MOREIRA, I.C.; CABRAL, N.L.; FELIPE, C.F.B.; GADELHA, C.A.A.; NASCIMENTO, J.S.J.; LUCETTI, A.L.; SANTI-GADELHA, T. Lectin isolated from Brazilian seeds of velvet bean (*Mucuna pruriens* (L) DC) presents analgesic, anti-inflammatory and antihemolytic action. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 9, n. 8, p. 231-242, 2015.

LAWRENCE, W.T.; DIEGELMANN, R.F. Growth factors in wound healing. **Clinics in Dermatology**, v. 12, n. 1, p. 157-69, 1994.

LIMA, J.L.S.; VILA NOVA, I.C.; ALMEIDA, W.A.; DA SILVA, J.E.S.; PONTUAL, E.V.; EVÊNCIO NETO, J. Lectinas vegetais como ferramentas terapêuticas: uma revisão. **Biomedicina e farmácia: aproximações**, Ponta Grossa (PR), Atena Editora, p. 63-78, 2018.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. Plantas Medicinais no Brasil: nativas e exóticas. 2ª ed. Nova Odessa, Instituto Plantarum, 2008.

LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N.J.; FARR, A.L.; RANDALL, R.J. Protein measurement with the folin phenol reagent. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 193, p. 265–275, 1951.

LUO, Y., XU, X., LIU, J., LI, J., SUN, Y., LIU, Z., LIU, J., VAN DAMME, E., BALZARINI, J., BAO, J., A novel mannose-binding tuber lectin from *Typhonium divaricatum* (L.) Decne (family *Araceae*) with antiviral activity against HSV-II and antiproliferative effect on human cancer cell lines. **Journal Biochemistry and Molecular Biology**. v. 40, p. 358-367, 2007.

MACEDO, M.L.R.; FREIRE, M.G.M.; SILVA, M.B.R.; COELHO, L.C.B.B. Insecticidal action of Bauhinia monandra leaf lectin (BmoLL) against *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae), *Zabrotes subfasciatus* and *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). **Comparative Biochemistry and Physiology**. v. 146, p. 486-498, 2007.

MANDELBAUM, S.H.; DI SANTIS, E.P.; MANDELBAUM, M.H.S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares – Parte I. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. [Internet]. 2003 [citado 2012 jun 02];78(4):393-410. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/abd/v78n4/16896.pdf>

MARTINS, E.R.; DE CASTRO, D.M.; CASTELLANI, D.C.; DIAS, J.E. Plantas medicinais, Viçosa, MG: UFV, **Imprensa Universitária**, 1995. 220p.

MATSUI, T.; HAMATO, J.; OZEKI, Y.; TITANI, 2001. Comparative study of blood group-recognizing lectins toward ABO blood group antigens on neoglycoproteins, glycoproteins and complex-type oligosaccharides. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1525, p. 50-57, 2001.

MCCUNE, L.M.; JOHNS, T. Antioxidant activity in medicinal plants associated with the symptoms of diabetes mellitus used by the indigenous peoples of the North American boreal forest. **Journal Ethnopharmacol**, v. 82, p. 197-205, 2002.

MECKLENBURG, M.; AVITEL, J.; WINQUIST, F.; GANG, J.; ORNSTEIN, K.; DEY, E.; BIN, X.; HEDBORG, E.; NORRBY, R.; AEWIN, H.; LUUNDSTROM, I.; DANIELSSON, B. Differentiation of human sérum samples by surface plasmon resonance monitoring of the integral glycoprotein interaction with a lectin panel, **Analytica Chimica Acta**, v. 459, p. 25-31. 2002.

MEDEIROS, A.C. Conceituação da cicatrização das feridas cirúrgicas. **Revista Saúde**, v. 7, p. 9-20, 1992.

MELO, C.M.L.; PORTO, C.S.; MELO-JÚNIOR, M.R.; MENDES, C.M.; CAVALCANTI, C.C.; COELHO, L.C.; PORTO, A.L.; LEÃO, A.M.; CORREIA, M.T. Healing activity induced by Cramoll1,4 lectin in healthy and immunocompromised mice. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 408, p. 113-119, 2011.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Políticas de Saúde, Departamento de Atenção Básica. Manual de condutas para úlceras neutróficas e traumáticas. Brasília: MS; 2002.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portaria no. 971, de 3 de maio de 2006. Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no SUS. Diário Oficial da União, 2006.

MO, H., WINTER, H. C. AND GOLDESTINEIN, I. J. Purification and characterization of a Neu5Ac a 2–6 Gal b-1–4 Glc/GlcNac–specific lectin from the fruiting body of the polypore mushroom *Polyporus squamosus*. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 275, p. 10623– 29, 2000.

MOURA, M.C.; NAPOLEÃO, T.H.; CORIOLANO, M.C.; PAIVA, P.M.; FIGUEIREDO, R.C.; COELHO, L.C. Water-soluble *Moringa oleifera* lectin interferes with growth, survival and cell permeability of corrosive and pathogenic bacteria. **Journal of Applied Microbiology**, v. 119, n. 3, p. 666-676, 2015.

MUSSED, R.L.O.; SILVA, E.S.; COSTA, A.M.A.; MANDARIM DE LACERDA, C.A. Mast cells in tissue response to dentistry materials: an adhesive resin, a calcium hydroxide and a glass ionomer cemen. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v.7, n.2, p.171-178, 2003.

NETO, J.C.L. Considerações sobre a cicatrização e o tratamento de feridas cutâneas em equinos, 2003. Online. Disponível na internet <http://br.merial.com/pdf/arquivo8.pdf>

NETTO, B.D.M.; SCHWEGLER, A.C.; LIMA, A.A.S.; SCUR, E.M. Avaliação de mastócitos da mucosa intestinal inflamada de ratos submetidos à ingestão de ácidos graxos insaturados. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v. 22, n. 3. p. 230-236, 2007.

NWORIE, K.M.; OKORIE, N.A. Phytochemicals Distribution and Antioxidant Potential of *Bauhinia monandra* (Linn.) Leaves Extract. **Research Journal of Medicinal Plants**, v. 12, n. 2, p. 78-83, 2018.

OLIVEIRA, A.F. 2008. **Avaliação da atividade cicatrizante da *Caesalpinia ferrea* (tul.) Martius (Jucá) em lesões cutâneas de caprinos**. Dissertação de mestrado, Universidade Federal Rural do Semiárido, Mossoró, Rio grande do Norte, 2008.

ORTONNE, J.P.; CLÉVY, J.P. Physiologie de la cicatrisation cutanée. **Dermatologie**, v. 44, n. 13, p. 1733-4, 1994.

PAIVA, P.M.G.; GOMES, F.S.; NAPOLEÃO, T.H.; SÁ, R.A.; CORREIA, M.T.S.; COELHO, L.C.B.B. Antimicrobial activity of secondary metabolites and lectins from plants. In: MÉNDEZ-VILLAS, A. (ed.), Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology A. Editora: Formatex Research Center, Badajoz. 2010.

PANOBIANCO, M.S.; SAMPAIO, B.A.L.; CAETANO, E.A.; INOCENTI, A.; GOZZO, T.O. Comparação da cicatrização pós-mastectomia entre mulheres portadoras e não-portadoras de diabetes mellitus. **Rev Rene**, v. 11, p. 15-22, 2012.

PAVLETIC, M.M. Atlas of small animal reconstructive surgery. 3 ed. Iowa: Sunders, 2010. 680p.

PEREIRA, D. S. T.; LIMA-RIBEIRO, M.H.; SANTOS-OLIVEIRA, R.; CAVALCANTI, C.D.E.L.; DE PONTES-FILHO, N.T.; COELHO, L.C.; CARNEIRO-LEÃO, A.M.; CORREIA, M.T. Topical Application Effect of the Isolectin Hydrogel (Cramoll 1,4) on Second-Degree Burns: Experimental Model. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 2012, p. 11, 2012.

PEUMANS, W. J.; VAN DAMME, E. J. M. Plant Lectins: versatile proteins with important perspectives in biotechnology. Biotechnology and Genetic Engineering Reviews, **Hants**, v. 15, p. 199-227, 1998.

PEUMANS, W.J.; VAN DAMME, E.J.; BARRE, A.; ROUGE, P. Classification of plant lectins in families of structurally and evolutionary related proteins. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 491, p. 27-54, 2001.

POVINELI, K. L.; FINARDI FILHO, F. The multiple functions of plant lectins. Nutrire. **Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, v. 24, p. 135-156, 2002.

RAJA, S.K.; GARCIA, M.S.; ISSEROFF, R.R. Wound re-epithelialization: modulating keratinocyte migration in wound healing. **Frontiers in Bioscience**, v. 12, p. 2849–68, 2007.

RAMSEY, D.; POPE, E.R.; WAGNER-MANN, C.; BERG, J.N.; SWAIM, S.F. Effects of three occlusive dressing materials on healing of fullthickness skin wounds in dogs. **American Journal Veterinary Research**, v. 56, n. 7, p. 941-949, 1995.

RATANAPO, S.; NGAMJUNYAPORN, W.; CHULAVATNATOL, M. Sialic acid binding lectins from leaf of mulberry (*Morus alba*). **Plant Science**, v. 139, p. 141-148.

RIBEIRO, M.A.M. **Avaliação morfológica, histoquímica e imuno-histoquímica do processo de reparo subcutâneo em ratos submetidos à fotobiomodulação a laser 660nm**. Tese (Programa Integrado de Pós-Graduação em Odontologia), Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, Brasil, 2006.

ROSILIO, V.; BOISSONNADE, M.; COELHO, L. C. B. B.; SANTOS-MAGALHÃES, N. S.; ANDRADE, C. A. S.; BASZKIN, A. Interaction of *Bauhinia monandra* lectin (BmoLL) with lipid monolayers. **Colloids and Surfaces A**, p. 491-497, 2004.

ROZMAN, P.; BOLTA, Z. Use of platelet growth factors in treating wounds and softtissue injuries. **Acta Dermatovenerol Alpina, Panonica et Adriatica**, v. 6, n. 4, p. 156– 65, 2007.

RÜDIGER, H.; GABIUS, H. Plant lectin: Occurrence, biochemistry, functions and applications. **Glycoconjugates Journal**, v. 18, p. 589-613, 2001.

SÁ, R.A.; GOMES, F.S.; NAPOLEÃO, T.H.; SANTOS, N.D.L.; MELO, C.M.L.; GUSMÃO, N.B.; COELHO, L.C.B.B.; PAIVA, P.M.G.; BIEBER L.W. Antibacterial and antifungal activities of *Myracrodruon urundeuva* heartwood. **Wood Science and Technology**, v. 43, p. 85-95, 2009.

SANTOS, A.F.S.; NAPOLEÃO, T.H.; BEZERRA, R.F.; CARVALHO, E.V.M.M.; CORREIA, M.T.S.; PAIVA, P.M.G.; COELHO, L.C.B.B. Strategies to obtain lectins from distinct sources. **Advances in Medicine and Biology**. v. 63, p. 33-60, 2013.

SARANDY, M.M. **Avaliação do efeito cicatrizante do extrato de repolho (*Brassica oleracea* var. capitata) em ratos wistar**. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 49p, 2007.

SCHMAIER, A. The elusive physiologic role of Factor XII. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 118, p. 3006–9, 2008.

SCHUGART RC, FRIEDMAN A, ZHAO R, et al. Wound angiogenesis as a function of oxygen tension: a mathematical model. **Proceedings of National Academy of Sciences**, v. 105, p. 2628–33, 2008.

SHARMA, A.; WONG, J.H.; LIN, P.; CHAN, Y.S.; NG, T.B. Purification and Characterization of a Lectin from the Indian Cultivar of French Bean Seeds, **Protein & Peptide Letters**, v. 17, p. 221-227, 2010.

SHARON, N. Lectins: past, present and future. **Biochemical Society Transactions**, v. 36, p. 1457–1460, 2008.

SHARON, N.; LIS, H. The structural basis for carbohydrate recognition by lectins. **Advances in experimental and biology**, v. 491, p. 1-16, 2001

SILVA, F.O.; ARAÚJO, R.V.S.; SCHIRATO, G.V.; TEIXEIRA E.H.; MELO JÚNIOR, M.R.; CAVADA, B.S.; LIMA-FILHO, J.L; CARNEIRO-LEÃO, A.M.A.; PORTO, A.L.F. Perfil de proteases de lesões cutâneas experimentais em camundongos tratados com lectina isolada das sementes de *Canavalia brasiliensis*. **Ciência Rural**, v. 39, n. 9, p. 1808-1814, 2009.

SILVA, K.L; CECHINEL, FILHO, V. Plantas do gênero *Bauhinia*: composição química e potencial farmacológico. **Química Nova**, v. 25, p. 449–454, 2002.

SINGH, J.; SINGH, J.; KAMBOJ, S.S. A novel mitogenic and aniproliferative lectin from wild cobra lily, *Arisaema flavum*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 318, p. 1057-1065, 2004.

SISENANDO, H.A.A.A.C.N.; MACEDO, M.F.S.; SATURNINI, A.C.R.D.; COELHO, L.C.B.B.; MEDEIROS, S.R.B. Evaluation of the genotoxic potential of *Bauhinia monandra* leaf lectin (BmoLL). **Food and Chemical Toxicology**, v. 47, p. 303-308, 2009.

SOUZA, J.D.; SILVA, M.B.R.; ARGOLO, A.C.C.; NAPOLEÃO, T.H.; SÁ, R.A.; CORREIA, M.T.S., PAIVA, P.M.G.; SILVA, M.D.C.; COELHO, L.C.B.B. A new *Bauhinia monandra* galactose-specific lectin purified in milligram quantities from secondary roots with antifungal and termiticidal activities. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 65 p. 696-702, 2011.

STOWELL, S.R.; QIAN, Y.; KARMAKAR, S.; KOYAMA, N.S.; DIAS-BARUFFI, M.; LEFFLER, H.; MCEVER, R.P.; CUMMINGS, R.D. Differential roles of galectin-1 and galactin-3 in regulating leukocyte viability and cytokina secretion. **Journal of Immunology**, v. 180, p. 3091-3105, 2008.

SUZUKI, Y.; INOUE, T.; YOSHIMARU, T. RA, C. Galectin-3 but not galectin-1 induces mast cell death by oxidative stress and mitochondrial permeability transition. **Biochimica et Biophysica acta**, v. 1783, n. 5, p. 924-934. 2008.

TAUBE, M. B.; TAÏEB, A. Lipid metabolism in cultured keratinocytes. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 75, n. 1, p.75-84, 2000.

TERKELTAUB, R.A.; GINSBERG, M.H. Platelets and response to injury. In: Clark RAF, Henson PM, editors: The molecular and cellular biology of wound repair. New York: Plenum Press,1998.

TIMOSHENKO, A.V. LAN, Y.; GAIBUS, H.J.; LALA, P.K. Immunotherapy of C3H/HeJ mammary adenocarcinoma with interleukin-2, mistletoe lectin on their combination:

effects on tumor growth, capillary leakage and nitric oxide (NO) production. **European Journal of Cancer**, v. 37, p. 1910-1920, 2001.

URMACHER C. D. Normal Skin. In: STERNBERG S. S. Histology for pathologists., 2nd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1997. p. 25-45.

VALE, N.B. A farmacobotânica, ainda tem lugar na moderna anestesiologia? **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 52, n. 3, p. 368-80, 2002.

