



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA E FISIOLOGIA

FERNANDA MIGUEL DE ANDRADE

LECTINA DE *Cratylia mollis* (Cramoll) LIVRE E IMOBILIZADA:
avaliação da atividade cicatrizante em animais diabéticos, espontaneamente
hipertensos (SHR) e SHR diabéticos

Recife

2020

FERNANDA MIGUEL DE ANDRADE

LECTINA DE *Cratylia mollis* (Cramoll) LIVRE E IMOBILIZADA:

avaliação da atividade cicatrizante em animais diabéticos, espontaneamente hipertensos (SHR) e SHR diabéticos

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Bioquímica e Fisiologia do Centro de Biociências, Departamento de Bioquímica da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos parciais para obtenção do título de doutora em Bioquímica e Fisiologia.

Área de concentração: Bioquímica e Fisiologia.

Orientadora: Prof^{fa}. Dr^a. Maria Tereza dos Santos Correia.

Co-orientadora: Prof^{fa}. Dr^a. Maria das Graças Carneiro da Cunha.

Recife

2020

Catálogo na fonte
Elaine C Barroso
(CRB4 1728)

Andrade, Fernanda Miguel de

Lectina de *Cratylia mollis* (Cramoll) livre e imobilizada: avaliação da atividade cicatrizante em animais diabéticos, espontaneamente hipertensos (SHR) e SHR diabéticos / Fernanda Miguel de Andrade – 2020.

175 f.: il., fig., tab.

Orientadora: Maria Tereza dos Santos Correia

Coorientadora: Maria das Graças Carneiro da Cunha

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia, 2020.

Inclui referências e anexo.

1. Lectinas 2. Diabetes 3. Hipertensão I. Correia, Maria Tereza dos Santos (orient.) II. Cunha, Maria das Graças Carneiro da Cunha (coorient.) III. Título

572.6

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2021-109

FERNANDA MIGUEL DE ANDRADE

LECTINA DE *Cratylia mollis* (Cramoll) LIVRE E IMOBILIZADA:

avaliação da atividade cicatrizante em animais diabéticos, espontaneamente hipertensos (SHR) e SHR diabéticos

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Bioquímica e Fisiologia do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos parciais para obtenção do título de Doutora em Bioquímica e Fisiologia.

Aprovada em: 20/02/2020

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Maria Tereza dos Santos Correia (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dr^a. Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho (Examinador interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dr^a. Patrícia Maria Guedes Paiva (Examinador interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Dr^o. Álvaro Aguiar Coelho Teixeira (Examinador Externo)
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof^a. Dr^a. Elba Verônica Maciel de Carvalho (Examinador externo)
Universidade Federal de Pernambuco

Dedico este trabalho ao meu amado e
precioso irmão, Edvaldo Júnior (*in
memoriam*).

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por se fazer presente em minha vida e sempre iluminar o meu caminho. Senhor, obrigada por mais uma graça alcançada, obrigada por estar sempre ao meu lado, obrigada por tudo. A Ti, toda honra e toda glória.

Agradeço a Nossa Senhora, mãe e intercessora minha, por estar sempre intercedendo diante do vosso Filho amado, Jesus Cristo, por mim e por minha família.

À minha família, pelo apoio, companheirismo e paciência. Meus amados pais e aos meus irmãos, sem vocês eu não teria concluído mais essa etapa. Muito obrigada, amo vocês.

Aos meus amados professores, Álvaro Teixeira, Valéria Teixeira, Graça Cunha e Luana Cassandra, por toda atenção, apoio, carinho, companheirismo e compreensão.

Agradeço em especial à minha orientadora, professora Tereza Correia, por todos os ensinamentos, pela confiança, compreensão, paciência, atenção e apoio. Certamente é uma das pessoas que mais admiro, um exemplo de profissional, pesquisadora, gestora, mulher, esposa, mãe e avó.

À Dr.^a Maria Helena, por todos os ensinamentos, apoio, carinho, atenção, amizade e gentileza.

À todos os meus amigos. Em especial: Diego Santana, Adelmo Aragão, Ismaela Melo, Welma Emídio, Priscilla Sales, Cíntia Giselle, Raiana Apolinário, Carina Helena, Rosimere Silva, Jannyson Braz, Fernanda Pacífico e Elenildo Dário, obrigada por todo o apoio, atenção, amizade, compreensão e dedicação. Amo todos, cada um de um jeito especial!

Agradeço à todos os professores do Departamento de Bioquímica, em especial a prof^a. Patrícia Paiva, prof^o. Thiago Napoleão, prof^a. Elba Carvalho e prof^a. Vera Menezes, pelo carinho, atenção e gentileza.

Aos técnicos e funcionários da limpeza, em especial: a Seu João, Bruno Veras, Dona Helena e Alex, pelo carinho, atenção e gentileza.

Agradeço à Fernanda (secretária da Pós Graduação em Bioquímica e Fisiologia) e à Adenilda (secretária da Pós Graduação em Ciências Biológicas) por toda atenção, paciência e gentileza.

Agradeço à Universidade Federal de Pernambuco, ao Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA) e à Universidade Federal Rural de Pernambuco pela estrutura cedida para a execução deste trabalho.

Enfim, muito obrigada a todos, que Deus vos conceda paz e felicidade!

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis” (José de Alencar).

RESUMO

Doenças, como diabetes e hipertensão, lentificam a cicatrização, tornando o microambiente da ferida hostil ao tecido, prolongando a inflamação, elevando os custos médicos e aumentando a possibilidade de amputação de membros. Nesse contexto, estudos buscam métodos alternativos eficientes e não tóxicos para estimular a cicatrização, as lectinas e polissacarídeos extraídos de plantas surgem como candidatos promissores. Este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial cicatrizante da Cramoll, de membranas de Xiloglucana de sementes de *Hymenaea courbaril* (HcXM) e de Cramoll imobilizada em HcXM (Cramoll-HcXM), em feridas de camundongos diabéticos, bem como, Cramoll em feridas de ratos espontaneamente hipertensos (SHR) e SHR diabéticos. Foram utilizados 60 camundongos *Swiss albino* diabéticos, divididos em 4 grupos de 15 animais: Controle, Cramoll, HcXM e Cramoll-HcXM. Também foram utilizados 90 SHR, divididos em 6 grupos de 15 animais: SHR Controle, SHR Kollagenase®, SHR Cramoll, SHR+Diabetes Controle, SHR+Diabetes Kollagenase® e SHR+Diabetes Cramoll. Para avaliar a cicatrização foi realizada indução de feridas cutâneas em todos os animais sob anestesia, tricotomia e antisepsia da região dorsal. O diabetes foi induzido por aloxana, nos camundongos, e por estreptozotocina, nos SHR, e confirmado através de um kit enzimático para glicose. O tratamento e análise clínica das feridas foram realizados diariamente. Parâmetros microbiológicos, de retração da ferida, histológicos e quantificação de colágeno tipos I e III também foram analisados. Os resultados mostraram que, em relação aos camundongos diabéticos, o processo cicatricial foi estimulado nos animais tratados com Cramoll e com HcXM, quando usados individualmente, promovendo reepitelização total da pele dos camundongos aos 12 dias de tratamento. Em relação aos SHR os resultados demonstraram que a Cramoll foi eficiente no processo cicatricial, promovendo a regeneração total da pele dos ratos aos 14 dias de tratamento, enquanto nos SHR+Diabetes, apenas o grupo Cramoll apresentou início de reepitelização e queratinização aos 14 dias. Conclui-se, através dos resultados obtidos, que a lectina Cramoll é uma biomolécula estimuladora do processo cicatricial, mesmo quando existem fatores que agem lentificando a cicatrização, como o diabetes e a hipertensão, e que a Xiloglucana extraída de *H. courbaril* é um polissacarídeo estimulador da cicatrização em camundongos diabéticos, tornando-se, essas duas biomoléculas, importantes para a pesquisa na indústria farmacêutica.

Palavras-chave: Cicatrização. Diabetes. Hipertensão. Biomoléculas.

ABSTRACT

Diseases such as diabetes and hypertension slow healing, making the microenvironment of the wound hostile to tissue, prolonging inflammation, increasing medical costs and increasing the possibility of limb amputation. In this context, studies are looking for efficient and non-toxic alternative methods to stimulate healing, lectins and polysaccharides extracted from plants appear as promising candidates. This work aimed to evaluate the healing potential of Cramoll, Xyloglucan membranes from *Hymenaea courbaril* (HcXM) seeds and Cramoll immobilized in HcXM (Cramoll-HcXM), in wounds of diabetic mice, as well as, Cramoll in wounds of rat mice spontaneously hypertensive (SHR) and diabetic SHR. 60 diabetic Swiss albino mice were used, divided into 4 groups of 15 animals: Control, Cramoll, HcXM and Cramoll-HcXM. 90 SHRs were also used, divided into 6 groups of 15 animals: SHR Control, SHR Kollagenase®, SHR Cramoll, SHR + Diabetes Control, SHR + Diabetes Kollagenase® and SHR + Diabetes Cramoll. To assess healing, skin wounds were induced in all animals under anesthesia, trichotomy and antisepsis of the dorsal region. Diabetes was induced by alloxan, in mice, and streptozotocin, in SHR, and confirmed through an enzyme kit for glucose. The treatment and clinical analysis of the wounds were performed daily. Microbiological parameters, wound retraction, histological and quantification of types I and III collagen were also analyzed. The results showed that, in relation to diabetic mice, the healing process was stimulated in the animals treated with Cramoll and with HcXM, when used individually, promoting total reepithelization of the skin of the mice after 12 days of treatment. Regarding the SHR, the results showed that Cramoll was efficient in the healing process, promoting total regeneration of the rats' skin at 14 days of treatment, while in SHR + Diabetes, only the Cramoll group showed the beginning of reepithelization and keratinization at 14 days. It is concluded, through the results obtained, that Cramoll lectin is a biomolecule that stimulates the healing process, even when there are factors that act slowing healing, such as diabetes and hypertension, and that Xyloglucan extracted from *H. courbaril* is a polysaccharide stimulator of healing in diabetic mice, making these two biomolecules important for research in the pharmaceutical industry.

Keywords: Healing. Diabetes. Hypertension. Biomolecules.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Revisão de Literatura

Figura 1 –	Principais estruturas e camadas da pele	21
Figura 2 –	Camadas da epiderme	23
Figura 3 –	Formação do coágulo	26
Figura 4 –	Fases inflamatória e proliferativa da cicatrização	27
Figura 5 –	Pomada dermatológica Kollagenase® Cristália	35
Figura 6 –	Rede de aglutinação mediada por lectinas	36
Figura 7 –	<i>Cratylia mollis</i>	36
Figura 8 –	<i>Hymenaea courbaril</i>	39

Artigo 1

Figura 1 –	Clinical evaluation of diabetic mice wounds by time of evaluation (days). Day 0 - production of wounds in the experimental groups; Day 2 - edema and hyperemia in all groups, but more marked in Control and Cramoll groups, and formation of primary scab in all groups; Day 7 - the presence of a secondary scab and detachment was observed in all groups, and in Cramoll re-epithelialization and a more evident contraction of the wound were observed; Day 12 – detachment of the secondary scab, re-epithelialization and wound retraction in all experimental groups, being more pronounced in Cramoll, HcXM and Cramoll-HcXM groups	71
Figura 2 –	Percentage of wound retraction at 2, 7 and 12 days of treatment. Comparison of the Arithmetical Mean (AM) and Standard Deviation (SD) among experimental groups and control using the methods of analysis of variance (ANOVA) and Bonferroni's multiple comparisons test ($p < 0.05$). (a) – significant in comparison to the Control group; (b) – significant in comparison to Cramoll; (c) significant in comparison to HcXM; and (d) significant in comparison to Cramoll-HcXM	72
Figura 3 –	Histological analysis of diabetic mice wounds within 2 days of treatment using H.E. staining. A – Control; B – Cramoll; C – HcXM; D – Cramoll-HcXM. Presence of granulation tissue in all	

	treatments. It is worth noting the intense inflammatory infiltrate in C, moderate infiltrate in D, and a floppy vascular granulation tissue in B. (TC) – connective tissue; and (TG) – granulation tissue	73
Figura 4 –	Histological analysis of diabetic mice wounds within 7 days of treatment using H.E. staining. A – Control; B – Cramoll; C – HcXM; D – Cramoll-HcXM. Presence of an acute inflammatory infiltrate in A and early re-epithelialization in B, C and D. (TG) – granulation tissue; (blue arrow) – leukocyte infiltrate; (orange arrow) – re-epithelialization	74
Figura 5 –	Histological analysis of diabetic mice wounds at 12 days of treatment using H.E. staining. A – Control; B – Cramoll; C – HcXM; D – Cramoll-HcXM. Presence of fibrous tissue in A, B and C; fibrovascular tissue in D; and presence of leukocyte infiltrate in A and D. (Ep) - epithelium, (blue arrow) - leukocyte infiltrate	75
Figura 6 –	Collagen quantification by type at 12 days of treatment. Comparison of the Arithmetical Mean (AM) and Standard Deviation (SD) among experimental groups and control using the methods of analysis of variance (ANOVA) and Bonferroni's multiple comparisons test. (a) – significant in comparison to the Control group; (b) – significant in comparison to Cramoll; (c) significant in comparison to HcXM; and (d) significant in comparison to Cramoll-HcXM	76

Artigo 2

Figura 1 –	Avaliação clínica das feridas dos SHR por tempo de avaliação (dias), em que: Dia 0 - produção de feridas nos grupos experimentais; Dia 3 - edema e hiperemia em todos os grupos, porém mais acentuados no grupo SHR Kollagenase®, e formação de crosta primária em todos os grupos; Dia 9 - o desprendimento da crosta secundária e reepitelização foi observada em todos os grupos, porém ambos foram mais evidentes no grupo SHR Cramoll; Dia 14 - reepitelização e retração da ferida em todos os grupos experimentais, sendo mais acentuada no grupo SHR Cramoll	93
------------	--	----

- Figura 2 – Avaliação clínica das feridas dos SHR+Diabetes por tempo de avaliação (dias), em que: Dia 0 - produção de feridas nos grupos experimentais; Dia 3 - edema e hiperemia em todos os grupos, porém mais acentuados nos grupos SHR+Diabetes Controle e SHR+Diabetes Kollagenase®, e formação de crosta primária em todos os grupos; Dia 9 - o desprendimento da crosta secundária e reepitelização foi observada em todos os grupos, porém mais evidente no grupo SHR+Diabetes Cramoll; Dia 14 - reepitelização e retração da ferida em todos os grupos experimentais 94
- Figura 3 – Porcentagem de retração das feridas aos 3, 9 e 14 dias de tratamento dos SHR. Comparação da Média Aritmética (AM) e Desvio Padrão (DP) entre grupos experimentais e controle utilizando os métodos de análise de variância (ANOVA) e teste de comparações múltiplas de Bonferroni ($p < 0,05$). (a) - significativo em comparação ao grupo SHR Controle; (b) - significativo em comparação com SHR Kollagenase®; (c) significativo em comparação a SHR Cramoll 95
- Figura 4 – Porcentagem de retração das feridas aos 3, 9 e 14 dias de tratamento dos SHR+Diabetes. Comparação da Média Aritmética (AM) e Desvio Padrão (DP) entre grupos experimentais e controle utilizando os métodos de análise de variância (ANOVA) e teste de comparações múltiplas de Bonferroni ($p < 0,05$). (a) - significativo em comparação ao grupo SHR+Diabetes Controle; (b) - significativo em comparação com SHR+Diabetes Kollagenase®; (c) significativo em comparação a SHR+Diabetes Cramoll 96
- Figura 5 – Fotomicrografia de feridas cutâneas nos animais SHR avaliadas após 3 dias de tratamento. (A-B) Controle; (C-D) Kollagenase®; (E-F) Cramoll. Notar em todas as feridas (F) a presença de tecido de infiltrado leucocitário (IL) em todos os tratamentos. H.E 97
- Figura 6 – Fotomicrografia de feridas cutâneas nos animais SHR avaliadas após 9 dias de tratamento. (A-B) Controle; (C-D) Kollagenase®; (E-F) Cramoll. Notar nas feridas (F) a presença de tecido de infiltrado leucocitário (IL) apenas nos grupos Controle e Kollagenase®, e no grupo Cramoll reepitelização (seta longa),