VAN WINKLE, W. The fibroblast in wound healing. **Surgery, Gynecology & Obstetrics**, v. 369, n. 124, 1967.

VEIGA JUNIOR, V.F; PINTO, A.C. MACIEL, M.A.M Plantas medicinais: Cura segura? **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

WATT F. M. The epidermal keratinocyte. **Bioessays**, v. 8, n. 5, p. 163-7, 1988.

WERNER, S.; GROSE, R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiological Reviews*. 2003, 83p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). The importance of Pharmacovigilance - Safety Monitoring of Medicinal Products. Geneva, 2002.

WU, J. H.; SINGH, T.; HERP, A.; WU, A. M. Carbohydrate recognition factors of the lectin domains present in the *Ricinus communis* toxic protein (ricin). **Biochimie**, v. 88, n. 2, p. 201-217, 2006.

YOSHIZUMI, A.; KAKINAYAMA, Y.M.; IDE, M.; KITANO, H. Self-assembled monolayer of sugar-carrying Polymer chain: sugar balls from 2-methacryloyloxyethyl D-glucopyranoside. **Langmuir**, v. 15, p. 482-448, 1999.

ARTIGOS 01

Capítulo de livro digital publicado em 2018 pela editora Athena: Biomedicina e Farmácia: Aproximações.

ISBN 978-85-85107-20-8

DOI 10.22533/at.ed.208182808

Lectinas vegetais como ferramentas terapêuticas: uma revisão

Juliete Lira de Souza Lima, Isabella Coimbra Vila Nova, Welton Aaron de Almeida, Jeine Emanuele Santos da Silva, Emmanuel Viana Pontual, Joaquim Evêncio Neto

Resumo: As lectinas são proteínas que possuem domínios capazes de reconhecer moléculas glicídicas, às quais se ligam de maneira reversível e específica. Essas proteínas estão envolvidas nos mecanismos de defesa dos organismos multicelulares, desempenhando um importante papel na imunidade inata, geralmente por reconhecer epítomos de glicano semelhantes que ocorrem na superfície celular de patógenos. Nesse sentido, as propriedades farmacológicas das lectinas têm sido amplamente exploradas, incluindo seu potencial como agentes antibacterianos, antifúngicos, antivirais, antitumorais e cicatrizantes. A atividade antimicrobiana das lectinas tem sido associada à interação com componentes da parede celular de bactérias (ácido teicóico e teicurônico, peptidoglicanos e lipopolissacarídeos) ou de fungos (N-acetilglicosamina) e à formação de poros, alterando a permeabilidade celular. O efeito de lectinas sobre os vírus envolve a ligação com oligossacarídeos que contêm resíduos de manose, presentes nas superfícies de glicoproteínas do envelope viral. Adicionalmente, a atividade antitumoral das lectinas está associada à combinação entre a alteração no padrão de glicosilação das células tumorais comparado às células saudáveis, e a especificidade da interação lectina-carboidrato. Com relação ao efeito cicatrizante, este pode estar vinculado à capacidade das lectinas em induzir a produção de proteases por células do sistema imunológico, fundamentais para o processo de reparação tecidual. Neste contexto, esta revisão apresenta uma discussão sobre a utilização das lectinas como ferramentas terapêuticas.

Palavras-chave: Lectinas, atividade antimicrobiana, atividade antiviral, atividade antitumoral, atividade cicatrizante.

1. Introdução

É bem conhecido que os vegetais produzem uma grande variedade de compostos, incluindo proteínas (lectinas) que são capazes de reconhecer carboidratos e/ou glicoconjugados, as quais têm sido reportadas como potenciais agentes inseticidas (AGRA-NETO et al., 2014), antimicrobianos (MOURA et al., 2015), antitumorais (ALBUQUERQUE et al., 2014), anti-inflamatórios (LACERDA et al., 2015) e cicatrizantes (MELO et al., 2011; BRUSTEIN et al., 2012), dentre outras atividades biológicas.

As lectinas fazem parte de um grupo de proteínas estruturalmente heterogêneo, capaz de reconhecer sítios específicos em moléculas glicídicas e ligar-se de maneira reversível. Inicialmente identificadas como proteínas tóxicas, as lectinas tornaram-se ferramentas indispensáveis em diagnósticos de doenças, de tipagem sanguínea e de identificação de cepas de microrganismos. Elas têm dado suporte a estudos moleculares, estruturais, genéticos e de fisiologia vegetal entre outros, através do detalhamento das interações proteína-proteína e proteína-carboidrato (POVINELLI; FINARDI FILHO, 2002).

O caráter promissor das plantas como material de partida para o isolamento de compostos com potencial aplicação farmacológica e a variedade de atividades biológicas que têm sido descritas para as lectinas motivaram esta revisão. Aqui será apresentada uma discussão sobre utilização dessa classe de proteínas vegetais como ferramentas terapêuticas. A Tabela 1 apresenta algumas lectinas e suas aplicações, as quais serão discutidas ao longo dessa revisão.

Tabela 1. Lectinas vegetais que têm sido relatadas como candidatas a potenciais ferramentas terapêuticas.

Lectina	Fonte	Efeito	Referências
ConA	Sementes de <i>Canavalia ensiformis</i>	Atividades antitumoral, antiangiogênica,	SUMNER; HOWELL, 1936; KULKARNI; MCCULLOCH, 1995; CRIBBS et al., 1996;

		imunomoduladora, antifúngica e cicatrizante.	SUEN et al., 2000; CHANG et al., 2007; GERVASI; KWOK; FAWCETT, 2008; LIU; MIN; BAO, 2009; SILVA et al., 2009; YOSHIDA; NAGAI, 2009; LI et al., 2010; PRATT et al., 2012; KNAUT, 2016
Dviol	Sementes de <i>Dioclea violácea</i>	Atividades antitumoral e cicatrizante	KNAUT, 2016
ACA	Sementes de <i>Amaranthus caudatus</i>	Atividade antitumoral	YU et al., 2001
WGA	Germe de Trigo (<i>Triticum aestivum</i>)	Atividades antitumoral e antibacteriana	SCHAEFER et al., 1979 SCHWARZ et al., 1999
RegIII α	Intestino delgado humano	Atividade antibacteriana	MUKHERJEE et al., 2014
RegIII β	Intestino delgado humano	Atividade antibacteriana	MIKI; HARDT, 2013
WSMoL	Sementes de <i>Moringa oleifera</i>	Atividade antibacteriana	MOURA et al., 2015
Lectina de A. <i>jiringa</i>	Sementes de <i>Archidendron jiringa</i>	Atividades antibacteriana e antifúngica	CHARUNGCHITRAK et al., 2011

MLL 1 e MLL2	Folhas de <i>Morus alba</i>	Atividade antibacteriana	RATANAPO; NGAMJUNYAPORN; CHULAVATNATOL, 2001
CasuL	Folhas de <i>Calliandra surinamensis</i>	Atividade antifúngica	PROCÓPIO et al., 2017b
Helja	Plântulas de <i>Helianthus annuus.</i>	Atividade antifúngica	REGENTE et al., 2014
LAL	Sementes de <i>Lutzelburgia auriculata</i>	Atividade antifúngica	OLIVEIRA et al., 2002; MELO et al., 2005
PHA	Sementes de <i>Phaseolus vulgaris</i>	Atividade antifúngica	YE et al., 2001
BanLec	<i>Musa acuminata</i>	Atividade antiviral	SWANSON et al., 2010
PpeL	Sementes de <i>Parkia pendula</i>	Atividade antiviral	FAVACHO et al., 2007
ConBr	Sementes de <i>Canavalia brasiliensis</i>	Atividade cicatrizante	SILVA et al., 2009
Cramoll 1,4	Sementes de <i>Cratylia mollis</i>	Atividade cicatrizante	MELO et al., 2011; PEREIRA et al., 2012

2. Estrutura e propriedades das lectinas

O termo lectina vem do latim “*legere*” que significa escolher, selecionar. Esse termo somente foi proposto após a visualização macroscópica da hemaglutinação seletiva utilizando eritrócitos coletados de diferentes espécies animais (BOYD; SHAPLEIGH, 1954).

Geralmente, as lectinas são constituídas de protômeros com características estruturais que têm sido úteis para agrupá-las em famílias (VAN DAMME et al., 1998). O arranjo tridimensional diferencial desses protômeros é responsável pela grande diversidade de estruturas quaternárias já descritas. Independente da diversidade estrutural, as lectinas mantêm como propriedade comum a capacidade de ligar-se a carboidratos e discriminar glicoconjugados complexos de acordo com suas estruturas lineares, ou seja, a composição dos monossacarídeos e a natureza do padrão de ligações glicosídicas (WU et al., 2000; RAMOS et al., 2002). As lectinas apresentam origem não imunológica, ou seja, elas não são um anticorpo anticarboidrato e não são produzidas como resposta do sistema imune (FUSTER et al., 2003).

A ligação entre lectinas e carboidratos envolve um conjunto de interações relativamente fracas que resultam de uma afinidade química e permitem a desvinculação de seus ligantes após certo tempo. Desse modo, o mecanismo dessa ligação garante que ela ocorra com especificidade e apresente caráter reversível. As interações entre lectinas e carboidratos envolvem pontes de hidrogênio, forças de Van Der Waals, interações hidrofóbicas e coordenação metálica (FIGUEIROA et al., 2017).

O ensaio para detecção da presença de lectinas em determinada amostra é realizado utilizando-se eritrócitos humanos ou de outros animais e tem como fundamento a capacidade das lectinas em interagir com carboidratos da superfície celular. A ligação cruzada entre as moléculas de lectina e os carboidratos da superfície de diferentes eritrócitos forma uma malha ou rede de aglutinação (Figura 1A).

Outros compostos que eventualmente estão presentes em amostras vegetais, incluindo os taninos, podem causar dispersão dos eritrócitos. Essa dispersão apresenta o mesmo padrão visual que o fenômeno da hemaglutinação. Dessa forma, para confirmar se o efeito observado é decorrente da presença de lectinas, costuma-se realizar um ensaio de inibição da atividade hemaglutinante em presença de uma solução concentrada contendo carboidratos livres (figura 1B). Neste ensaio, os carboidratos livres passam a ocupar os sítios de ligação a carboidratos na molécula

de lectina e esta não pode causar aglutinação dos eritrócitos, os quais irão precipitar (PAIVA et al., 2012). Outra aplicabilidade do ensaio de inibição da atividade hemaglutinante é determinar a especificidade da lectina, sendo esta considerada específica para aquele carboidrato ou glicoconjugado que causar maior redução na sua atividade. A figura 2 mostra o aspecto do ensaio de atividade hemaglutinante em placa de microtitulação evidenciando a ausência de atividade e a formação da malha de hemaglutinação.

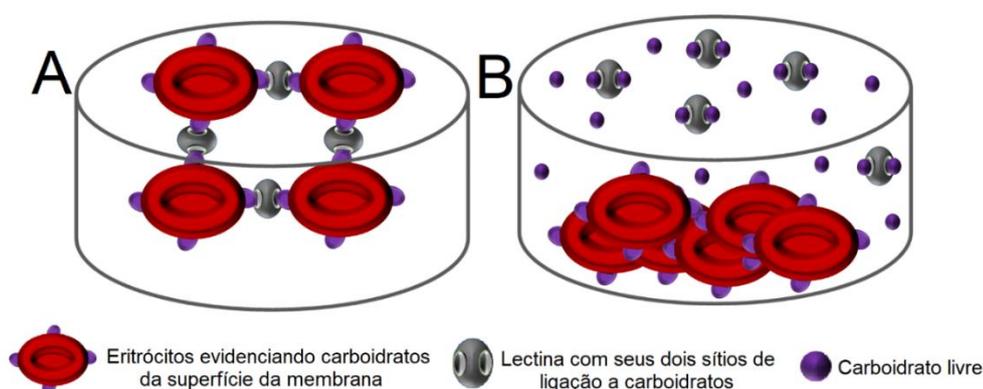


Figura 1. (A) Ensaio de atividade hemaglutinante utilizando eritrócitos humanos ou de outros animais, empregado para detecção da presença de lectinas em determinada amostra. (B) Ensaio de inibição da atividade hemaglutinante realizado em presença de carboidratos livres com o objetivo de confirmar a presença de lectinas em amostras contendo atividade hemaglutinante, ou de determinar a especificidade das lectinas detectadas.

Lectinas têm sido isoladas de plantas, algas, fungos, animais vertebrados ou invertebrados, bactérias e vírus. Em vegetais, elas são detectadas em várias de espécies (LORIS, 2002; SHARON; LIS, 2004; ALENCAR et al., 2005). As sementes de leguminosas constituem a principal fonte de lectinas, sendo estimado um teor de até 15% de todo seu conteúdo de proteínas. Porém, elas também estão presentes em outros tecidos vegetais, como: raiz, folha, talo, vagem, frutas, flores e casca (LAGARDA-DIAZ; GUZMAN-PARTIDA; VAZQUEZ-MORENO, 2017).

É bem conhecido que as lectinas podem estar envolvidas nos mecanismos de defesa dos organismos multicelulares, desempenhando um importante papel na imunidade inata. Essa função está associada com epítopos de glicano semelhantes que ocorrem na superfície celular de patógenos e que podem consistir em sítios alvo

para reconhecimento pelas lectinas (WOHLSCHLAGER et al., 2014). Esse envolvimento das lectinas nos mecanismos de defesa dos animais e das plantas pode estar relacionado com a sua habilidade de aglutinar e imobilizar células, bem como na toxicidade para alguns tipos celulares, incluindo microrganismos. A interação das lectinas na superfície celular pode levar à inibição do crescimento ou à morte por lise celular (PROCÓPIO et al., 2017a).



Figura 2. Aspecto do ensaio para detecção da presença de lectinas utilizando eritrócitos mostrando a ausência de atividade hemaglutinante e a formação da malha de hemaglutinação.

Duas evidências suportam o papel das lectinas no mecanismo de defesa das plantas: I. a presença de lectinas nos sítios de invasão por agentes infecciosos e II. a capacidade de ligação de lectinas à parede celular de vários fungos e sua habilidade em inibir o crescimento e a germinação de esporos (CHARUNGCHITRAK et al., 2011). De fato, o papel de lectinas no mecanismo de defesa de plantas pode ter evoluído da capacidade destas proteínas em aglutinar e imobilizar microrganismos (KHEEREE et al., 2010).

3. Lectinas como ferramentas terapêuticas

Um levantamento feito até o ano de 2006 nos mercados farmacêuticos da América do Norte, Europa e Japão mostrou que 48,6% do total de 155 fármacos anticâncer clinicamente aprovados provêm de produtos naturais (NEWMAN; CRAGG, 2007). Neste sentido, as lectinas de plantas chamam a atenção de pesquisadores da área devido a sua capacidade antiproliferativa versátil (LI et al., 2010; ALBUQUERQUE et al., 2014) e indutora de morte celular programada incluindo apoptose e autofagia em células cancerígenas (LIU; MIN; BAO, 2009; LIU; BIAN; BAO, 2010)

Exemplos interessantes são a concanavalina A (ConA) que é uma proteína com domínio de lectina purificada de uma leguminosa (*Canavalia ensiformis*), a lectina da *Polygonatum cyrtonema* (PCL) da família GNA e as lectinas do visco (MLs) da família ricina-B (proteína inativadora de ribossomos), que exibem atividade antitumoral notável por induzirem tanto apoptose quanto morte celular autofágica (ZHANG et al., 2012).

Três hipóteses existem para tentar entender como as lectinas de plantas determinam a morte de vários tipos de células cancerígenas: I. A lectina pode entrar na célula por endocitose e localizar seletivamente o seu alvo (por exemplo, alguma organela); II. A lectina pode ligar-se a receptores glicosilados, iniciando uma cascata de sinalização e III. A lectina pode causar inativação direta dos ribossomos (LIU et al., 2013).

Muitas lectinas de plantas são tóxicas para células humanas saudáveis ou podem produzir resposta de resistência a medicamentos; uma solução para isso poderia ser a modificação da molécula de lectina por mutação direta, com o objetivo de conceber outra substância sintética ideal como droga antitumor para utilização terapêutica com maior eficiência e menor toxicidade (MAIESE et al., 2012).

Além do efeito citotóxico, algumas lectinas de plantas têm sido utilizadas como ferramenta diagnóstica para diferenciar tumores malignos de benignos, e para marcar o grau de glicosilação associado com a metástase tumoral (LIU et al., 2013). Essa aplicação é possível devido à reconhecida alteração no padrão de glicosilação das células tumorais quando comparadas às células saudáveis, entre outros motivos, devido à expressão diferencial de enzimas da via de glicosilação.

ConA foi a primeira lectina de leguminosa a ser purificada e cristalizada (SUMNER; HOWELL, 1936). Desde então, essa lectina tem sido intensamente estudada e até utilizada como padrão em estudos utilizando outras lectinas. Muitos destes relatos apontam ConA como uma potente ferramenta citotóxica que induz apoptose em fibroblastos (KULKARNI; MCCULLOCH, 1995), neurônios (CRIBBS et al., 1996), macrófagos da linhagem PU5-1.8 (SUEN et al., 2000), células A375 de melanoma humano e HepG2 de carcinoma hepatocelular humano (LIU; MIN; BAO, 2009). Além disso, foi demonstrado que ConA se liga preferencialmente a astrócitos reativos, (GERVASI; KWOK; FAWCETT, 2008), desencadeando morte celular apoptótica nessas células (YOSHIDA; NAGAI, 2009).

Indução de morte celular autofágica por ConA foi mostrada em células de hepatoma (LI et al., 2010) e na linhagem de glioma U87 (PRATT et al., 2012). Trabalhos têm mostrado que tanto a apoptose quanto a autofagia induzida por ConA ocorrem de forma mediada pelas mitocôndrias (CHANG et al., 2007; LIU; MIN; BAO, 2009; LI et al., 2010). Além da indução de apoptose e autofagia, ação antiangiogênica e de imunomodulação também foram descritas para a ConA. Knaut (2016) reportou que ConA e Dviol (Lectina extraída da semente de *Dioclea violacea*), induzem a morte celular autofágica de células C6 de glioma de rato.

Várias outras lectinas de plantas apresentaram toxicidade para células malignas “*in vitro*”. Por exemplo, a lectina de *Amaranthus caudatus* (ACA) apresentou atividade citotóxica e antiproliferativa contra células cancerígenas do cólon humano (YU et al., 2001). A aglutinina (WGA) do trigo (*Triticum aestivum* L.) foi capaz de se ligar a receptores de membrana de células de carcinoma pancreático humano, sendo internalizada e promovendo a apoptose e a condensação da cromatina (SCHWARZ et al., 1999). Embora as lectinas pareçam ter grande potencial como agentes antitumoral, mais pesquisas ainda são necessárias e devem incluir uma abordagem genômica e proteômica.

Conforme será discutido a seguir, muitos estudos têm sido desenvolvidos no cenário científico internacional com o objetivo de apontar novos terapêuticos antimicrobianos de origem natural, incluindo as lectinas. Entretanto, trabalhos que revelem o mecanismo de ação antibacteriana ou antifúngica ainda são minoria. A definição desses mecanismos é um importante passo para a efetiva aplicação de novas drogas, uma vez que pode ser útil para definir estratégias de administração, aumentar a eficácia de possíveis formulações ou propor o uso como sinergistas de antibióticos já utilizados, bem como prever mecanismos prováveis de futura e inevitável resistência microbiana.

De fato, a parede celular das bactérias dificulta a interação entre glicoconjugados da membrana celular e proteínas ligadoras de carboidratos, além de dificultar a entrada dessas proteínas na célula. Contudo, a atividade antibacteriana contra bactérias Gram-positivas ou Gram-negativas depende da interação das lectinas com componentes da parede celular, incluindo ácido teicóico e teicurônico, peptidoglicanos, e lipopolissacarídeos através de ligações fracas como pontes de hidrogênio e interações hidrofóbicas (PAIVA et al., 2010).

Apesar dessa dificuldade das lectinas em interagir com a membrana bacteriana ou penetrar na célula devido à presença da parede celular, algumas lectinas têm sido relacionadas com a capacidade de formar poros, o que causa a permeabilização da membrana bacteriana, resultando na extrusão do conteúdo celular. Um interessante exemplo é a lectina denominada RegIII α , a qual juntamente com outras lectinas tipo C RegIII são proteínas que melhoram a tolerância à microbiota intestinal por impedir a interação da bactéria com o epitélio intestinal humano. Mukherjee et al. (2014), através da quantificação da absorção do corante fluorescente *SYTOX green*, ao qual a membrana celular é impermeável sob condições normais, demonstraram que essa lectina liga fosfolipídios da membrana de bactérias Gram-positivas, causando a morte pela indução da formação de um poro hexamérico.

Em adição, os autores observaram que a lectina induz o rápido efluxo do corante fluorescente carboxyfluoresceína de lipossomas contendo fosfolipídios ácidos. Esse dado indicou que as interações de RegIII α com a bicamada lipídica envolve interações eletrostáticas entre a lectina e lipídios ácidos na membrana bacteriana. Interessantemente, a atividade formadora de poro de RegIII α foi inibida por lipopolissacarídeos, os principais constituintes da membrana externa de bactérias Gram-negativas, explicando porque RegIII α é apenas bactericida contra Gram-positivas.

A lectina RegIII β , a qual tem sua expressão regulada em resposta à colonização bacteriana no intestino de murinos, é hábil em ligar a porção lipídica do lipopolissacarídeo (LPS), o principal componente da membrana externa de bactérias Gram-negativas (MIKI; HARDT, 2013). Estes autores mostraram que a cobertura da face exposta do lipídio A por um anticorpo anti-lipídio A na membrana de *Salmonella typhimurium* resulta na inibição do efeito bactericida de RegIII β , e concluíram que a interação entre a lectina e o LPS na superfície da bactéria é essencial para a atividade antibacteriana. Ainda, experimentos utilizando um corante fluorescente para intercalação com DNA (brometo de etídio) revelaram que RegIII β é realmente capaz de permeabilizar a membrana externa de *S. typhimurium*.

Moura et al. (2015) reportaram a atividade antibacteriana da lectina solúvel em água isolada das sementes de *Moringa oleifera* (WSMoL) contra bactérias corrosivas. Os Estes autores mostraram que o tratamento de *Serratia marcescens* com WSMoL resultou na perda da integridade da parede e da membrana celular e na forte extrusão

de proteínas intracelulares de uma forma dose-dependente, sugerindo que este é um outro exemplo de lectina hábil em alterar a permeabilidade da membrana celular de bactérias.

A lectina do germe de trigo (WGA) causou aglutinação de células de *Neisseria gonorrhoeae* e os autores sugeriram a sua aplicação para o diagnóstico de gonorreia (SCHAEFER et al., 1979). A lectina das sementes de *Archidendron jiringa* Nielsen, mesmo em baixas concentrações, purificada por cromatografia de afinidade em ConA - Sepharose 4B, inibiu o crescimento das bactérias *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus* e da levedura *Candida albicans* (CHARUNGCHITRAK et al., 2011).

Ratanapo, Ngamjunyaporn e Chulavatnatol (2001) mostraram que as lectinas provenientes das folhas da *Morus alba* (MLL 1 e MLL2) ligam de maneira específica o ácido N-glicosilneuramínico, sendo citotóxicas para bactérias fitopatogênicas, o que pode ser um reflexo do envolvimento dessa lectina na defesa da planta. Athamna et al. (2006) analisaram os diferentes padrões de aglutinação de bactérias promovidas por 23 lectinas e mostraram que a interação lectina-bactéria é uma boa ferramenta para identificar rapidamente espécies de *Mycobacterium*.

A atividade antifúngica de lectinas também tem sido reportada, e está comumente associada com a habilidade dessas proteínas em interagir com resíduos de N-acetilglicosamina na quitina da parede celular dos fungos, resultando na ação inibidora do crescimento e do desenvolvimento desses microrganismos, na redução da absorção de nutrientes, ou também interferindo no processo de germinação de esporos. A inibição do crescimento fúngico pode resultar da ligação das lectinas nas hifas, levando à pobre absorção de nutrientes. As lectinas também podem interferir na germinação de esporos ou prejudicar a síntese ou a deposição de quitina na parede celular (SÁ et al., 2009; COELHO et al., 2017).

Em 1936, Sumner e Howell mostraram em seus estudos clássicos que a ConA era capaz de aglutinar espécies de *Mycobacterium* e *Actinomyces*. Nos últimos anos, as pesquisas com lectinas antifúngicas têm se intensificado. Estudos mais aprofundados revelaram que a lectina isolada da folha de *Calliandra surinamensis* (CasuL) foi hábil em inibir o crescimento de *Candida krusei*, e microscopia de contraste de interferência diferencial (DIC) revelou que a lectina induziu alterações morfológicas drásticas, incluindo retração do conteúdo citoplasmático e a presença de ruptura celular ou detritos celulares (PROCÓPIO et al., 2017b).

O tratamento com CasuL também pode ter prejudicado a divisão celular de *C. krusei* uma vez que os autores observaram muitas células com brotamento ou divisão celular incompleta. Em adição, trabalhando com o fluorocromo calcofluor, o qual é capaz de ligar à quitina presente na parede celular da levedura e pode ser usado para indicar sua integridade, Os autores observaram que CasuL afetou a integridade da parede celular de *C. krusei*, e concluíram que isso pode ser devido à desintegração da parede celular ou à ligação entre a lectina e a quitina, impedindo a síntese *de novo* da parede celular durante o desenvolvimento ou a divisão celular da levedura.

Lectinas antifúngicas também são hábeis em causar mudanças na permeabilidade celular dos fungos, como é o caso da lectina de plântulas de *Helianthus annuus* (sunflower) denominada Helja. Essa lectina causou alteração na permeabilidade da membrana plasmática de *Candida tropicalis*, *Pichia membranifasciens*, e *Candida albicans*, e estes resultados foram detectados através de microscopia de fluorescência (REGENTE et al., 2014). O tratamento de *C. tropicalis* com a lectina Helja também resultou na produção de espécies reativas de oxigênio.

A lectina isolada da semente de *Lutzelburgia auriculata* (LAL), que se liga a N-acetil-D-galactosamina, D-lactose, D-melibiose, D-galactose ou rafinose, inibiu o crescimento de *Colletotrichum lindemuthianum*, *Fusarium solani* e *Aspergillus Niger* (OLIVEIRA et al., 2002; MELO et al., 2005), enquanto a lectina da semente de *Phaseolus vulgaris* (PHA) suprimiu o crescimento dos fungos *Fusarium oxysporum*, *Coprinus comatus* e *Rhizoctonia solani* (YE et al., 2001).

O efeito de lectinas sobre vírus também tem sido estudado e a atividade antiviral dessas proteínas parece depender da sua habilidade em se ligar a oligossacarídeos que contém manose presentes nas superfícies das glicoproteínas do envelope viral (BOTOS; WLODAWER, 2005; BALZARINI, 2006). Essa interação entre as lectinas e as glicoproteínas virais pode impedir ou dificultar a interação com as células hospedeiras. Lectinas que se utilizam deste mecanismo são conhecidas como lectinas ligantes de manose (MBL) (LIU et al., 2014). A lectina de banana (*Musa acuminata*), denominada BanLec, foi capaz de ligar uma proteína glicosilada do envelope do vírus HIV-1, bloqueando sua entrada na célula hospedeira (SWANSON et al., 2010).

A lectina de sementes de *Parkia pendula* (PpeL) inibiu a infectividade do citomegalovírus humano (HCMV) "*in vitro*", mas não foi capaz de atuar sobre o vírus

6 da herpes humana (HIV-6) sugerindo especificidade e seletividade para esta atividade (FAVACHO et al., 2007).

A aplicabilidade das lectinas no reparo de lesões tem estimulado muitos estudos nessa área como os que avaliaram efeitos cicatrizantes das lectinas de *Dioclea violácea* (Dviol), *Canavalia brasiliensis* (ConBr), *Canavalia ensiformis* (ConA) e *Cratylia mollis* (Cramoll 1,4) em feridas cutâneas (SILVA et al., 2009; MELO et al., 2011).

Relatos prévios revelaram que a lectina ConBr está envolvida na indução da síntese de proteases com atividade colagenolítica envolvidas no processo de cicatrização de feridas (SILVA et al., 2009).

A lectina extraída das sementes de *C. Brasiliensis*, ConBr, apresenta especificidade para D-glucose/D-manose e atua na proliferação de células do sistema imunológico e na produção de citocinas em ratos (SILVA et al., 2011). Dubois et al. (1998) demonstraram que a lectina ConA induz a produção da MMP-9 (gelatinase B) por linfócitos *in vitro*; essa protease em associação com a MMP-2 (gelatinase A) é fundamental para o processo de cicatrização de feridas e reparo tecidual (SILVA et al., 2009).

A aplicação tópica de hidrogel contendo Cramoll 1,4 no tratamento de queimaduras de segundo grau acelerou a granulação, retração e o processo reepitelização em feridas cutâneas de ratos (PEREIRA et al., 2012). Melo et al. (2011), mostraram que o tratamento de feridas cutâneas em camundongos normais e imunocomprometidos com Cramoll 1,4 promoveu excelente fechamento e reparo das feridas em menor tempo quando comparado com o grupo controle.

4. Considerações finais

A capacidade das lectinas em reconhecer carboidratos, precipitar glicoconjugados e aglutinar vários tipos celulares acarreta nas diversas aplicações biológicas e biotecnológicas descritas nesta revisão, e expressas pela capacidade de combater infecções e inflamações, revelar a presença de células anormais ou atuar como biomarcadores em várias doenças, ou ainda atuar nos processos de cicatrização através da indução do fechamento de feridas e da reepitelização de tecidos injuriados. A utilização de lectinas para produção de novos fármacos torna-se vantajosa diante da alta toxicidade que alguns agentes terapêuticos utilizados

atualmente exercem sobre células saudáveis do hospedeiro, o que se reflete em fortes efeitos colaterais comumente observados em diversas terapias. Em adição, é também vantajoso o emprego das lectinas como novas alternativas para tratar infecções microbianas devido ao reconhecido desenvolvimento de resistência por diversas espécies de microorganismos aos antibióticos atualmente utilizados. Em conclusão, as lectinas parecem ser alternativas interessantes para melhoria na qualidade do diagnóstico e sucesso terapêutico.