- queratinização (seta curta) tecido conjuntivo (Tc) sem infiltrado leucocitário H.E. 98
- Figura 7 – Fotomicrografia de feridas cutâneas nos animais SHR avaliadas após 14 dias de tratamento. (A-B) Controle; (C-D) Kollagenase®; (E-F) Cramoll. Notar na região onde eram as feridas a presença de infiltrado leucocitário (IL) apenas no grupo Controle, tecido conjuntivo (Tc) em todos os grupos, reepitelização (seta longa) e queratinização (seta curta) no grupo Kollagenase® e recuperação total da pele no grupo Cramoll. H.E. 99
- Figura 8 – Fotomicrografia de feridas cutâneas nos animais SHR+Diabetes avaliadas após 3 dias de tratamento. (A-B) Controle; (C-D) Kollagenase®; (E-F) Cramoll. Notar nas feridas (F) a presença de tecido de infiltrado leucocitário (IL) em todos os tratamentos. H.E. 100
- Figura 9 – Fotomicrografia de feridas cutâneas nos animais SHR+Diabetes avaliadas após 9 dias de tratamento. (A-B) Controle; (C-D) Kollagenase®; (E-F) Cramoll. Notar nas feridas (F) a presença de tecido de infiltrado leucocitário (IL) em todos os tratamentos. H.E. 101
- Figura 10 – Fotomicrografia de feridas cutâneas nos animais SHR+Diabetes avaliadas após 14 dias de tratamento. (A-B) Controle; (C-D) Kollagenase®; (E-F) Cramoll. Notar nas feridas (F) a presença de tecido de infiltrado leucocitário (IL) apenas nos grupos Controle e Kollagenase®, e no grupo Cramoll reepitelização (seta longa), queratinização (seta curta) H.E. 102
- Figura 11 – Imunohistoquímica para o colágeno III nas lesões cutâneas nos animais SHR: 9 dias - (A) Controle, (B) Kollagenase® e (C) Cramoll; 14 dias - (D) Controle, (E) Kollagenase® e (F) Cramoll. Notar forte marcação em todos os tratamentos aos 9 dias e fraca aos 14 dias 103
- Figura 12 – Imunohistoquímica para o colágeno III nas lesões cutâneas nos animais SHR + Diabetes: 9 dias - (A) Controle, (B) Kollagenase® e (C) Cramoll; 14 dias - (D) Controle, (E) Kollagenase® e (F)

	Cramoll. Notar forte marcação apenas no tratamento Cramoll aos 9 e 14 dias	104
Figura 13 –	Imunohistoquímica para o colágeno I nas lesões cutâneas nos animais SHR: 9 dias - (A) Controle, (B) Kollagenase® e (C) Cramoll; 14 dias - (D) Controle, (E) Kollagenase® e (F) Cramoll. Notar marcação apenas no tratamento Cramoll aos 9 e em todos os tratamentos aos 14 dias	105
Figura 14 –	Imunohistoquímica para o colágeno I nas lesões cutâneas nos animais SHR + Diabetes: 9 dias - (A) Controle, (B) Kollagenase® e (C) Cramoll; 14 dias - (D) Controle, (E) Kollagenase® e (F) Cramoll. Notar marcação apenas no tratamento Cramoll aos 9 e em todos os tratamentos aos 14 dias, sendo mais forte no Cramoll	106

LISTA DE TABELAS

Artigo 3

Tabela 1 – Atuação de lectinas na cicatrização de feridas cutâneas.....	120
---	-----

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	OBJETIVOS	20
2.1	Objetivo Geral	20
2.2	Objetivos Específicos	20
3	REVISÃO DE LITERATURA	21
3.1	Estrutura e Fisiologia da Pele	21
3.2	Feridas Cutâneas e Cicatrização	24
3.3	Diabetes Mellitus	29
3.4	Hipertensão Arterial	31
3.5	Cicatrização em Diabéticos e Hipertensos	32
3.6	Enzima Colagenase	34
3.7	Compostos Naturais de Origem Vegetal que Estimulam a Cicatrização	35
3.8	Referências	39
4	RESULTADOS	53
4.1	ARTIGO 1 - HEALING ACTIVITY OF CRAMOLL AND XYLOGLUCAN MEMBRANE IN CUTANEOUS WOUNDS OF DIABETIC MICE	54
4.2	ARTIGO 2 - LECTINA DE <i>CRATYLIA MOLLIS</i> (CRAMOLL): AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CICATRIZANTE EM FERIDAS DE RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS (SHR) E SHR DIABÉTICOS	77
4.3	ARTIGO 3 - ATIVIDADE CICATRIZANTE DE LECTINAS EM FERIDAS CUTÂNEAS DE ANIMAIS NORMAIS, DIABÉTICOS E HIPERTENSOS: UMA REVISÃO DE LITERATURA	107
5	CONCLUSÕES	141
	REFERÊNCIAS	142
	ANEXO A – Artigo publicado na revista <i>Frontiers in Cellular and Infection Microbiology</i>	165

1. INTRODUÇÃO

A pele é o maior órgão do corpo e atua como primeira barreira física de defesa contra microrganismos infecciosos e toxinas do meio externo (SANTOS et al, 2004; GÁL et al., 2011). Sua estrutura compreende duas camadas, a epiderme e a derme. A epiderme é constituída por um epitélio de revestimento estratificado pavimentoso queratinizado, cujas células são denominadas queratinócitos. A derme é formada por tecido conjuntivo, caracterizado por presença de vasos, fibras elásticas, colágeno (principalmente colágeno tipo I) e fibroblastos, que são as células predominantes (ROSS, 2017).

A ocorrência de uma ferida cutânea provoca uma cascata de reações celulares e bioquímicas que inicia o processo cicatricial para reparação da mesma (LIMA; ARAÚJO, 2013). Esse processo compreende quatro fases que são independentes, porém se sobrepõem: hemostasia, inflamação, proliferação e remodelação (MORTON; PHILLIPS, 2016). Interferências no processo de cicatrização podem dificultar que a pele execute sua função de barreira física, expondo dessa forma o indivíduo a microrganismos infecciosos. A infecção associada à inflamação exacerbada (SIBBALD et al., 2011) é considerada a causa mais provável de cicatrização tardia tanto em feridas agudas quanto em crônicas, apesar da ampla disponibilidade de agentes antimicrobianos para a profilaxia e tratamento (FARRAR, 2011).

Entre as doenças que podem afetar o processo de cicatrização, tornando-o lento, pode-se destacar o diabetes e a hipertensão arterial. Dentre os vários mecanismos fisiológicos existentes que retardam a cicatrização em diabéticos, estão: a diminuição da produção de óxido nítrico (NO), a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROs) e a diminuição da resposta celular aos fatores de crescimento (KOLLURU; BIR; KEVIL, 2012).

Em hipertensos o retardo acontece devido a redução do lúmen arterial no tecido subcutâneo provocado pelo aumento da espessura da camada média da parede do vaso (KORSGARRD et al., 1993; BIONDO-SIMÕES et al., 2006), causando redução do fluxo sanguíneo e gerando um estado de hipóxia tecidual (CLARK, 2002). Um fato preocupante é que sob o ponto de vista epidemiológico a hipertensão é três vezes mais frequente em diabéticos do que na população não diabética (ANTÔNIO et al., 2008), potencializando dessa forma os riscos do aparecimento de uma ferida crônica.

Nesse contexto, compostos de origem natural que possuem propriedades estimuladoras da reparação tecidual são estudados, dentre esses se destacam as lectinas e os polissacarídeos. As lectinas fazem parte de um grupo de proteínas ou glicoproteínas de origem não imunológica que se ligam reversivelmente a carboidratos específicos, essa interação acontece devido a sítios de ligação presentes na estrutura tridimensional desses polímeros (SUN et al., 2007; COELHO et al., 2017). Essas proteínas desempenham atividades biológicas importantes quando estão na superfície de células, como aglutinação, apoptose, reconhecimento celular e estimulação da proliferação celular (SANTOS SILVA et al. 2019).

Cramoll, uma lectina purificada a partir de sementes da *Cratylia mollis*, uma planta forrageira encontrada na região Semiárida do estado de Pernambuco (CORREIA; COELHO, 1995), apresenta um amplo leque de aplicações biotecnológicas. Entre estes vários estudos, se destacam aqueles que relatam sua capacidade de acelerar o processo de cicatrização. Estudos já mostraram que ela acelerou a cicatrização de queimaduras de segundo grau (PEREIRA et al., 2012), o reparo ósseo (SANTOS-OLIVEIRA et al., 2013) e quando imobilizada em membranas do polissacarídeo Galactomanana também acelerou a cicatrização de feridas cutâneas (ALBUQUERQUE et al., 2017). Mesmo quando se apresenta condições adversas ao processo cicatricial, como por exemplo, a imunossupressão, mantém sua atividade cicatrizante (MELO et al., 2011; PEREIRA et al., 2019).

Assim como as lectinas, os polissacarídeos também são analisados quanto a capacidade de estimular o processo cicatricial (SUN, 2017). São utilizados em formulações de géis, hidrogéis e membranas, como veículo para liberação de medicamentos e curativos tópicos (MONTEIRO, 2007). Estudos já relataram a aplicação de membranas constituídas de celulose, alginato, quitosana e galactomanana em feridas experimentais, promovendo a cicatrização (WIEGAND; HIPLER, 2010; ALBUQUERQUE et al., 2017). Além disso, muitos polissacarídeos apresentam propriedades antimicrobianas e possíveis ligações com mediadores inflamatórios (WIEGAND; HIPLER, 2010).

Xiloglucanas são polissacarídeos ramificados, geralmente encontrados nas paredes celulares primárias e nas sementes de plantas superiores, apresentando funções estruturais e de armazenamento energético,

respectivamente (LUCYSZYN et al., 2011). As Xiloglucanas extraídas das sementes de *Hymenaea courbaril* (planta popularmente conhecida como jatobá) podem formar matrizes para imobilização de moléculas bioativas (ARRUDA et al., 2015) podendo dessa forma, funcionar como curativo tópico.

Diante do exposto, e levando em consideração a atividade cicatrizante da Cramoll, já confirmada em feridas de animais (ratos e camundongos) normais e imunocomprometidos, e as características inerentes da Xiloglucana extraída das sementes de *H. courbaril*, este estudo objetivou ampliar os estudos da atividade cicatrizante da Cramoll imobilizada ou não com a uma membrana de Xiloglucana de *H. courbaril*, utilizando animais sistemicamente comprometidos.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral:

Avaliar o potencial cicatrizante da Cramoll, de membranas de Xiloglucana de sementes de *Hymenaea courbaril* (HcXM) e de Cramoll imobilizada em HcXM (Cramoll-HcXM), em feridas de camundongos diabéticos, bem como, Cramoll em feridas de ratos espontaneamente hipertensos (SHR) e SHR diabéticos.

2.2 Objetivos específicos:

- Extrair e purificar Cramoll e o polissacarídeo Xiloglucana de sementes de *H. courbaril* por protocolos previamente estabelecidos;
- Produzir membranas da Xiloglucana de sementes de *Hymenaea courbaril* (HcXM) por protocolo previamente estabelecido;
- Imobilizar por enclausuramento a Cramoll nas membranas de Xiloglucana (Cramoll-HcXM) por protocolo previamente estabelecido;
- Induzir diabetes em camundongos *Swiss albino* e em SHRs por protocolos previamente estabelecidos;
- Induzir feridas cutâneas nos camundongos *Swiss albino* diabéticos, nos SHRs diabéticos ou não;
- Realizar tratamento tópico das feridas cutâneas experimentais utilizando Cramoll, HcXM, bem como Cramoll-HcXM, nos camundongos diabéticos durante 12 dias;
- Realizar o tratamento tópico diário das feridas cutâneas experimentais utilizando a Cramoll, nos SHRs e nos SHRs diabéticos, durante 14 dias;
- Avaliar clinicamente a evolução dos processos cicatriciais diariamente nos camundongos diabéticos, durante 12 dias, e nos SHRs e SHRs diabéticos durante 14 dias;
- Avaliar histologicamente a evolução dos processos cicatriciais nos 2º, 7º e 12º dias de tratamento, em camundongos diabéticos, ou 3º, 9º e 14º dias de tratamento, em SHRs e SHRs diabéticos, respectivamente;
- Quantificar os colágenos tipos I e III nas feridas dos camundongos diabéticos, dos SHRs e SHRs diabéticos.

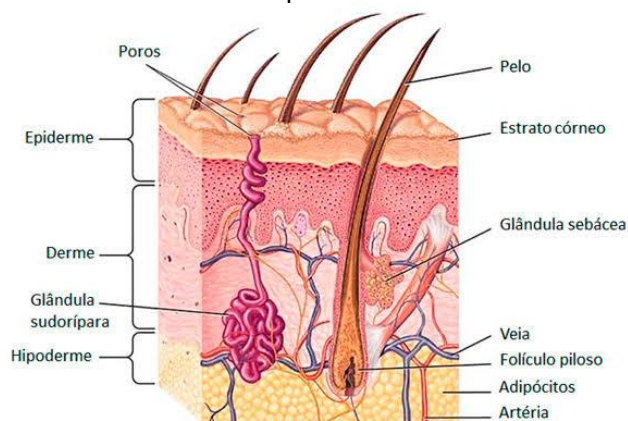
3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Estrutura e fisiologia da pele

A pele é o maior órgão do corpo humano e atua como primeira barreira física de defesa contra microrganismos infecciosos e toxinas do meio externo (SANTOS et al., 2004; GÁL et al., 2011; BOTTING et al., 2017), ou seja, ela é a interface principal entre o organismo e o ambiente externo (TALAGAS et al., 2019), sua integridade é de extrema importância para a manutenção da homeostase corporal (ARIOTTI; VELDHOFEN, 2019). Além de exercer função imunológica (GÁL et al., 2011; BOTTING et al., 2017) e ser um órgão sensorial especializado (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017), a pele desempenha outras funções como por exemplo regulação da temperatura corporal, síntese de vitamina D, reservatório de água, minerais e gorduras (REESE et al., 2016), previne a desidratação, protege contra os raios ultravioleta, absorve substâncias e promove a cicatrização de feridas (THEORET, 2009; GÁL et al., 2011, JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017).

Histologicamente a pele é constituída por duas camadas distintas (REESE et al., 2016) que se encontram firmemente unidas entre si (SANTOS et al., 2004), a epiderme, constituída por um epitélio de revestimento estratificado pavimentoso queratinizado, e a derme, constituída por tecido conjuntivo propriamente dito (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017; ROSS, 2016). A camada subcutânea, situada abaixo da derme é conhecida como hipoderme, tem a mesma origem embrionária da derme, porém não faz parte dela (ALMEIDA, 2009) (Figura 1).

Figura 1. Principais estruturas e camadas da pele.



FONTE: Disponível em: <https://afh.bio.br/sistemas/tegumentar/1.php>
Acesso em 18 jul. 2019.