5. Agradecimentos

Os autores expressam sua gratidão ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo fomento à pesquisa (408789/2016-6). Isabella C. Vila Nova agradece à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pela bolsa de Iniciação Científica (BIC-2201-2.09/17). Welton A. de Almeida agradece ao CNPq pela bolsa de estudos de pós-graduação. Joaquim Evêncio Neto agradece ao CNPq pela bolsa de produtividade em pesquisa.

6. Referências

AGRA-NETO, A. C.; NAPOLEÃO, T.H.; PONTUAL, E.V.; SANTOS, N.D.; LUZ, L DE A.; DE OLIVEIRA, C.M.; DE MELO-SANTOS, M.A.; COELHO, L.C.; NAVARRO, D.M.; PAIVA, P.M. Effect of *Moringa oleifera* lectins on survival and enzyme activities of *Aedes aegypti* larvae susceptible and resistant to organophosphate. **Parasitology Research** (1987. Print), v. 113, p. 175-184, 2014.

ALBUQUERQUE, L. P.; PONTUAL, E.V.; SANTANA, G.M.; SILVA, L.R.; AGUIAR, J DOS S.; COELHO, L.C.; RÊGO, M.J.; PITTA, M.G.; DA SILVA, T.G.; MELO, A.M.; NAPOLEÃO, T.H.; PAIVA, P.M. Toxic effects of *Microgramma vacciniifolia* rhizome lectin on *Artemia salina*, human cells, and the schistosomiasis vector *Biomphalaria glabrata*. **Acta Tropica**, v. 138, p. 23-27, 2014.

ALENCAR, V. B.; ALENCAR, M.N.N.; ASSREUY, A.M.S.; MOTA, M.L.; BRITO, G.A.C.; ARAGÃO, K.S.; BITTENCOURT, F.S; PINTO, V.P.T.; DEBRAY, M.; RIBEIRO, R.A.; CAVADA, B.S. Lectin of *Pisum arvense* seeds induces in-vivo and in-vitro neutrophil migration. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 57, p. 375-381,

2005.

ATHAMNA, A.; COHEN, D.; ATHAMNA, M.; OFEK, I.; STAVRI, H. Rapid identification of Mycobacterium species by lectin agglutination. **Journal of Microbiological Methods**, v. 65, n. 2, p. 209-215, 2006.

BALZARINI, J. Inhibition of HIV entry by carbohydrate-binding proteins. **Antiviral Research**, v. 2-3, p. 237-47, 2006.

BOTOS, I.; WLODAWER, A. Proteins that bind high-mannose sugars of the HIV envelope. **Progress in Biophysics and Molecular Biology**, v. 2, p. 233-82, 2005.

BOYD, W. C.; SHAPLEIGH, E. Specific precipitating activity of plant agglutinins (lectins), **Science**, v. 119, p. 419, 1954.

BRUSTEIN, V. P.; SOUZA-ARAÚJO, F.V.; VAZ, A.F.; ARAÚJO, R.V.; PAIVA, P.M.; COELHO, L.C.; CARNEIRO-LEÃO, A.M.; TEIXEIRA, J.A.; CARNEIRO-DA-CUNHA, M.G.; CORREIA, M.T. A novel antimicrobial lectin from *Eugenia malaccensis* that stimulates cutaneous healing in mice model. **Inflammopharmacology**, v. 20, p. 315–322, 2012.

CHANG, C. P.; YANG, M.C.; LIU, H.S.; LIN, Y.S.; LEI, H.Y. Concanavalin A induces autophagy in hepatoma cells and has a therapeutic effect in a murine in situ hepatoma model. **Hepatology**, v. 45, p. 286-296, 2007.

CHARUNGCHITRAK, S.; PETSOM, A.; SANGVANICH, P.; KARNCHANATAT, A. Antifungal and antibacterial activities of lectin from the seeds of *Archidendron jiringa* Nielsen. **Food Chemistry**, v. 126, p. 1025-1032, 2011.

COELHO, L. C. B. B.; SILVA, P.M.; LIMA, V.L.; PONTUAL, E.V.; PAIVA, P.M.; NAPOLEÃO, T.H.; CORREIA, M.T. Lectins, Interconnecting Proteins with Biotechnological/Pharmacological and Therapeutic Applications. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, p. 1-22, 2017.

CRIBBS, D. H.; KRENG, V.M.; ANDERSON, A.J.; COTMAN, C.W. Crosslinking of concanavalin A receptors on cortical neurons induces programmed cell death. **Neuroscience**, v. 75, p. 173-185, 1996.

DUBOIS, B.; PEUMANS, W.J.; VAN DAMME, E.J.; VAN DAMME, J.; OPDENAKKER, G. Regulation of gelatinase B (MMP-9) in leukocytes by plant lectins. **FEBS Letters**, p. 427-275, 1998.

FAVACHO, A. R. M.; CINTRA, E.A.; COELHO, L.C.; LINHARES, M.I. In vitro activity evaluation of *Parkia pendula* seed lectin against human cytomegalovirus and herpes virus 6. **Biologicals**, v. 35, p. 189-194, 2007.

FIGUEIROA, E. O.; DA CUNHA, C.R.A.; ALBUQUERQUE, P.B.S.; DE PAULA, R.A.; ARANDA-SOUZA, M.A.; ALVES, M.S.; ZAGMIGNAN, A.; CARNEIRO-DA-CUNHA, M.G.; DA SILVA L.C.N.; DOS SANTOS CORREIA, M.T. Lectin-Carbohydrate Interactions: Implications for the Development of New Anticancer Agents. **Current Medicinal Chemistry**, v. 24, n. 34, p. 3667-3680, 2017.

FUSTER, M. M.; BROWN, J.R.; WANG, L.; ESKO, J.D. A disaccharide precursor of sialyl Lewis X inhibits metastatic potential of tumor cells. **Cancer Research**. v. 63, p. 2775-2781, 2003.

GERVASI, N. M.; KWOK, J. C.; FAWCETT, J. W. Role of extracellular factors in axon regeneration in the CNS: implications for therapy. **Regenerative Medicine**, v. 3, p. 907-923, 2008.

KHEEREE, N.; SANGVANICH, P.; PUTHONG, S.; KARNCHANATAT, A. Antifungal and antiproliferative activities of lectin from the rhizomes of *Curcuma amarissima* Roscoe. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 162, p. 912- 925, 2010.

KNAUT, J. L. **Avaliação do efeito citotóxico de lectinas extraídas de leguminosas sobre células de glioma C6**. Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de

Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Neurociências. Florianópolis, SC, 2016, 101p.

KULKARNI, G. V.; MCCULLOCH, C. A. Concanavalin A induced apoptosis in fibroblasts: the role of cell surface carbohydrates in lectin mediated cytotoxicity. **Journal of Cellular Physiology**, v. 165, p. 119-133, 1995.

LACERDA, R. R.; DE LACERDA, A.C.S.; VIANA, G.S.B.; PESSOA, H.L.F.; MOREIRA, I.C.; CABRAL, N.L.; FELIPE, C.F.B.; GADELHA, C.A.A.; NASCIMENTO, J.S.J.; LUCETTI, A.L.; SANTI-GADELHA, T. Lectin isolated from Brazilian seeds of velvet bean (*Mucuna pruriens* (L) DC.) presents analgesic, anti-inflammatory and antihemolytic action. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 9, n. 8, p. 231-242, 2015.

LAGARDA-DIAZ, I.; GUZMAN-PARTIDA, A. M.; VAZQUEZ-MORENO, L. Legume Lectins: Proteins with Diverse Applications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 6, 2017.

LI, C. Y.; XU, H.L.; LIU, B.; BAO, J.K. Concanavalin A, from an Old Protein to Novel Candidate Anti-Neoplastic Drug. **Current Molecular Pharmacology**, v. 3, p. 123-128, 2010.

LIU, B.; MIN, M. W.; BAO, J. K. Induction of apoptosis by Concanavalin A and its molecular mechanisms in cancer cells. **Autophagy**, v. 5, p. 432-433, 2009.

LIU, B.; BIAN, H. J.; BAO, J. K. Plant lectins: potential antineoplastic drugs from bench to clinic. **Cancer Letters**, v. 287, p. 1-12, 2010.

LIU, Z.; LUO, Y.; ZHOU, T.T.; ZHANG, W.Z. Could plant lectins become promising anti-tumour drugs for causing autophagic cell death. **Cell Proliferation**, v. 46, p. 509-515, 2013

LIU, F.; DAI, S.; GORDON, J.; QIN, X. Complement and HIV-1 infection/HIV-associated

neurocognitive disorders. **Journal of NeuroVirology**, v. 20, p. 184-98, 2014.

LORIS, R. Principles of structures of animal and plant lectins. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1572, p. 198– 208, 2002.

MAIESE, K.; CHONG, Z.Z.; SHANG, Y.C.; WANG, S. Targeting disease through novel pathways of apoptosis and autophagy. **Expert Opinion on Therapeutic Targets**, v. 16, p. 1203-1214, 2012.

MELO, C. M. L.; PORTO, C.S.; MELO-JÚNIOR, M.R.; MENDES, C.M.; CAVALCANTI, C.C.; COELHO, L.C.; PORTO, A.L.; LEÃO, A.M.; CORREIA, M.T. Healing activity induced by Cramoll1,4 lectin in healthy and immunocompromised mice. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 408, p. 113-119, 2011.

MELO, V. M. M.; VASCONCELOS, I.M.; GOMES, M.V.; DA CUNHA, M.; SOARES, A.A.; OLIVEIRA, J.T.A. A cotyledonary agglutinin from *Luetzelburgia auriculata* inhibits the fungal growth of *Colletotrichum lindemuthianum*, *Fusarium solani* and *Aspergillus niger* and impairs glucose-stimulated acidification of the incubation medium by *Saccharomyces cerevisiae* cells. **Plant Science**, v. 169, p. 629-639, 2005.

MIKI, T.; HARDT, W. D. Outer Membrane Permeabilization Is an Essential Step in the Killing of Gram-Negative Bacteria by the Lectin RegIII β . **Plos One**, v. 8, 2013.

MOURA, M.C.; NAPOLEÃO, T.H.; CORIOLANO, M.C.; PAIVA, P.M.; FIGUEIREDO, R.C.; COELHO, L.C. Water-soluble *Moringa oleifera* lectin interferes with growth, survival and cell permeability of corrosive and pathogenic bacteria. **Journal of Applied Microbiology**, v. 119, n. 3, p. 666-676, 2015.

MUKHERJEE, S.; ZHENG, H.; DEREBE, M.G.; CALLENBERG, K.M.; PARTCH, C.L.; ROLLINS, D.; PROPHETER, D.C.; RIZO, J.; GRABE, M.; JIANG, Q.X.; HOOPER, L.V. Antibacterial membrane attack by a pore-forming intestinal C-type lectin. **Nature**, v. 199, n. 7481, p. 103-107, 2014.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Last 25 Years. **Journal of Natural Products**, v. 70, p. 461-477, 2007.

OLIVEIRA, J. T.; MELO, V.M.; CÂMARA, M.F.; VASCONCELOS, I.M.; BELTRAMINI, L.M.; MACHADO, O.L.; GOMES, V.M.; PEREIRA, S.P.; FERNANDES, C.F.; NUNES, E.P.; CAPISTRANO, G.G.; MONTEIRO-MOREIRA, A.C. Purification and physicochemical characterization of a cotyledonary lectin from *Luetzelburgia auriculata*. **Phytochemistry**, v. 61, n. 3, p. 301-310, 2002.

PAIVA, P. M. G.; GOMES, F.S.; NAPOLEÃO, T.H.; SÁ, R.A.; CORREIA, M.T.S.; COELHO, L.C.B.B. Antimicrobial activity of secondary metabolites and lectins from plants. **Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology**, v. 1, p. 396-406, 2010.

PAIVA, P. M. G.; PONTUAL, E.V.; NAPOLEÃO, T.H.; COELHO, L.C.B.B. Effects of Plant Lectins and Trypsin Inhibitors on Development, Morphology and Biochemistry of Insect Larvae. In: Kia Pourali; Vafa Niroomand Raad. (Org.). Larvae: Morphology, Biology and Life Cycle. 1ed. New York: **Nova Publishers Sciences**, p. 37-55, 2012.

PEREIRA, D. S. T.; LIMA-RIBEIRO, M.H.; SANTOS-OLIVEIRA, R.; CAVALCANTI, C.D.E.L.; DE PONTES-FILHO, N.T.; COELHO, L.C.; CARNEIRO-LEÃO, A.M.; CORREIA, M.T. Topical Application Effect of the Isolectin Hydrogel (Cramoll 1,4) on Second-Degree Burns: Experimental Model. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 2012, p. 11, 2012.

POVINELI, K. L.; FINARDI FILHO, F. The multiple functions of plant lectins. *Nutrire. Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição*, v. 24, p. 135-156, 2002.

PRATT, J.; ROY, R.; ANNABI, B. Concanavalin-A-induced autophagy biomarkers requires membrane type-1 matrix metalloproteinase intracellular signaling in glioblastoma cells. **Glycobiology**, v. 22, p. 1245-1255, 2012.

PROCÓPIO, T. F.; DE SIQUEIRA PATRIOTA, L.L.; DE MOURA, M.C.; DA SILVA,

P.M.; DE OLIVEIRA, A.P.; DO NASCIMENTO CARVALHO, L.V.; DE ALBUQUERQUE LIMA, T.; SOARES, T.; DA SILVA, T.D.; BREITENBACH COELHO, L.C.B.; PITTA, M.G.R.; RÊGO, M.J.M.; BRESSAN QUEIROZ DE FIGUEIREDO, R.C.; PAIVA, P.M.G.; NAPOLEÃO, T.H. CasuL: A new lectin isolated from *Calliandra surinamensis* leaf pinnulae with cytotoxicity to cancer cells, antimicrobial activity and antibio film effect. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 98, p. 419-429, 2017a.

PROCÓPIO, T. F. PRATIOTA, L.; MOURA, M.; NAPOLEÃO, T.H. Antibacterial Lectins: Action Mechanisms, Defensive Roles and Biotechnological Potential. In: Erika Collins. (Org.). **Antibacterials: Synthesis, Properties and Biological Activities**. 1ed. New York: Nova Science Publishers, Inc., 2017b, p. 69-89.

RAMOS, M. V.; CAVADA, B.S.; MAZARD, A.M.; ROUGÉ, P. Interaction of Diocleinae lectins with glycoproteins based in surface plasmon resonance. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, p. 275-279, 2002.

RATANAPO, S.; NGAMJUNYAPORN, W.; CHULAVATNATOL, M. Interaction of a mulberry leaf lectin with a phytoathogenic bacterium, *P. syringae* pv *mori*. **Plant Science**, v. 160, p. 739-744, 2001.

REGENTE, M.; TAVEIRA, G.B.; PINEDO, M.; ELIZALDE, M.M.; TICCHI, A.J.; DIZ. M.S.; CARVALHO, A.O.; DE LA CANAL, L.; GOMES, V.M. A Sunflower Lectin with Antifungal Properties and Putative Medical Mycology Applications. **Current Microbiology**, p. 88–95, 2014.

SÁ, R. A.; GOMES, F.S.; NAPOLEÃO, T.H.; SANTOS, N.D.L.; MELO, C.M.L.; GUSMÃO, N.B.; COELHO, L.C.B.B.; PAIVA, P.M.G.; BIEBER, L.W. Antibacterial and antifungal activities of *Myracrodruon urundeuva* heartwood. **Wood Science and Technology**, v. 43, p. 85-95. 2009.