A epiderme, camada mais externa da pele, é avascular e tem sua nutrição fornecida pelos vasos sanguíneos da derme (BORGES, 2010) (Figura 1). Constituída principalmente por células epiteliais denominadas queratinócitos, que produzem a proteína fibrosa queratina e apresentam função de barreira protetora (ROSS, 2016). Além disso, a epiderme também apresenta células do tecido conjuntivo, os melanócitos e células de Langerhans, e do tecido nervoso, as células de Merkel. Os melanócitos são responsáveis pela produção de melanina, pigmento da pele que age como protetor natural contra os efeitos nocivos de raios UV. As células de Langerhans têm a função de captar, processar e apresentar os antígenos aos linfócitos T, atuando como mediadoras da resposta inflamatória (BOTTING et al., 2017), e as células de Merkel agem como mecanoreceptores (EHRENREICH; RUSZCZAC, 2006), sinalizando principalmente estímulos mecânicos e estáticos (RANADE et al., 2014).

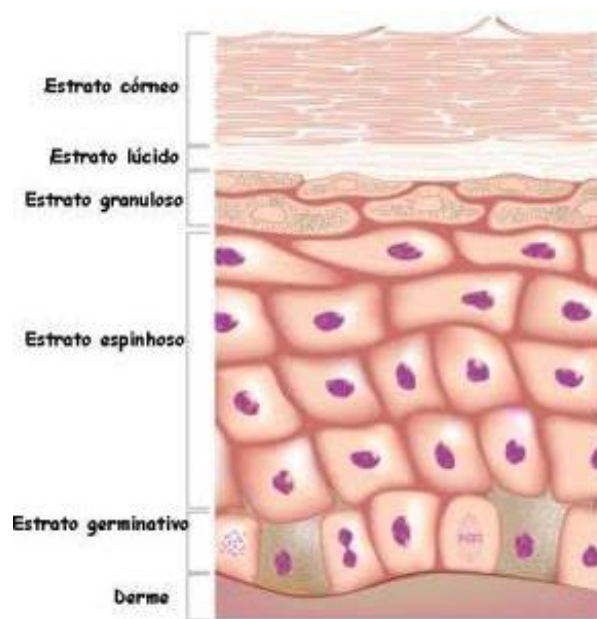
De acordo com as características morfológicas e citoplasmáticas apresentadas pelos queratinócitos, a epiderme é dividida em cinco camadas ou estratos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017) (Figura 2). Tais camadas refletem a progressão das células germinativas, encontradas na base, para as células corneificadas, presentes na superfície da pele (ALMEIDA, 2009). A partir da camada mais interna para a mais superficial, encontram-se:

1. Camada basal ou germinativa: caracterizada por apresentar células com morfologia prismática ou cúbica sobre a membrana basal que delimita a epiderme da derme. É rica em células-tronco com atividade mitótica intensa, sendo responsável pela constante renovação da epiderme, já que os queratinócitos migram da camada basal em direção a superfície até constituir a camada córnea;
2. Camada espinhosa: formada por células de morfologia cúbica ou ligeiramente achatada que contem feixes de filamentos de queratina no seu citoplasma. É chamada de espinhosa porque os queratinócitos dessa camada são unidos entre si por desmossomos, que em preparações histológicas aparecem como projeções celulares, conferindo um aspecto espinhoso;
3. Camada granulosa: caracterizada por apresentar três a cinco fileiras de queratinócitos poligonais achatados com grânulos de querato-hialina e

grânulos lamelares no citoplasma. Os grânulos lamelares possuem discos lamelares formados por bicamadas lipídicas, que se fundem com a membrana plasmática do queratinócito e liberam seu conteúdo lipídico para o meio extracelular. O material lipídico contribui para a formação da barreira de proteção da pele contra penetração de substâncias e perda de água;

4. Camada lúcida: constituída apenas por uma fileira de queratinócitos achatados, cujos citoplasmas apresentam numerosos filamentos de queratina compactados e envolvidos por material elétron-denso. Nessa camada não é possível detectar os núcleos e organelas dessas células, pois foram digeridos por enzimas lisossômicas;
5. Camada córnea: constituída por células mortas, de morfologia achatada e sem núcleo, cujo citoplasma se apresenta repleto de queratina.

Figura 2. Camadas da epiderme.



FONTE: Disponível em:

<http://cienciasbiologiafisicapassenaprova.blogspot.com/2016/05/sistema-tegumentar.html>

Acesso em 18 jul. 2019.

Dessa forma, a diferenciação da epiderme consiste na migração dos queratinócitos da camada basal para a camada córnea. Esse processo é conhecido como diferenciação terminal, onde os queratinócitos perdem atividade mitótica, sofrem modificações morfológicas e bioquímicas, e

transformam-se em estruturas multilamelares de queratinócitos envolvidos por matriz extracelular lipídica (KIM; YUN; CHO, 2011; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017). Todo esse processo permite que a camada córnea forneça um obstáculo mecânico contra patógenos invasores e seus produtos tóxicos, e também contra a desidratação, enquanto as camadas mais profundas da epiderme são observadas de perto pelo sistema imunológico (ARIOTTI; VELDHOEN, 2019).

A camada mais interna da pele, a derme, é bem vascularizada e inervada, contém folículos pilosos e glândulas sebáceas e sudoríparas, que são estruturas derivadas da epiderme (THEORET, 2009; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017) (Figura 1). Como dito anteriormente, é responsável pela nutrição da epiderme, e, além disso, é importante para a termorregulação da pele, percepção sensorial e defesa imunológica (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017). De acordo com o tipo de tecido conjuntivo propriamente dito, a derme é dividida em duas camadas, papilar e reticular.

1. Camada papilar: é constituída por tecido conjuntivo frouxo, com fibroblastos e delgadas fibras colágenas e elásticas. Essas fibras estão perpendiculares à junção dermoepidérmica, por um lado se inserem na membrana basal e, por outro penetram na derme, contribuindo para prender a derme na epiderme. Apresentam saliências chamadas de papilas dérmicas (ALMEIDA, 2009; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017);
2. Camada reticular: é constituída por tecido conjuntivo denso, contém fibras elásticas, que são, em parte, responsáveis pela elasticidade da pele (ALMEIDA, 2009; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017).

O fibroblasto é a principal célula da derme, responsável pela síntese da matriz extracelular (MEC) (SENNETT; RENDL, 2012). Essas células têm uma grande importância no processo de cicatrização, pois migram para o local da ferida e a preenche de MEC, formando uma cicatriz (DARBY et al., 2014).

3.2 Feridas cutâneas e cicatrização

Feridas cutâneas são definidas como qualquer rompimento que leve a descontinuidade da pele. Elas podem surgir em decorrência de um trauma

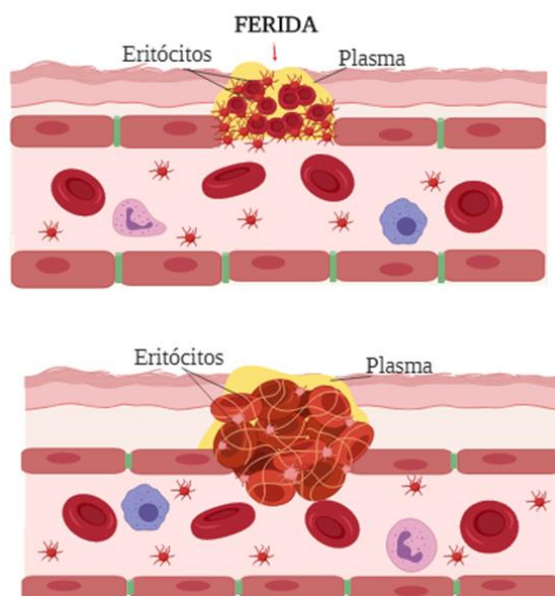
(mecânico, físico ou químico), procedimentos cirúrgicos, insuficiência vascular e também de condições médicas subjacentes, como diabetes, hipertensão e doenças reumatológicas e inflamatórias (MORTON; PHILLIPS, 2016).