SCHAEFER, R. L.; KELLER, K. F.; DOYLE, R. J. Lectins in diagnostic microbiology: use of wheat germ agglutinin for laboratory identification of *Neisseria gonorrhoeae*.

Journal of Clinical Microbiology, v. 10, p. 669–672, 1979.

SCHWARZ, R. E.; WOJCIECHOWICZ, D.C.; PICON, A.I.; SCHWARZ, M.A.; PATY, P.B. Wheatgerm agglutinin-mediated toxicity in pancreatic cancer cells. **British Journal of Cancer**, v. 80, n. 11, p. 1754–1762, 1999.

SHARON, N.; LIS, H. History of lectins: from hemagglutinins to biological recognition molecules. **Glycobiology**, v. 14, n. 11, p. 53–62, 2004.

SILVA, F. O.; ARAUJO, R.V.S.; SCHIRATO, G.V.; TEIXEIRA, E.H.; MELO JUNIOR, M.R.; CAVADA, B.S.; LIMA-FILHO, J.L.; CARNEIRO-LEÃO, A.M.A.; PORTO, A.L.F. Perfil de proteases de lesões cutâneas experimentais em camundongos tratados com lectina isolada das sementes de *Canavalia brasiliensis*. **Ciência Rural**, v. 39, n. 9, p. 1808-1814, 2009.

SILVA, F. O.; DAS NEVES SANTOS, P.; DE MELO, C.M.; TEIXEIRA, E.H.; DE SOUSA CAVADA, B.; ARRUDA, F.V.; CAJAZEIRAS, J.B.; ALMEIDA, A.C.; PEREIRA, V.A.; PORTO, A.L. Immunostimulatory activity of ConBr: a focus on splenocyte proliferation and proliferative cytokine secretion. **Cell and Tissue Research**, v. 2, n. 346, p. 237-244, 2011.

SUEN, Y. K.; FUNG, K.P.; CHOY, Y.M.; LEE, C.Y.; CHAN, C.W.; KONG, S.K. Concanavalin A induced apoptosis in murine macrophage PU5-1.8 cells through clustering of mitochondria and release of cytochrome c. **Apoptosis**, v. 5, p. 369-377, 2000.

SUMNER, J. B.; HOWELL, S. F. Identification of Hemagglutinin of Jack Bean with Concanavalin A. **Journal of Bacteriology**, v. 32, p. 227-237, 1936.

SWANSON, M. D.; WINTER, H.C.; GOLDSTEIN, I.J.; MARKOVITZ, D.M. lectin isolated from bananas is a potent inhibitor of HIV replication. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 285, n. 12, p. 8646-55, 2010

VAN DAMME, E. J.; PEUMANS, W.J.; BARRE, A.; ROUGE, P. Plant lectins: A

composite of several distinct families of structurally and evolutionary related proteins with diverse biological roles. **Critical Reviews in Plant Sciences**. v. 17, p. 575-692, 1998.

WOHLSCHLAGER, T.; BUTSCHI, A.; GRASSI, P.; SUTOV, G.; GAUSS, R.; HAUCK, D.; SCHMIEDER, S.S.; KNOBEL, M.; TITZ, A.; DELL, A.; HASLAM, S.M.; HENGARTNER, M.O.; AEBI, M.; KÜNZLER, M. Methylated glycans as conserved targets of animal and fungal innate defense. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.8, n. 111, p. 2787–2796, 2014.

WU, G.; CUI, H.R.; YE, G.; SHU, Q.Y. Stripped stem borer (*Chilo suppressalis*) resistant transgenic rice with a *cry1Ab* gene from *Bt* (*Bacillus thuringiensis*) and its rapid screening. **Journal of Zhejiang University**, v. 19, n. 3, p. 15-18, 2000.

YE, X. Y.; NG, T.B.; TSANG, P.W.; WANG, J. Isolation of a homodimeric lectin with antifungal and antiviral activities from red kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds. **Journal of Protein Chemistry**, v. 20, p. 367-375, 2001.

YOSHIDA, H.; NAGAI, K. Induction of apoptotic cell death preferentially in reactive astrocytes by concanavalin A. **Journal of Bioscience and Bioengineering**. v. 108, p. 248-251, 2009.

YU, L. G.; MILTON, J.D.; FERNIG, D.G.; RHODES, J.M. Opposite effects on human colon cancer cell proliferation of two dietary Thomsen Friedenreich antigen-binding lectins. **Journal of Cellular Physiology**, v. 186, n. 2, p. 282–287, 2001.

ZHANG, X.; CHEN, L.X.; OUYANG, L.; CHENG, Y.; LIU, B. Plant natural compounds: targeting pathways of autophagy as anti-cancer therapeutic agents. **Cell Proliferation**. v. 454, p. 466-476, 2012.

Abstract: Lectins are proteins that contain domains capable of recognizing glycan molecules, to which they bind in a reversible and specific manner. These proteins are involved in the defense mechanisms of multicellular organisms, playing an important

role in innate immunity, generally by recognizing similar glycan epitopes that occur on the pathogens cell surface. In this sense, the pharmacological properties of lectins have been extensively explored, including their potential as antibacterial, antifungal, antiviral, antitumor and cicatrizant agents. The antimicrobial activity of lectins has been associated with the interaction with cell wall components from bacteria (teichoic and teicuronic acid, peptidoglycans and lipopolysaccharides) or fungi (N-acetylglucosamine) and pore formation, altering cell permeability. The effect of lectins on viruses involves the binding with oligosaccharides containing mannose residues on the surfaces of glycoproteins from viral envelope. In addition, the antitumor activity of lectins is associated with the combination between the alteration in the glycosylation pattern of tumor cells regarding the healthy cells, and the specificity of the lectin-carbohydrate interaction. On the healing effect, this may be linked to the ability of lectins to induce the production of proteases by cells of the immune system, which are fundamental for the tissue repair process. In this context, this review presents a discussion on the use of lectins as therapeutic tools.

Key words: Lectins, antimicrobial activity, antiviral activity, antitumor activity, healing activity

ARTIGO 02

Artigo para submissão na Revista Ciência Rural

Avaliação da cicatrização cutânea após aplicação tópica de creme contendo Lectina BmoLL de folhas de *Bauhinia Monandra* Kurz em ratos: Estudo macroscópico e morfológico

Evaluation of cutaneous healing after topical application of BmoLL lectin-containing cream from *Bauhinia Monandra* Kurz leaves in rats: macroscopic and morphological study

RESUMO

O objetivo deste trabalho, foi avaliar a cicatrização de feridas cutâneas após aplicação tópica de um creme contendo Lectina BmoLL em folhas de *Bauhinia Monandra* Kurz. Foram utilizados 40 animais, os quais foram divididos em dois grupos contendo 20 animais cada, formando um grupo tratado (LL) e o grupo controle (L). Cada grupo foi dividido em quatro subgrupos contendo cinco animais cada, que foram avaliados no 4°, 7°, 14° e 21° dias de pós-operatório, respectivamente. Em cada animal foram realizadas duas feridas cirúrgicas (antímero direito e esquerdo) deixando a fáscia muscular adjacente exposta. As feridas foram mensuradas quanto ao grau de contração e avaliadas morfológicamente. O grau de contração das feridas foi significativamente maior no grupo tratado quando comparado ao grupo controle ($p < 0,05$), apresentando também maior preenchimento do tecido de granulação e no processo da re-epitelização. O creme contendo lectina BmoLL de folhas *Bauhinia Monandra* Kurz, mostrou ser eficiente no processo de cicatrização de feridas cutâneas de ratos Wistar.

Palavras-chave: Pata-de-vaca, creme, ferida, Wistar, cicatrização, pele

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the healing of skin wounds after topical application of a cream containing Lectin BmoLL on *Bauhinia Monandra* Kurz leaves. Forty animals were used, which were divided into two groups containing 20 animals each, forming a treated group (LL) and the control group (L). Each group was divided

into four subgroups containing five animals each, which were evaluated on the 4th, 7th, 14th and 21st postoperative days, respectively. In each animal were made two surgical wounds (right and left antimer) leaving the adjacent muscle fascia exposed. Wounds were measured for degree of contraction and morphologically evaluated. The degree of wound contraction was significantly higher in the treated group compared to the control group ($p < 0.05$), also showing greater granulation tissue filling and in the reepithelization process. The cream containing lectin BmoLL of leaves *Bauhinia Monandra* Kurz has been shown to be efficient in the healing process of Wistar rats skin wounds.

Key words: Calf, Cream, Wound, Wistar, Healing, Skin

INTRODUÇÃO

Plantas medicinais são aquelas que administradas ao homem ou outro animal, por qualquer via ou forma, exercem alguma ação terapêutica (ALMASSY JUNIOR et al., 2005). É bem conhecido que os vegetais produzem uma grande variedade de compostos, incluindo as lectinas, que são proteínas não imunológicas que aglutinam hemácias devido sua alta capacidade de se ligar reversivelmente a carboidratos (LIMA et al., 2018).

Diversas pesquisas têm evidenciado a ação das lectinas as quais têm sido reportadas como potenciais agentes inseticidas (AGRA-NETO et al., 2014), antimicrobianos (MOURA et al., 2015), antitumorais (ALBUQUERQUE et al., 2014), anti-inflamatórios (LACERDA et al., 2015) e cicatrizantes (MELO et al., 2011; BRUSTEIN et al., 2012, MELO et al 2014).

A aplicabilidade das lectinas no reparo de lesões tem estimulado muitos estudos nessa área como os que avaliaram efeitos cicatrizantes das lectinas de *Dioclea violácea* (Dviol), *Canavalia brasiliensis* (ConBr), *Canavalia ensiformis* (ConA) e *Cratylia mollis* (Cramoll 1,4) em feridas cutâneas (SILVA et al., 2009; MELO et al., 2011). Lectina BmoLL extraída das folhas da *Bauhinia. monandra* a partir do processo de purificação, possui potentes propriedades anti-inflamatórias e antinociceptivas em experimentos com camundongos (CAMPOS et al., 2016).

Com base em relatos prévios da atividade anti-inflamatório e antinociceptivas, da lectina BmoLL, este trabalho propôs avaliar macroscópica e morfologicamente a

atividade cicatrizante do creme contendo a lectina BmoLL de folhas da *Bauhinia Monandra* Kurz.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal, isolamento da lectina e elaboração do creme

As folhas da *Bauhinia monandra* foram coletadas na Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) no campus Recife, tendo registro nº 33637 pelo Herbário Geraldo Mariz da UFPE.

BmoLL (0.5mg/ml) foi purificada através de um protocolo previamente definido usando uma fração precipitada com sulfato de amônio (0-60%) seguida por cromatografia de afinidade em coluna de gel de guar. A lectina foi mantida a -20 °C (COELHO & SILVA, 2000). Para a detecção da presença da lectina, foi realizada a determinação da atividade hemaglutinante de acordo com Correia e Coelho (1995) e medidas concentrações de proteína por absorbância a 280nm de acordo Lowry et al. (1951).

O creme foi elaborado através da incorporação do isolamento da lectina (553,3 µg/ml) a um veículo (Lanette) seguindo orientação da farmacotécnica. Todo o procedimento foi realizado no Laboratório de Bromatologia do Centro Acadêmico de Vitória - UFPE.

Local e Animais

Para o estudo, foram utilizados 40 ratos macho Wistar, aos três meses de idade, pesando aproximadamente 300g, provenientes do Biotério do Centro Acadêmico de Vitória da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Os animais foram acondicionados em gaiolas individuais, mantidas em temperatura ambiente de 22 °C a 25 °C, expostas a fotoperíodo de 12 horas de luz (400 Lux) por 12 horas de escuridão e com acesso a água e ração (Labina para roedores-Purina), *ad libitum*.

Os animais foram escolhidos aleatoriamente e divididos em dois grupos contendo 20 animais cada, formando um grupo dos animais tratados e um grupo dos animais controle. Cada grupo foi dividido em quatro subgrupos contendo cinco animais cada, os quais foram avaliados no 4°, 7°, 14° e 21° dias pós-operatório, respectivamente.

Para a realização da ferida cirúrgica foi feita uma anestesia dissociativa utilizando cloridrato de xilazina a 2% e cloridrato de quetamina a 10% administrado por via intramuscular nas doses de 10mg/kg e 80mg/kg. Depois de anestesiados os animais foram posicionados em decúbito ventral e submetidos à tricotomia das regiões torácicas dorsolaterais direita e esquerda. Com auxílio de um *punch* de 8 mm de diâmetro foram realizadas duas incisões de pele e tela subcutânea, uma no antímero direito e uma no esquerdo, ficando exposta a fáscia muscular adjacente. Após a mensuração das áreas, com paquímetro digital milimetrado (*King Tools*), cada falha cutânea recebeu o tratamento de acordo com a metodologia estabelecida: animais do grupo tratado (LL), com aplicação tópica diária do creme contendo lectina das folhas da *Bauhinia Monandra* Kurz associado ao veículo (Lanette) e animais do grupo controle (L), com aplicação tópica diária do creme contendo apenas o veículo. Cada ferida recebeu tratamento imediatamente logo após a cirurgia e diariamente até o 21º dia, na qual era colocado uma quantidade suficiente para cobrir a lesão.

Avaliação clínica dos animais e das feridas

As avaliações clínicas foram realizadas com 24 horas após a cirurgia e diariamente, observando-se o estado geral dos animais como a presença de hiperemia, edema, reação de dor, secreção, prurido, crosta, contração da ferida, tecido de granulação e tecido cicatricial.

Avaliação macroscópica e morfológica

No dia 0 (dia da cirurgia) e no 4º, 7º, 14º e 21º dias pós-operatório todas as feridas foram mesuradas nos sentidos latero-lateral e craniocaudal com auxílio do paquímetro digital. Para o cálculo das áreas das feridas foram observados os diâmetros maior e menor. A partir destes dados a área da ferida foi calculada, utilizando-se a equação matemática $A = \pi.R.r$, onde A representa a área, R o raio maior e r o raio menor da ferida. Os cálculos do grau de contração foram expressos em percentual, utilizando-se a equação matemática proposta por Ramsey et al. (1995): $100 \times (A_o - A_i) / A_o = \% \text{ média de contração} \pm DP$, onde A_o é a área inicial da ferida (dia 0) e A_i é a área da ferida no 4º, 7º, 14º e 21º dia de pós-operatório.

Para a coleta da pele, os animais foram previamente anestesiados, utilizando cetamina (80mg/kg) e xilazina (6mg/kg) por via intramusclar e em seguida, e após

coleta, submetidos ao procedimento de eutanásia, com aplicação do Tiopental (30mg/kg) por via intraperitoneal.

Foram realizadas incisões abrangendo a pele íntegra e a área anteriormente lesionada. A pele foi imediatamente fixada em formol tamponado a 10% permanecendo por 24hs em temperatura ambiente. Após esses procedimentos, os fragmentos foram desidratados em álcool etílico em concentrações crescentes, diafanizados pelo xilol, impregnados pela parafina líquida em estufa regulada à temperatura de 59 °C e incluídos em parafina. Em seguida, os blocos foram cortados em micrótomo do tipo *Minot*, ajustado para 5µm. Os cortes obtidos foram colocados em lâminas previamente untadas com albumina de Mayer e mantidos em estufa regulada à temperatura de 37 °C, durante 24hs, para secagem e colagem. Em sequência, os cortes foram submetidos à técnica de coloração pela Hematoxilina-Eosina (HE) para análise morfológica.