Quando a pele é lesionada, ocorre uma cascata de reações celulares e bioquímicas, iniciando dessa forma o processo cicatricial (LIMA; ARAÚJO, 2013), que tem como objetivo evitar o extravasamento de sangue e reparar a ferida. A cicatrização pode ocorrer de três formas:

1. Primeira intenção: quando não há perda de tecido e as extremidades da pele ficam justapostas uma à outra, como ocorre, por exemplo, nas feridas decorrentes de procedimentos cirúrgicos (BORGES et al., 2010);
2. Segunda intenção: quando há perda de tecido e as extremidades da pele ficam distantes uma da outra, sendo necessária a formação de tecido de granulação, contração e a reepitelização da ferida (BORGES et al., 2010);
3. Terceira intenção: quando há fatores que interferem no processo, retardando a cicatrização, como infecção, isquemia (causando má nutrição e baixa perfusão de oxigênio nos tecidos), doenças endócrinas como diabetes e obesidade, terapia em curso com glicocorticoides, radioterapia e quimioterapia (BORGES et al., 2010).

O processo de cicatrização compreende quatro fases que são independentes, porém se sobrepõem: hemostasia, inflamação, proliferação e remodelação (MORTON; PHILLIPS, 2016). Após a ocorrência de uma ferida, inicia-se o extravasamento sanguíneo que preenche a área da ferida com plasma e elementos celulares, principalmente plaquetas (EMING; KRIEG; DAVIDSON, 2007). As plaquetas se ligam as fibras de fibrina para que ocorra a formação do coágulo, impedindo a hemorragia (NANDI et al., 2019), reestabelecendo a hemostasia e formando uma barreira contra a invasão de microrganismos. Este se torna mais consistente conforme a fibrina vai se polimerizando pelas vias da coagulação (WERNER; GROSE, 2003) (Figura 3).

Figura 3. Formação do coágulo.



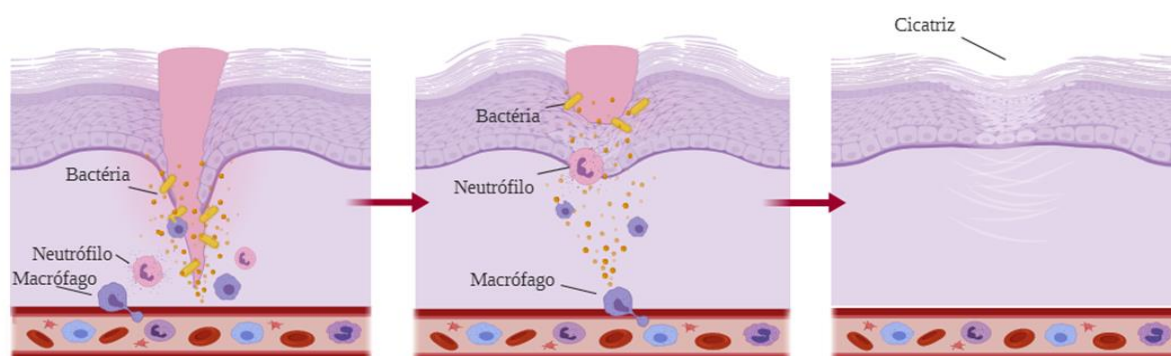
FONTE: Autor.

O coágulo serve como alicerce para a migração de células (SUN; SIPRASHVILI; KHAVARI, 2014), pois a ativação plaquetária libera mediadores quimiotáticos que vão promover a migração de células inflamatórias para o local da ferida (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005) objetivando evitar infecções e iniciando a fase inflamatória. Induzidas pela trombina, as plaquetas sofrem degranulação, e liberam vários fatores de crescimento, como por exemplo: fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de crescimento transformante- α (TGF- α), fator de crescimento transformante- β (TGF- β), fator de crescimento epidérmico (EGF) e o fator de crescimento de células endoteliais (VEGF). Além disso, também são liberadas glicoproteínas adesivas como a fibronectina e trombospondina, que são importantes constituintes da MEC provisória (STRETT et al., 2000).

Neutrófilos e macrófagos também são atraídos ao leito da ferida em resposta aos agentes quimiotáticos das plaquetas (CLARK, 2002). Essas células são as predominantes da fase inflamatória (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005), elas fagocitam e digerem bactérias e restos celulares (Figura 4). Além disso, os macrófagos secretam fatores quimiotáticos que atraem outras células inflamatórias e produzem prostaglandinas, que funcionam como potentes vasodilatadores, afetando a permeabilidade dos microvasos (ARNOLD; WEST,

1991; EMING et al., 2007). Os macrófagos também produzem diversos fatores de crescimento, tais como PDGF, TGF- β , EGF, fator de crescimento de fibroblastos (FGF) e VEGF. Esses se destacam como as principais citocinas necessárias para estimular a formação do tecido de granulação (SINGER; CLARK, 1999), pois atraem para o local da ferida fibroblastos e queratinócitos e os induzem a proliferação (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005; DICKINSON; GERECHT, 2016), iniciando assim, a fase proliferativa.

Figura 4. Fases inflamatória e proliferativa da cicatrização



FONTE: Autor.

A fase proliferativa caracteriza-se pela formação de um tecido de granulação contendo células inflamatórias, fibroblastos e vasos sanguíneos neoformados em uma matriz de colágeno frouxa. É responsável pelo fechamento da ferida (Figura 4) e compreende reepitelização, fibroplasia e angiogênese (ISAAC et al., 2010). A proliferação epitelial inicia-se por estimulação mitogênica e quimiotática dos queratinócitos pelo TGF- α e EGF (DVORAK, 2002). Essas células migram das bordas da ferida e multiplicam-se, reestruturando as camadas da epiderme e promovendo a reepitelização tecidual (ISAAC et al., 2010).

A angiogênese ocorre a partir de vasos íntegros adjacentes à ferida, que são responsáveis por fornecer oxigênio e nutrientes para a cicatrização. Simultaneamente ocorre deposição e proliferação de fibroblastos sobre a rede de fibrina formando um tecido frouxo, denominado tecido de granulação. Os fibroblastos secretam elastina, fibronectina, glicosaminoglicanos, proteases e colágeno, principalmente colágeno tipo III, os quais são responsáveis pela regeneração tecidual (MANDELBAUM; SANTIS; MANDELBAUM, 2003; ISAAC et al., 2010).

A fase de remodelação envolve um minucioso e organizado equilíbrio entre degradação e formação de matriz (ACKERMANN, 2009), que, é marcada por maturação dos elementos e alterações na MEC, ocorrendo o depósito de proteoglicanos e colágeno (GABBIANI, et al., 1972). Influenciada por citocinas e fatores de crescimento, a matriz de colágeno é continuamente degradada, resintetizada, reorganizada e reestabilizada (KARUKONDA et al., 2000; ACKERMANN, 2009). Nessa fase, surgem as primeiras fibras de colágeno tipo I, o qual é mais resistente e espesso em substituição ao colágeno tipo III depositado durante a fase proliferativa (ACKERMANN, 2009; ISAAC et al., 2010).

O colágeno é uma proteína fibrosa insolúvel de função estrutural, que aumenta com uma taxa relativamente constante a partir do 3º dia de cicatrização (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017). Essa proteína é classificada em diferentes grupos, conforme sua sequência de aminoácidos. Os colágenos presentes na derme são os tipos I e III. Em um tecido normal cerca de 90% é colágeno tipo I e 10% colágeno tipo III, mas quando o tecido é lesado, o tipo III predomina na fase proliferativa, porém na fase de remodelação é substituído ao longo do processo de reparo tecidual pelas fibras do tipo I (OLIVEIRA; DIAS, 2012; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017).

Na fase mais tardia, os fibroblastos do tecido de granulação transformam-se em miofibroblastos comportando-se como um tecido contrátil responsivo aos agonistas que estimulam o músculo liso. Ocorre, concomitantemente, reorganização da matriz extracelular, que se transforma de provisória em definitiva (GABBIANI et al., 1972).