Para análise morfológica, os cortes histológicos das feridas no 4°, 7°, 14° e 21° dia do pós-operatório, foram avaliadas a partir de *scores*, conforme informações da tabela abaixo (Tabela 3):

Tabela 1: Tabela de Scores (Adaptado de Estevão et al., 2019)

Crosta	Re-epitelização	Inflamação	Tec. Granulação
0: ausente	0: ausente	0: ausente	0: ausente
1: presença leve	1: parcial + língua epitelial pequena	1: branda	1: imaturo
2: moderada	2: proeminente + língua epitelial proeminente	2: moderada	2: Muita celularidade e pouco colágeno
3: crostosa	3: total	3: intensa	3: pouca celularidade e muito colágeno

Delineamento e Análise Estatística

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado (DIC). Os tratamentos foram avaliados nos períodos pós-operatórios do 4°, 7°, 14° e 21° dia, utilizando o esquema de parcela subdividida no tempo, na qual os tratamentos estavam na

subparcela e os períodos considerados como parcelas. Foram realizadas cinco repetições por grupo, por experimento. Foram utilizadas 5 repetições para cada recurso farmacológico, sendo considerado cada animal uma unidade experimental. As variáveis analisadas: contração das feridas, scores da análise morfológica, no 4°, 7°, 14° e 21° dia pós-operatório. Os dados foram analisados utilizando o teste T não pareado com nível de significância de 5% ($p < 0,05$), utilizando o programa GraphPad PRISM 5.

RESULTADOS

As avaliações clínicas foram realizadas com 24 horas após a cirurgia e diariamente, observando-se o estado geral dos animais. As feridas, apresentaram-se limpas, sem irritação, ausência de sangramentos e exsudatos purulentos durante todo o experimento. No 4° dia, percebeu-se que os animais apresentaram reação de dor ao toque e região da ferida com hiperemia leve e edemaciada, apresentando o estágio inicial da formação da crosta. No grupo LL, a crosta apresentou-se de uma forma mais grossa e firme e no grupo L apresentando uma crosta fina e sem firmeza (Figura 1A e 1E). Foi observado epitelização discreta com pequena língua epitelial no grupo LL. No 7° dia, em todos os animais, a crosta já era bem evidente e firme, porém o diâmetro das feridas do grupo L mostrou ser maior em relação ao grupo LL, levando a uma diferença estatística no 4° e 7° dia entre os grupos L e LL ($p < 0,05$) (Fig. 1B e 1F).

Chegando ao 14° dia, todos os animais apresentaram completa re-epitelização. O grupo LL apresentou área cicatricial reduzida sem presença de crosta, diferente do grupo L, que ainda estavam em processo de reparação do tecido epitelial, apresentando pequena crosta aderidas a ferida. Mesmo com os resultados macroscópicos e morfológicos divergirem, não houve diferença estatística entre os grupos ($p < 0,05$) (Fig. 1C e 1G) e no 21° dia, todos os dois grupos apresentaram completa re-epitelização com área cicatricial reduzida, não apresentando diferença estatística ($p < 0,05$) (Fig. 1D e 1H).

Sobre a evolução da contração das feridas, notou-se que houve contração nos dois grupos a partir do 4° dia, porém, houve um significativo aumento no grau de contração das feridas no 4° e 7° dia no grupo LL em relação ao grupo L ($p < 0,05$) (Fig.2).

Em relação ao processo inflamatório e do aparecimento do tecido de

granulação, no 4º dia, os grupos L e LL não demonstraram diferença quanto a inflamação do tipo moderada, porém no grupo LL a presença do tecido de granulação em toda a ferida foi bastante evidente, com muita celularidade e pouco colágeno do tipo fino e imaturo, diferente do grupo L que teve pouca presença deste tecido. Chegando no 7º dia, o grupo LL permaneceu com inflamação moderada e o L passando a ter uma inflamação mais branda. Neste mesmo período, os dois grupos apresentaram o mesmo resultado em relação a quantidade tecido de granulação maduro e fibras colágenas em organização presente em toda a ferida.

No 14º e 21º, os resultados já não diferem entre os grupos. Em relação ao processo inflamatório, ambos apresentaram inflamação branda e ausente no 14º e 21º dia respectivamente, e sobre o tecido de granulação, pode-se visualizar com menor celularidade e a presença do colágeno em formação apresentando de forma moderada com muita fibra em organização nos grupos L e LL.

DISCUSSÃO

Ferida é qualquer interrupção na continuidade de um tecido corpóreo, causada principalmente por trauma ou desencadeada por uma afecção clínica. (MANDELBAUM, DI SANTIS; MANDELBAUM, 2003). Para a realização da ferida cirúrgica neste experimento, utilizou-se um punch descartável de 8 mm de diâmetro, na qual foram realizadas 2 incisões de pele e da tela subcutânea na região torácica dorsolaterais direita e esquerda, corroborando com CORIALANO et al. (2014) e BRUSTEIN et al. (2012) em relação a mesma região da ferida, porém, divergindo dos autores sobre o tamanho (1 cm), na quantidade (apenas uma) e de como foi realizada a ferida, utilizando bisturi e tesoura de lâmina curva em camundongos e ratos respectivamente.

A presença de edema e a formação da crosta nos primeiros dias pós-operatório, foi observada em todos os animais deste experimento, como ocorreu em trabalhos de Coriolano et al. (2014), que utilizou lectina de sementes da *Parkia pendula*, Melo et al. (2011) utilizando a lectina CramoLL 1,4, e Brustein et al. (2012) com a lectina Emal da *Eugenia malaccensis*, ambos em feridas cutâneas. Na avaliação do 4º dia, Melo et al. (2011), perceberam a crosta do grupo tratado, o diâmetro era maior em relação ao grupo controle, porém, no grupo LL (utilizando a lectina BmoLL + Lanette), foi observado que houve redução no diâmetro da crosta em

relação ao grupo L (utilizando apenas Lanette), na qual essa diferença pôde ser visualizada até o 7º dia pós-operatório.

Chegando ao 14º dia, todas as feridas do grupo LL já não apresentavam mais a crosta, estando presente ainda em alguns animais do grupo L. Em feridas tratadas com CramoLL 1,4, cerca de 90% das feridas fecharam em 10 dias (MELO et al., 2011) e na utilização da lectina da *Parkia pendula*, houve o fechamento total das feridas que receberam esse tratamento durante 11 dias (CORIOLANO et al., 2014). MELO et al. (2014), avaliaram o fechamento das feridas cutâneas em ratos, tratadas com lectinas CramoLL e Con A no 12º dia pós-operatório.

A reparação de feridas, faz-se pela re-epitelização dos anexos epiteliais ou epitélio derivado da pele adjacente não acometida (FAZIO, ZITELLI; GOSLEN, 2000). Neste experimento, o grupo LL, o processo de re-epitelização, foi percebido a partir do 4º dia pós-operatório com a presença de uma pequena língua epitelial, diferentemente do grupo L onde não foi visualizado essa estrutura. Chegando ao 14º dia, todos os animais apresentaram completa re-epitelização.

Em estudos com a lectina CML de sementes da *Centrolobium microchaete* para o tratamento de feridas cutâneas induzida cirurgicamente em murinos, ocorreu uma rápida re-epitelização durante os dias 12 do pós-operatório (PINHEIRO et al., 2018), semelhante ao observado por Melo et al. (2014), utilizando as lectinas CramoLL e ConA. Corialano et al. (2014), perceberam que no 7º dia pós-operatório, o processo da re-epitelização no grupo tratado com a lectina da *P. pendula*, foi extensa em direção ao centro da lesão, tendo resultado semelhante com a BmoLL, com Brustein et al. (2012) utilizando a lectina Emal e por Kim et al. (2013), ao usar a lectina articM de semente de Jaca. De acordo com Tazima et al. (2008), nas primeiras 24 a 36 horas após o trauma, são liberados fatores de crescimento epidérmicos que estimulam a proliferação de células epiteliais e a re-epitelização da ferida.

No 4º dia pós-operatório, todos os animais deste experimento apresentaram a fase inflamatória bastante evidente, porém, o tecido de granulação mostrou-se bastante presente no grupo LL com muita celularidade em relação ao grupo L. Resultado semelhante foi observado por Melo et al. (2011) com a utilização da lectina CramoLL 1,4, divergindo de Brustein et al. (2012) com a lectina Emal e Melo et al. (2014) com a CramoLL e ConA, perceberam a presença do tecido de granulação entre o 5º e 7º dia pós-operatório, onde a maior concentração desse tecido chegando no 7º

dia, sugerindo que BmoLL, quando aplicada topicamente, promove a ativação de células envolvidas no processo cicatricial, favorecendo a evolução do mesmo.

Muitos estudos têm sido realizados no cenário científico nacional e internacional com o objetivo de apontar novos terapêuticos de origem natural, incluindo o uso de lectinas de origem vegetal. Entretanto, trabalhos que revelem o mecanismo de ação cicatrizante das lectinas, ainda são muito poucos. A definição desses mecanismos é um importante passo para a efetiva aplicação de novas drogas, uma vez que pode ser útil para definir estratégias de administração e aumentar a eficácia de possíveis formulações (Lima et al., 2018).

CONCLUSÃO

O creme contendo lectina BmoLL de folhas *Bauhinia Monandra* Kurz, mostrou ser eficiente no processo de cicatrização de feridas cutâneas de ratos Wistar, favorecendo a contração das feridas, o processo de re-epitelização e a formação do tecido de granulação.

COMITÊ DE ÉTICA E BIOSSEGURANÇA

Este protocolo experimental foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética da UFPE sob número 0044/2018 para análise de projetos de pesquisa.

DECLARAÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSES

Não temos conflito de interesse a declarar.

REFERENCIAS

AGRA-NETO, A.C. A.C.; NAPOLEÃO, T.H.; PONTUAL, E.V.; SANTOS, N.D.; LUZ, L DE A.; DE OLIVEIRA, C.M.; DE MELO-SANTOS, M.A.; COELHO, L.C.; NAVARRO, D.M.; PAIVA, P.M. Effect of *Moringa oleifera* lectins on survival and enzyme activities of *Aedes aegypti* larvae susceptible and resistant to organophosphate. **Parasitology Research**, v. 113, p. 175-184, 2014.

ALBUQUERQUE, L.P.; PONTUAL, E.V.; SANTANA, G.M.; SILVA, L.R.; AGUIAR, J DOS S.; COELHO, L.C.; RÊGO, M.J.; PITTA, M.G.; DA SILVA, T.G.; MELO,

A.M.; NAPOLEÃO, T.H.; PAIVA, P.M. Toxic effects of *Microgramma vacciniifolia* rhizome lectin on *Artemia salina*, human cells, and the schistosomiasis vector *Biomphalaria glabrata*. **Acta Tropica**, v. 138, p. 23-27, 2014.

ALMASSY JÚNIOR, A.; LOPES, R.C.; ARMOND, C.; SILVA, F.; CASALI, V.W.D. Folhas de Chá – plantas medicinais na Terapêutica Humana. UFV, 2005.

BRUSTEIN, V.P. SOUZA-ARAÚJO, F.V.; VAZ, A.F.M.; ARAÚJO, R.V.S. A novel antimicrobial lectin from *Eugenia malaccensis* that stimulates cutaneous healing in mice model. **Inflammopharmacology**. v. 20, p. 315–322, 2012.

CAMPOS, J.K.L.; ARAÚJO, C.S.F.; ARAÚJO, T.F.S.; SANTOS, A.F.S.; TEIXEIRA, A.J.; LIMA, V.L.M.; COELHO, L.C.B.B. Anti-inflammatory and Antinociceptive Activities of *Bauhinia monandra* Leaf Lectin. **Biochimie Open**, v. 2, p. 62-68, 2016.

COELHO, L.C.B.B.; SILVA, M.B.R. Simple method to purify milligram quantities of the galactose-specific lectin from the leaves of *Bauhinia monandra*. **Phytochemistry Analysis**, v. 11, p. 295-300, 2000.

CORIOLOANO, M, C.; DE MELO, C.M.; SILVA, F.D.E.O.; SCHIRATO, G.V. *Parkia pendula* seed lectin: Potential use to treat cutaneous wounds in healthy and immunocompromised mice. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 171, p. 2682-2693, 2014.

CORREIA, M.T.S.; COELHO, L.C.B.B. Purification of a glucose/mannose specific lectin, isoform 1, from seeds of *Cratylia mollis* Mart. (*Camaratu bean*). **Applied Biochemistry and Biotechnology**, p. 261-273, 1995.

ESTEVIÃO, L.R.; CASSINI-VIEIRA, P.; LEITE, A.G.B.; BULHÕES, A.A.V.C.; BARCELOS, L.S.; EVENCIO-NETO, J. Morphological Evaluation of Wound Healing Events in the Excisional Wound Healing Model in Rats. **Bio Protocol**, v.9, n.13, 2019.

FAZIO, M.J.; ZITELLI, J.A.; GOSLEN, J.B. Cicatrização de feridas. In: COLEMAN III, W.P.; HANKE, C.W.; ALT, T.H.; ASKEN, S. Cirurgia Cosmética - Princípios e Técnicas. 2.ed, p. 18-23, 2000.

KIM, Y.J.; CARVALHO, F.C.; SOUZA, J.A.; GONÇALVES, P.C. Topical application of the lectin Artin M accelerates wound healing in rat oral mucosa by enhancing TGF- β and VEGF production. **The Internacional Journal of Tissue Repair and Regeneration**, v. 21, p. 456-463, 2013.

LACERDA, R. R.; DE LACERDA, A.C.S.; VIANA, G.S.B.; PESSOA, H.L.F.; MOREIRA, I.C.; CABRAL, N.L.; FELIPE, C.F.B.; GADELHA, C.A.A.; NASCIMENTO, J.S.J.; LUCETTI, A.L.; SANTI-GADELHA, T. Lectin isolated from Brazilian seeds of velvet bean (*Mucuna pruriens* (L) DC.) presents analgesic, anti-inflammatory and antihemolytic action. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 9, n. 8, p. 231-242, 2015.

LIMA, J.L.S.; VILA NOVA, I.C.; ALMEIDA, W.A.; DA SILVA, J.E.S.; PONTUAL, E.V.; EVÊNCIO NETO, J. Lectinas vegetais como ferramentas terapêuticas: uma revisão. **Biomedicina e farmácia: aproximações**, Atena Editora, p. 63-78, 2018.

LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N.J.; FARR, A.L.; RANDALL, R.J. Protein measurement with the folin phenol reagent. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 193, p. 265–275, 1951.

MANDELBAUM, S.H.; DI SANTIS, E.P.; MANDELBAUM, M.H.S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares – Parte I. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, 2003.

MELO, C.M.L.; PORTO, C.S.; MELO-JÚNIOR, M.R.; MENDES, C.M.; CAVALCANTI, C.C.; COELHO, L.C.; PORTO, A.L.; LEÃO, A.M.; CORREIA, M.T. Healing activity induced by Cramoll1,4 lectin in healthy and immunocompromised mice. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 408, p. 113-119, 2011.