Assim que a demanda metabólica do processo de cicatrização diminui, a alta rede de capilares, fibroblastos e células inflamatórias desaparecem do local da ferida mediante processos de emigração e apoptose (ARNOLD; WEST, 1991; ACKERMANN, 2009). Esse fato leva à formação de cicatriz com reduzido número de células. Por outro lado, se persistir a celularidade no local, ocorrerá a formação de cicatrizes hipertróficas ou queloides. As principais citocinas envolvidas nessa fase são: fator de necrose tumoral (TNF- α), interleucina-1 (IL-1), PDGF e TGF- β produzidas pelos fibroblastos, além das produzidas pelas células epiteliais como EGF e TGF- β (KARUKONDA et al., 2000).

Interferências no processo de cicatrização podem dificultar que a pele execute sua função de barreira física, expondo dessa forma o indivíduo a microrganismos infecciosos. A infecção associada à inflamação exacerbada é considerada a causa mais provável de cicatrização tardia tanto de feridas crônicas quanto de agudas (SIBBALD et al., 2011), apesar da ampla disponibilidade de agentes antimicrobianos para a profilaxia e tratamento (FARRAR, 2011). Entre as doenças que podem afetar o processo de cicatrização, tornando-o lento, pode-se destacar o diabetes mellitus e a hipertensão arterial.

3.3 Diabetes mellitus

O diabetes mellitus (DM) é um distúrbio metabólico crônico caracterizado pelo aumento da concentração de glicose no sangue (hiperglicemia) (OGURTSOVA, et al., 2017), devido a um defeito na secreção de insulina e/ou quando o corpo não pode usa-la de maneira efetiva (RADENKOVIĆ; STOJANOVIĆ; PROSTRAN, 2016). Pode se manifestar de três formas principais: diabetes mellitus tipo 1 (DM1), tipo 2 (DM2) e o gestacional (DMG).

O DM1 ocorre devido à destruição autoimune das células β do pâncreas (ROTHER, 2007; BAKAY; PANDEY; HAKONARSON, 2013; MILLMAN et al., 2016) que envolve fatores genéticos em combinação com gatilhos ambientais (MAAHS et al., 2010). A destruição progressiva das células β é causada pela infiltração de linfócitos no tecido pancreático levando a alterações crônicas irreversíveis, atrofia e fibrose (CSOBONYEIOVA; POLAK; DANISOVIC, 2018). Estudos revelaram que aproximadamente 57 loci independentes estão associados a manifestação do DM1 (ONENGUT-GUMUSCU et al., 2015). O tratamento desse distúrbio é baseado na administração de insulina exógena durante toda a vida do indivíduo acometido (CIERPKA-KMIEC; WRONSKA; KMIEC, 2019), porém, a oscilação da glicose sanguínea e comorbidades associadas resultam em complicações graves em longo prazo (KAWSER HOSSAIN et al., 2016).

O DM2 está relacionado à resistência insulínica dos tecidos periféricos gerando uma liberação insuficiente ou suficiente de insulina, mas que não é reconhecida pelo tecido periférico. No tratamento, utilizam-se medicamentos que aumentam a secreção de insulina, sua sensibilidade tecidual, aumentam

excreção de glicose ou retardam a absorção de glicose no trato gastrointestinal (CIERPKA- KMIEC; WRONSKA; KMIEC, 2019).

O DMG é caracterizado pela intolerância a glicose percebida pela primeira vez durante a gravidez (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1999), e frequentemente precede o desenvolvimento do DM2 (KUMAR et al., 2012). Entre os fatores que ocasionam o DMG estão o sobrepeso/obesidade, dieta ocidentalizada e deficiências de micronutrientes, idade materna avançada e histórico familiar de resistência à insulina e/ou diabetes (PLOWS et al., 2018). Quando o DMG é diagnosticado ou previsto precocemente pode ser tratado através de intervenções apropriadas, como mudanças no estilo de vida ou meios farmacológicos para reduzir o impacto adverso na saúde (FAAL et al., 2019).

Indivíduos diabéticos apresentam um risco maior de morbidade e mortalidade do que a população geral (OGURTSOVA, et al., 2017), pois o diabetes, mesmo quando tratado corretamente, pode levar a complicações, além de diminuir a qualidade de vida do indivíduo e aumentar os custos médicos devido a necessidade do paciente ficar hospitalizado (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2017). Trata-se de uma das principais causas de doença cardiovascular, cegueira, insuficiência renal e amputação de membros inferiores devido à deficiência no processo cicatricial, e na gestação, quando mal controlado aumenta o risco de complicações (DeFRONZO et al., 2015), como pré-eclâmpsia para a mãe (JOFFE et al., 1998), e ao feto distocia (ATHUKORALA; CROWTHER; WILLSON, 2007) e macrossomia (FERRARA et al., 2007).

O diabetes é apontado como uma das principais causas das doenças citadas acima porque altos níveis de glicose no sangue aumenta o estresse oxidativo, devido à produção excessiva de radicais livres ou da redução das defesas antioxidantes (GIACCO; BROWNLEE, 2010), causando danos vasculares generalizados que levam a cardiopatias, retinopatias, nefropatia e os nervopatias (DeFRONZO et al., 2015). Um dado preocupante é que em 2017 existiam cerca de 425 milhões de diabéticos no mundo (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2017), e de acordo com Ogurtsova et al. (2017) esse número vai subir para 642 milhões até 2040. Então, a cada ano mais indivíduos estarão em risco de desenvolver as

referidas doenças ou necessitar de uma amputação de membros inferiores, tendo como causa principal o diabetes.

Diante de todas as complicações que o diabetes pode provocar em um indivíduo, várias pesquisas buscam alternativas para minimizar seus efeitos, como por exemplo: testar meios de estimular a proliferação das células β do pâncreas (SUBRAMANIAN et al., 2019), investigar biomarcadores capazes de identificar precocemente mulheres com risco de desenvolver DMG (DEREKE et al., 2019; FAAL et al., 2019), averiguar efeito citoprotetor de compostos frente ao estresse oxidativo provocado pelo DM (ĐURAŠEVIĆ et al., 2019), e estudar alternativas que estimulem o processo de cicatrização em diabéticos (MASOOD et al., 2019).

Modelos animais têm sido amplamente utilizados para a obtenção de informações a respeito de várias doenças (HE; BAZAN, 2016). Experimentalmente, o diabetes mellitus pode ser induzido por manipulação química, cirúrgica e genético-imunológica. Os compostos químicos mais importantes e mais frequentemente utilizados para a indução do DM1 são a aloxana e a estreptozotocina (RADENKOVIĆ; STOJANOVIĆ; PROSTRAN, 2016), e a via de administração mais segura é a intraperitoneal, pois evita efeitos tóxicos e reduz a mortalidade geral (FEDERIUK et al., 2004). Os dois compostos são análogos da glicose e tóxicos as células β do pâncreas (SZKUDELSKI, KANDULSKA; OKULICZ, 1998), causando a destruição das mesmas (RADENKOVIĆ; STOJANOVIĆ; PROSTRAN, 2016), consequentemente isso afeta a produção/liberação de insulina provocando a hiperglicemia.

3.4 Hipertensão arterial

De acordo com a *American Heart Association*, a hipertensão resistente (pressão alta) é definida como a exigência de 3 ou mais medicamentos (1 preferencialmente um diurético) para controlar adequadamente a pressão arterial (NAGARAJAN; JALAL, 2019). No ano de 2017 especialistas mudaram as regras sobre o que se classifica como pressão alta, e definiram hipertensão como uma leitura de 130 na máxima (pressão arterial sistólica) ou 80 na mínima (pressão arterial diastólica). Antes, o padrão era 140/90 (AMERICAN HEART ASSOCIATION, 2017).