MELO, C. M. L.; BRUSTEIN, V.P.; VAZ, A.F.M.; CAVALCANTI, C.C.B.; PAIVA, P.M.G.; TEIXEIRA, J.A.; COELHO, L.C.B.B.; CUNHA, M.G.C.; LEÃO, A.M.A.C.; CORREIA, M.T.S. Healing activity induced by glucose/mannose lectins in mice. CHEMPOR 2014 - Book of Extended Abstracts of the 12th International Chemical and Biological Engineering Conference. No. P-CM29, Sep. 10-12, 12-75-12-772014. ISBN: 978-972-752-170-8

MOURA, M.C.; NAPOLEÃO, T.H.; CORIOLANO, M.C.; PAIVA, P.M.; FIGUEIREDO, R.C.; COELHO, L.C.. Water-soluble *Moringa oleifera* lectin interferes with growth, survival and cell permeability of corrosive and pathogenic bacteria. **Journal of Applied Microbiology**, v. 119, n. 3, p. 666-676, 2015.

PINHEIRO, A.A.P.; BEZERRA, J.V.S.; VASCONCELOS, M.A.; NASCIMENTO NETO, L.G.; TEIXEIRA, E.H. Utilização da lectina isolada de semente de *Centrolobium microchaete* mart. ex benth no tratamento de feridas cutâneas em modelo murinho. **Revista encontros universitários da UFC**, v. 3, n. 1, 2018.

RAMSEY, D.; POPE, E.R.; WAGNER-MANN, C.; BERG, J.N.; SWAIM, S.F. Effects of three occlusive dressing materials on healing of fullthickness skin wounds in dogs. **American Journal Veterinary Research**, v. 56, n. 7, p. 941-949, 1995.

SILVA, F.O.; ARAÚJO, R.V.S.; SCHIRATO, G.V.; TEIXEIRA E.H.; MELO JÚNIOR, M.R.; CAVADA, B.S.; LIMA-FILHO, J.L; CARNEIRO-LEÃO, A.M.A.; PORTO, A.L.F. Perfil de proteases de lesões cutâneas experimentais em camundongos tratados com lectina isolada das sementes de *Canavalia brasiliensis*. **Ciência Rural**, v. 39, n. 9, p. 1808-1814, 2009.

TAZIMA, M.F.G.S.; VICENTE, Y.A.M.V.A.; MORIYA, T. Biologia da ferida e cicatrização. **Medicina**, v. 41, n. 3, p. 259-64, 2008.

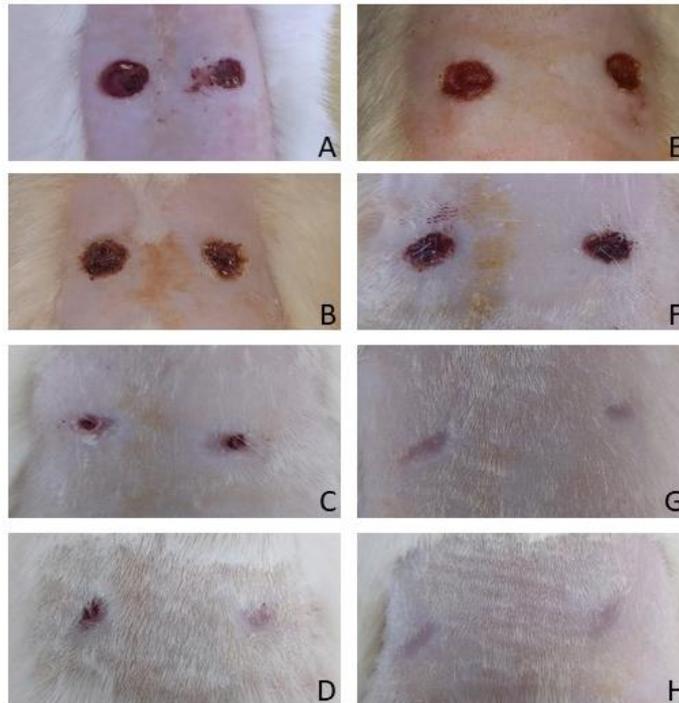


Figura 1: Imagens de feridas cutâneas em ratos do grupo L, tratados apenas com o veículo (Lanette) (A, B, C, D) e do grupo LL tratados com creme contendo BmoLL + Lanette (E, F, G, H) no 4°, 7°, 14°, e 21° dias pós-operatório, respectivamente.

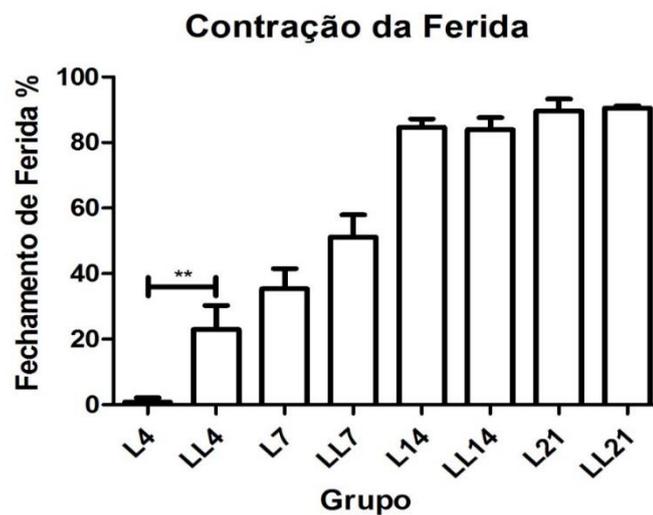


Figura 2: Contração da ferida. Percentual médio do fechamento de ferida para os diferentes grupos. Observar diferença do grupo tratado LL (Lanette+Lectina) até o 7° dia, quando comparado ao grupo controle L (Lanette).

ARTIGO 3

Artigo para submissão na Revista Ciência Rural

Análise morfométrica em feridas cutâneas de ratos tratados com creme contendo Lectina BmoLL de folhas da *Bauhinia monandra* Kurz

Morphometric analysis in skin wounds of Lectin BmoLL cream-treated rats from *Bauhinia monandra* Kurz leaves

RESUMO

O objetivo deste trabalho, foi avaliar morfometricamente as feridas cutâneas tratadas com creme contendo Lectina BmoLL de folhas da *Bauhinia monandra* Kurz. Foram utilizados 40 ratos Wistar machos adultos, divididos em dois grupos contendo 20 animais cada, formando um grupo tratado (LL) e o grupo controle (L). Cada grupo foi dividido em quatro subgrupos contendo cinco animais cada, os quais foram avaliados no 4º, 7º, 14º e 21º dias pós-operatório, respectivamente. Em cada animal foram realizadas duas feridas cirúrgicas (antímero direito e esquerdo) deixando a fáscia muscular adjacente exposta. As feridas foram avaliadas e mensuradas histológica e morfometricamente para visualizar e determinar a densidade das fibras colágenas, contagem de vasos e mastócitos. Foi evidenciado aumento significativo ($p < 0,05$) na quantidade de mastócitos e de vasos sanguíneos neoformados no grupo tratado e da influência que a Lectina BmoLL teve na produção das fibras colágenas. O creme contendo Lectina BmoLL de folhas *Bauhinia monandra* Kurz, favoreceu o processo de cicatrização de feridas cutâneas de ratos.

Palavras-chave: Planta medicinal, Pata-de-vaca, Pele, Cicatrização, Wistar, Dados morfométrico

ABSTRACT

The aim of this study was to morphometrically evaluate the cream-treated skin wounds containing Lectin BmoLL from *Bauhinia monandra* Kurz leaves. Forty adult male Wistar rats were used, divided into two groups containing 20 animals each, forming a treated group (LL) and the control group (L). Each group was divided into four subgroups containing five animals each, which were evaluated on the 4th, 7th, 14th and 21st

postoperative days, respectively. In each animal were made two surgical wounds (right and left antimer) leaving the adjacent muscle fascia exposed. Wounds were histologically and morphometrically assessed and measured to visualize and determine collagen fiber density, vessel and mast cell count. A significant increase ($p < 0.05$) was observed in the number of mast cells and newly formed blood vessels in the treated group and the influence that Lectin BmoLL had on the production of collagen fibers. The cream containing Lectin BmoLL leaves *Bauhinia monandra* Kurz favored the healing process of skin wounds in rats.

Key words: Medicinal plant, Cow's foot, Skin, Healing, Wistar, Morphometric data

INTRODUÇÃO

A utilização de plantas com fins medicinais, para tratamento, cura e prevenção de doenças, é uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade (VEIGA JUNIOR et al., 2005). Desde cedo as primeiras civilizações perceberam que algumas plantas continham, em suas essências, princípios ativos os quais ao serem experimentados no combate às doenças revelaram empiricamente seu poder curativo (BADKE et al., 2011).

Pertencente a subfamília Caesalpinioideae e gênero *Bauhinia*, a espécie *Bauhinia monandra* Kurz, é conhecida vulgarmente como “pata-de-vaca” na Amazônia, onde possui grande valor econômico (BORGES; MENDONÇA, 2009), utilizada com fins ornamental, forrageiro e medicinal (MARTINS et al., 1995) na qual, suas folhas são usadas popularmente em forma de chás para o tratamento de diabetes, como anti-inflamatório e analgésico (SILVA; CECHINEL-FILHO, 2002).

Segundo pesquisas, a *Bauhinia monandra* tem potencial antidiabético contra diabetes induzida experimentalmente em ratos (MCCUNE; JOHNS, 2002) e este potencial antidiabético tem sido ligado à presença de componentes antioxidante (ANOSIKE et al., 2012). Lectina BmoLL extraída das folhas da *B. monandra* a partir do processo de purificação, possui potentes propriedades anti-inflamatórias e antinociceptivas em experimentos com camundongos (CAMPOS et al., 2016).

Com base em relatos prévios da atividade anti-inflamatório e antinociceptivas da BmoLL, este trabalho propôs avaliar a atividade cicatrizante em creme contendo a

Lectina BmoLL de folhas da *Bauhinia Monandra* Kurz através de técnicas morfométricas de ferida cutânea em ratos.

MATERIAL E MÉTODOS

As folhas da *Bauhinia monandra* foram coletadas na Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) no campus Recife, tendo registro nº 33637 pelo Herbário Geraldo Mariz da UFPE.

BmoLL (0.5mg/ml) foi purificada através de um protocolo previamente definido usando uma fração precipitada com sulfato de amônio (0-60%) seguida por cromatografia de afinidade em coluna de gel de guar. A Lectina foi mantida a -20°C (COELHO & SILVA, 2000). Para a detecção da presença da Lectina, foi realizada a determinação da atividade hemaglutinante de acordo com Correia e Coelho (1995) e medidas concentrações de proteína por absorvância a 280nm através de Lowry et al. (1951). O creme foi elaborado através da incorporação do isolamento da Lectina (553,3 µg/ml) das folhas a um veículo seguindo orientação da farmacotécnica. Todo o procedimento foi realizado no Laboratório de Bromatologia do Centro Acadêmico de Vitória da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

Para o estudo, foram utilizados 40 ratos Wistar machos, aos três meses de idade, pesando aproximadamente 300g, provenientes do biotério do Centro Acadêmico de Vitória-UFPE. Os animais foram acondicionados em gaiolas individuais, mantidas em temperatura ambiente de 22 °C a 25 °C, expostas a fotoperíodo de 12 horas de luz (400 Lux) por 12 horas de escuridão e acesso a água e ração (Labina para roedores-Purina), *ad libitum*. Todas as atividades envolvendo a utilização de animais foram aprovadas pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE (Licença nº 0044/2018).

Os animais foram escolhidos aleatoriamente e divididos em dois grupos contendo 20 animais cada, formando um grupo dos animais tratados e um grupo dos animais controle. Cada grupo foi dividido em quatro subgrupos contendo cinco animais cada, os quais foram avaliados no 4°, 7°, 14° e 21° dias pós-operatório, respectivamente.

Para a realização da ferida cirúrgica foi feita uma anestesia dissociativa utilizando cloridrato de xilazina a 2% e cloridrato de quetamina a 10% administrado por via intramuscular nas doses de 10mg/kg e 80mg/kg respectivamente. Depois de

anestesiados os animais foram posicionados em decúbito ventral e submetidos à tricotomia das regiões torácicas dorsolaterais direita e esquerda. Com auxílio de um *punch* de 8 mm de diâmetro foram realizadas duas incisões de pele e tela subcutânea, uma no antímero direito e uma no esquerdo, ficando exposta a fáscia muscular adjacente.

Cada falha cutânea recebeu o tratamento de acordo com a metodologia estabelecida: animais do grupo tratado (LL), aplicação tópica diária do creme contendo Lectina das folhas da *Bauhinia Monandra* Kurz associado ao veículo (Lanette) e animais do grupo controle (L), com aplicação tópica diária do creme contendo apenas o veículo. As feridas receberam o tratamento imediatamente logo após a cirurgia e diariamente, na qual era colocado uma quantidade suficiente para cobrir a lesão.

No dia 0 (dia da cirurgia) e no 4°, 7°, 14° e 21° dias pós-operatório, todas as feridas foram medidas nos sentidos latero-lateral e craniocaudal com auxílio do paquímetro digital. Para o cálculo das áreas das feridas foram observados os diâmetros maior e menor.

Para a coleta da pele, os animais foram previamente anestesiados, utilizando cetamina (80mg/kg) e xilazina (6mg/kg) por via intramuscular, e após coleta, submetidos ao procedimento de eutanásia, com aplicação de Tipental (30mg/kg) por via intraperitoneal.

Foram coletados fragmentos da pele através de incisão abrangendo a pele íntegra e a área anteriormente lesionada. A pele foi imediatamente fixada em formol tamponado a 10% permanecendo por 24hs. Após esses procedimentos, os fragmentos foram desidratados em álcool etílico em concentrações crescentes, diafanizados pelo xilol, impregnados pela parafina líquida em estufa regulada à temperatura de 59 °C e incluídos em parafina. Em seguida, os blocos foram cortados em micrótomo do tipo *Minot*, ajustado para 5 µm. Os cortes obtidos foram colocados em lâminas previamente untadas com albumina de Mayer e mantidos em estufa regulada à temperatura de 37 °C, durante 24h, para secagem e colagem.

Para a preparação dos cortes histológicos, foram submetidos à técnica de coloração pela Hematoxilina-Eosina (HE) para contagem de vasos, Tricrômico de Masson (TM) para determinação das fibras colágenas e Azul de Toluidina (AT) para contagem de mastócitos. A análise morfométrica foi composta pela contagem dos

vasos sanguíneos e de mastócitos feita em fotomicrografias (aumento de 40x) de cinco campos (aumento de 40x), nos cortes histológicos corados por HE e AT respectivamente, utilizando o *software* ImageLab. Para determinar a densidade das fibras colágenas neoformadas através das alterações em pixel, foi realizada cinco fotomicrografias (aumento de 40x) dos cortes histológicos das feridas coradas com Tricrômico de Gomori, utilizando o *software* Gimp2.

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado (DIC). Os tratamentos foram avaliados nos períodos pós-operatórios do 4º, 7º, 14º e 21º dias, utilizando o esquema de parcela subdividida no tempo, na qual os tratamentos estavam na subparcela e os períodos considerados como parcelas. Foram realizadas cinco repetições por grupo, por experimento. Foram utilizadas 5 repetições para cada recurso farmacológico, sendo considerado cada animal uma unidade experimental. As variáveis analisadas: contração das feridas, contagem de vasos sanguíneos, determinação da densidade das fibras colágenas e mastócitos, nos 4º, 7º, 14º e 21º dia pós-operatório. Os dados foram analisados utilizando o teste T não pareado com nível de significância de 5% ($p < 0,05$). As análises foram feitas utilizando o programa GraphPad PRISM 5.

RESULTADOS

A quantidade de mastócitos no tecido de granulação demonstrou abundância a partir do 4º dia no grupo tratado, tendo uma diferença significativa nos grupos LL7 e LL14 ($p < 0,05$), quando comparado ao grupo controle (L) (Fig.1).

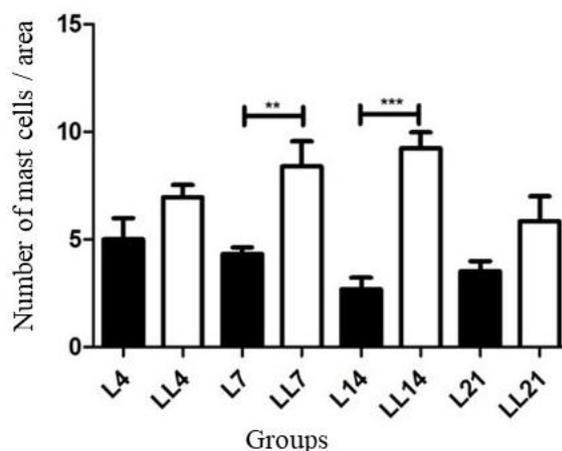


Figura 1: Gráfico evidenciando a quantificação de mastócitos nos grupos tratado com creme contendo Lanette + Lectina (LL) e grupo controle tratado apenas com o veículo Lanette (L), no 4º, 7º, 14º e 21º dias pós-operatório. Pode-se notar diferença significativa ($p < 0,05$) nos grupos tratados LL7 e LL14 do grupo controle (L).

Na contagem dos vasos sanguíneos, o grupo tratado apresentou maior neoangiogênese, pela contagem de vasos neoformados, no 4° e 7° dia do pós-operatório, na qual o grupo LL7 apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) comparado ao grupo controle. Ao 14° dia o grupo controle apresentou maior número de vasos sanguíneos comparados ao grupo tratado, mas não apresentaram estatísticas significativas (Fig. 2).

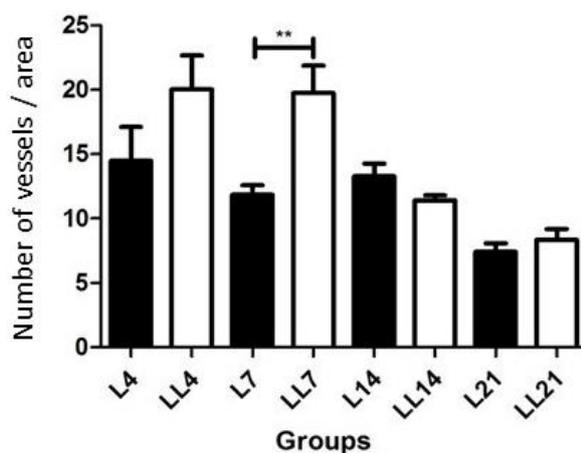


Figura 2: Gráfico evidenciando a quantidade de vasos sanguíneos neoformados nos grupos tratados com creme contendo Lanette + Lectina (LL) e grupo controle tratados apenas com o veículo Lanette (L), no 4°, 7°, 14° e 21° dias pós-operatório. Pode-se observar diferença significativa na quantidade de vasos do grupo tratado quando comparado ao grupo controle ($p < 0,05$) no 7° dia.

Sobre as fibras colágenas, foi observada diferença na densidade e na disposição das fibras no grupo tratado em relação ao controle. A densidade foi decrescente no grupo tratado a partir do 4° dia do pós-operatório, diferente do grupo controle, na qual o resultado se mostra de forma crescente, porém ainda em quantidade baixa em relação ao grupo tratado. Verificou-se ainda que as médias sobre a densidade das fibras colágenas, mostrou ser maior no grupo tratado, tendo diferença nos grupos LL4 e LL7, comparando-se aos grupos L4 e L7 (Fig. 3).

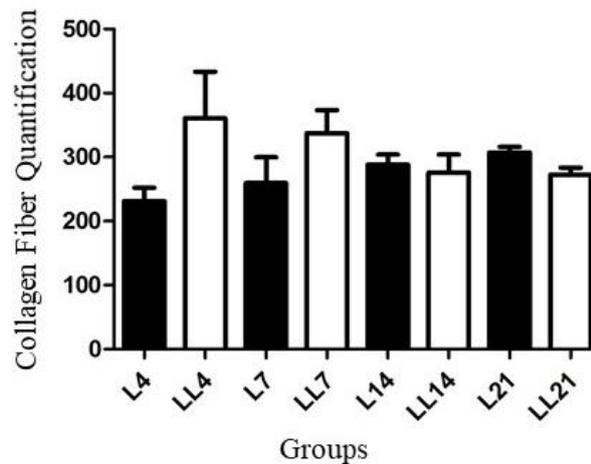


Figura 3: Gráfico evidenciando a densidade das fibras colágenas nos grupos tratado com creme contendo Lanette + Lectina (LL) e grupo controle tratado apenas com o veículo Lanette (L), no 4°, 7°, 14° e 21° dias pós-operatório. Pode-se observar diferença do 4° ao 7° dia pós-operatório no grupo tratado (LL7 e LL14) quando comparado ao grupo controle.

DISCUSSÃO

A presença de edema e dor nos primeiros dias pós-operatório, foi observada em todos os animais deste experimento, como ocorreu em trabalhos de Coriolano et al. (2014), utilizando Lectina de sementes da *Parkia pendula*, Melo et al. (2011) com a Lectina CramoLL 1,4, e Brustein et al. (2012) utilizando a Lectina Emal da *Eugenia malaccensis*, ambos em feridas cutâneas.

Nos últimos anos tem sido cada vez mais crescente as investigações sobre a participação dos mastócitos nos diversos processos fisiopatológicos da cicatrização (ESTEVÃO et al., 2015). O mastócito participa na re-epitelização, revascularização do tecido lesado, na deposição de tecido conjuntivo temporário e na remodelação da matriz conjuntiva (ARTUC et al., 2006). Neste trabalho, o grupo tratado apresentou maior quantidade de mastócitos em relação ao grupo controle, tendo uma diferença significativa no 7° e 14° dia do pós-operatório, corroborando com Kim et al. (2013) que utilizaram a Lectina ArtinM em ferida de mucosa em ratos, na qual perceberam aumento na quantidade de mastócitos no 7° dia.

Na reparação do tecido conjuntivo ocorre a formação do tecido de granulação, com proliferação endotelial e de fibroblastos (SARANDY, 2007). A angiogênese é caracterizada pela migração de células endoteliais e formação de capilares, essencial para o suprimento de oxigênio e nutrientes na cicatrização (CAMPOS, et al., 2007).

Começa nos primeiros dias após a lesão vascular e pode tornar-se evidente em cerca de 4 dias após a lesão (RAJA et al., 2007). Neste trabalho pôde-se observar maior quantidade de vasos sanguíneos neoformados no 4° e 7° dia do pós-operatório no grupo tratado, na qual o grupo LL7 apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) comparado ao grupo controle. Já em trabalhos de Silva (2007), Araújo (2007) e Coriolano (2008) que utilizaram Lectina ConBr, EmaL e Lectina de sementes da *Parkia pendula* respectivamente no tratamento de feridas cutâneas em camundongos, os vasos sanguíneos neoformados já estavam presentes o 2° dia do pós-operatório nos grupos controle e tratado sem diferença significativa.

O último fenômeno da fase proliferativa é a deposição do colágeno, iniciando na primeira semana após a lesão e continuando por 12 a 18 meses (CHILDERS; MURTHY, 2017). Os resultados encontrados neste trabalho corroboram com Kim et al. (2013) que utilizaram a Lectina ArtinM em feridas na mucosa oral em ratos, Coriolano et al. (2014) e Melo et al. (2011) utilizaram a Lectina da *Parkia pendula* e a Lectina CramoLL-4 respectivamente para o tratamento de feridas cutâneas em ratos, quanto ao reparo das fibras colágenas nos primeiros dias do pós-operatório, porém a densidade das fibras colágenas obteve aumento no 4° dia, diminuindo até o 14° dia, divergindo dos autores, na qual esse aumento se deu no 7° dia em relação ao grupo controle que apresentaram pouca quantidade da fibra. A diminuição da deposição de colágeno na fase de maturação pode ser explicada pela pouca presença dos fibroblastos na área da lesão ao longo dos 21 dias nos grupos controle (MELO et al. 2011).

CONCLUSÃO

Com a realização deste trabalho, foi possível concluir que, o creme contendo Lectina BmoLL de folhas *Bauhinia Monandra* Kurz, mostrou ser eficiente no processo de cicatrização de feridas cutâneas de ratos, favorecendo aumento significativo do número mastócitos, estimulando a neoangiogênese e influenciando na produção das fibras colágenas.

REFERENCIAS

ANOSIKE, C.A.; OBIDOA, O.; EZEANYIKA, L.U.S. The antiinflammatory activity of garden egg (*Solanum aethiopicum*) on egg albumin-induced oedema and granuloma tissue formation in rats. **Asian Pacific Journal Tropical Medicine**, v. 5, p. 62-66, 2012.

ARTUC, M.; HERMES, B.; STECKLINGS, U.M.; GRUTKZAU, A. et al. Mast cells and their mediators in cutaneous wound healing: active participants or innocent bystanders? **Experiencia Dermatológica**, v. 8, p. 1-16, 1999.

BADKE, M.R.; BUDÓ, M.L.D.; SILVA, F.M.; RESSEL, L.B. Plantas medicinais: O saber sustentado na prática do cotidiano popular. **Escola Anna Nery**, v. 15, n. 1, p. 132-139, 2011.

BORGES, F.I.; MENDONÇA, M.S. Morfo-anatomia da semente de *Bauhinia monandra* Kurz. (Leguminosae-caesalpinioideae). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, p. 24-32, 2009.

BRUSTEIN, V.P.; SOUZA-ARAÚJO, F.V.; VAZ, A.F.M.; ARAÚJO, R.V.S. A novel antimicrobial lectin from *Eugenia malaccensis* that stimulates cutaneous healing in mice model. **Inflamação**, v. 20, p.315–322, 2012.

CAMPOS, A.C.L.; BORGES-BRANCO, A.; GROTH, A.K. Cicatrização de feridas. **Arquivo Brasileiro Cirurgia Digestiva**, v. 20, n. 1, 2007.

CAMPOS, J.K.L.; ARAÚJO, C.S.F.; ARAÚJO, T.F.S.; SANTOS, A.F.S. et al. Anti-inflammatory and Antinociceptive Activities of *Bauhinia monandra* Leaf Lectin. **Biochimie Open**, v. 2, p. 62-68, 2016.

CHILDS, D.R.; MURTHY, A.S. Overview of Wound Healing and Management. **Surgical Clinics of North America**, v. 97, n. 1, p. 189-207, 2017.

COELHO, L.C.B.B.; SILVA, M.B.R. Simple method to purify milligram quantities of the galactose-specific lectin from the leaves of *Bauhinia monandra*. **Phytochemistry Analysis**, v.11, p. 295-300, 2000.

CORIOLOANO, M, C.; DE MELO, C.M.; SILVA, F.D.E.O.; SCHIRATO, G.V. *Parkia pendula* seed lectin: Potential use to treat cutaneous wounds in healthy and immunocompromised mice. **Applied Biochemistry Biotechnology**, v.171, p. 2682-2693, 2014.

CORREIA, M.T.S.; COELHO, L.C.B.B. Purification of a glucose/mannose specific lectin, isoform 1, from seeds of *Cratylia mollis* Mart. (Camaratu bean). **Applied Biochemistry Biotechnology**, v., p. 261-273, 1995.

ESTEVIÃO, L.R.M.; MEDEIROS, J.P.; SIMÕES, R.S.; ARANTES, R.M.E. et al. Mast cell concentration and skin wound contraction in rats treated with Brazilian pepper essential oil (*Schinus terebinthifolius* Raddi). **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 30, n.4, p.289-295, 2015.

LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N.J.; FARR, A.L.; RANDALL, R.J. Protein measurement with the folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, v. 193, p. 265–275, 1951.

KIM, Y.J.; CARVALHO, F.C.; SOUZA, J.A.; GONÇALVES, P.C. Topical application of the lectin Artin M accelerates wound healing in rat oral mucosa by enhancing TGF- β and VEGF production. **Wound Repair and Regeneration**, v. 21, p. 456-463, 2013.

MARTINS, E.R.; DE CASTRO, D.M.; CASTELLANI, D.C.; DIAS, J.E. Plantas medicinais, Viçosa, MG: UFV, **Imprensa Universitária**, 1995. 220p.

MCCUNE, L.M.; JOHNS, T. Antioxidant activity in medicinal plants associated with the symptoms of diabetes mellitus used by the indigenous peoples of the North American boreal forest. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 82, p. 197-205, 2002.

MELO, C.M.L.; PORTO, C.S.; MELO-JÚNIOR, M.R.; MENDES, C.M et al. Healing activity induced by Cramoll1,4 lectin in healthy and immunocompromised mice. **Interational Journal of Pharmaceutics**, v. 408, p. 113-119, 2011.

RAJA, S.K.; GARCIA, M.S.; ISSEROFF, R.R. Wound re-epithelialization: modulating keratinocyte migration in wound healing. **Frontiers Bioscience**, v. 12, p. 2849–68, 2007.

SARANDY, M.M. Avaliação do efeito cicatrizante do extrato de repolho (*Brassica oleracea* var. capitata) em ratos wistar. 2007. 49p. Dissertação (mestrado), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

SILVA, F.O. **Perfil de proteases e avaliação histopatológica de lesões cutâneas em camundongos tratadas com a lectina isolada das sementes de *Canavalia brasiliensis***. 2007. 63p. Dissertação (Programa de Pós-Graduação Em Ciência Veterinária) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

SILVA, K.L; CECHINEL, FILHO, V. Plantas do gênero *Bauhinia*: composição química e potencial farmacológico. **Química Nova.**, v. 25, p. 449–454, 2002.

VEIGA JUNIOR, V.F; PINTO, A.C. MACIEL, M.A.M Plantas medicinais: Cura segura? **Química Nova.**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através do desenvolvimento deste trabalho, foi possível concluir que o creme contendo Lectina BmoLL de folhas *Bauhinia Monandra* Kurz, mostrou ser eficiente no processo de cicatrização de feridas cutâneas de ratos, na qual, favoreceu aumento significativo do número de mastócitos, estimulou a neoangiogênese, influenciou na produção das fibras colágenas, como também no favorecimento da contração das feridas, no processo da re-epitelização e na formação do tecido de granulação.

Com a elaboração de um novo Bioproduto de origem vegetal, foi capaz de expressar propriedades de modular o processo inflamatório e de estimular a multiplicação celular e das estruturas necessárias ao processo cicatricial. As lectinas parecem ser alternativas interessantes para melhoria do sucesso terapêutico, embora muitos estudos ainda devem ser realizados em relação ao seu uso como agente cicatrizante.

“Mesmo que a minha mente e o meu corpo enfraqueçam, Deus é a minha força, ele é tudo o que eu sempre preciso”

Salmo 73,26