Atualmente a hipertensão atinge cerca de 1,13 bilhões de pessoas no mundo (NCD RISK FACTOR COLLABORATION, 2017) e é um fator de risco para insuficiência cardíaca, doença arterial coronariana e acidente vascular cerebral, com altas taxas de morbidade e mortalidade (JAWORSHA et al., 2017). Além disso, é uma provável característica da obesidade, diabetes mellitus e síndrome metabólica (MENDIZÁBAL; LLORENS, NAVA, 2013), e produz alterações patológicas na vasculatura, como microangiopatia na retina, rins, etc (SCHMIEDER, 2010). Além disso, estudos relatam que hipertensos têm o processo de cicatrização prejudicado (KORSGARRD et al., 1993; ZANCHI; BRUNNER; HAYOZ, 1997; CLARK, 2002; BIONDO-SIMÕES et al., 2006).

Diante do número crescente de indivíduos hipertensos e das complicações que essa doença crônica pode provocar, vários estudos objetivam métodos para conhecer mais sobre a doença e para minimizar seus efeitos (YANG et al., 2015; JAWORSHA et al., 2017; SANTISTEBAN et al., 2017).

A maioria desses estudos, quando *in vivo*, são realizados utilizando um modelo animal que apresenta a hipertensão espontaneamente, o SHR. O modelo animal SHR foi desenvolvido por Okamoto e Aoki (1963) e apresenta vasos sanguíneos remodelados por um aumento da espessura da parede média e em consequência diminuição do lúmen do vaso (INTENGAN; SCHIFFRIN, 2001). Esse espessamento da parede do vaso também acontece na hipertensão em humanos (HEAGERTY et al., 1993), dessa forma o SHR é um modelo útil para estudos sobre hipertensão humana.

3.5 Cicatrização em diabéticos e hipertensos

Como falado anteriormente, o diabetes mellitus e a hipertensão arterial são doenças que afetam o processo cicatricial, lentificando-o. Isso acontece devido a uma ruptura da cascata de cicatrização normal, de maneira que se cria um microambiente hostil ao tecido, prolongando a fase inflamatória (DICKINSON; GERECHT, 2016).

Nos indivíduos diabéticos, vários mecanismos são apontados como fatores que interferem na cicatrização, entre eles estão: a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROs), diminuição do óxido nítrico (NO) e

diminuição da resposta aos fatores de crescimento (GFs) (BREM; TOMICANIC, 2007; KOLLURU; BIR; KEVIL, 2012). O excesso de EROs é denominado de estresse oxidativo, e pode causar danos celulares (ILANGO; CHITRA, 2010). O óxido nítrico é necessário na cicatrização porque contribui com os mecanismos de defesa do organismo, pois dilata os vasos sanguíneos permitindo um fluxo maior de células de defesa no local da ferida (FLORA FILHO; ZILBERSTEIN, 2000), dessa forma, sua redução deixa a ferida vulnerável a infecções. A diminuição da resposta celular e dos fatores de crescimento afeta a proliferação celular que é necessária para que ocorra a reepitelização (SANTORO; GAUDINO, 2005).

Além disso, diabéticos apresentam redução nos níveis plasmáticos de fibronectina, de linfócitos e imunoglobulinas, e diminuição da formação da matriz provisória (FEJFAROVA et al., 2016). Há uma resposta inflamatória *in situ* prolongada devido aos altos níveis de citocinas pró-inflamatórias, o que leva ao aumento de metaloproteinases, degradação marcante da matriz e apoptose (BLAKYTNY & JUDE, 2006). A angiogênese também pode ser retardada ou prejudicada, levando à privação de oxigênio e nutrientes, fibroblastos reduzidos, deficiência na migração de queratinócitos e início tardio do fenótipo de miofibroblastos com diminuição do depósito de colágeno tipo I (EBAID et al., 2013).

Fawcett et al. (1996) sugeriram que o déficit de cicatrização em hipertensos ocorre devido a alterações microvasculares, causada pela hipertensão arterial, levando a um fluxo sanguíneo reduzido no local da anastomose. As alterações microvasculares da hipertensão arterial não se limitam apenas à microvasculatura colônica, mas também ocorrem na tela subcutânea. Nesta, provoca redução do lúmen das artérias devido ao aumento da espessura da camada média da parede do vaso (KORSGARRD et al., 1993; ZANCHI; BRUNNER; HAYOZ, 1997; BIONDO-SIMÕES et al., 2006), gerando um estado de hipóxia tecidual (CLARK, 2002). É importante salientar que o aumento na espessura da camada media do vaso não ocorre devido a hipertrofia e hiperplasia dos miócitos, mas devido a um rearranjo das células musculares lisas na parede arterial (KORSGAARD et al., 1993).

A hipóxia tecidual é um fator sistêmico que interfere na cicatrização e que se constitui na privação dos nutrientes e do oxigênio necessários para as

células, que são levados através do sistema microcirculatório. A hipóxia diminui a deposição de colágeno, inibe a atividade fagocitária e pode levar a proliferação de microorganismos pela diminuição da atividade leucocitária (CLARK, 2002).

Visando acelerar o processo cicatricial a introdução de enzimas proteolíticas como agentes desbridadores de tecido necrosado tem sido amplamente utilizado clinicamente.

3.6 Enzima Colagenase

A colagenase é uma enzima proteolítica que cliva as ligações peptídicas do colágeno. Clinicamente é utilizada como agente desbridante de feridas, e estudos indicam que o desbridamento enzimático com colagenase é uma técnica segura e eficaz, pois degrada seletivamente os detritos de colágeno no tecido necrótico que está ligado ao leito da ferida, sem afetar a queratina, a gordura ou a fibrina (HUETT et al., 2017; PATRY; BLANCHETTE, 2017).

O desbridamento é o processo de remoção de tecido ou fibrina desvitalizada, necrótica, não viva ou infectada e de detritos presentes na ferida. Estudos relatam que o desbridamento exerça uma ação positiva no leito da ferida, favorecendo a deposição do tecido de granulação e, finalmente, promovendo um ambiente propício para a cicatrização (PATRY; BLANCHETTE, 2017).

A pomada dermatológica Kollagenase® (Laboratório Cristália) é composta por 0,6 U de colagenase e 1g de vaselina (veículo q. s. p.), e é indicada para o tratamento e limpeza de feridas de difícil cura e de qualquer origem e localização (Figura. 5). Trata-se de uma preparação proteolítica enzimática obtida a partir de culturas do *Clostridium histolyticum*, que após purificação cromatográfica, apresenta-se constituída por uma série de peptidases, sendo a componente principal a colagenase (Bula da pomada Kollagenase® do laboratório Cristália).

A pomada age como desbridante em feridas superficiais, promovendo a limpeza enzimática, retirando necroses e crostas. Digere o colágeno em pH e temperatura fisiológicos, removendo efetivamente detritos, deixando um ambiente propício para a formação de uma nova matriz extracelular. A colagenase contribui para a formação do tecido de granulação e a subsequente

reepitelização de feridas e queimaduras, não atacando tecidos saudáveis ou tecidos de granulação recentemente formados (BULA DA POMADA KOLLAGENASE® DO LABORATÓRIO CRISTÁLIA).

Figura 5. Pomada dermatológica Kollagenase® Cristália



FONTE: Disponível em: <https://www.farma22.com.br/kollagenase-sem-cloranfenicol-pomada-30g/p>

Acesso em 20 jul. 2019.

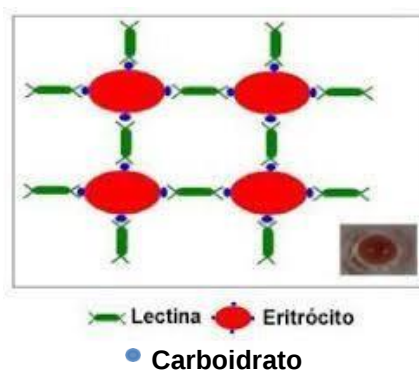
3.7 Compostos naturais de origem vegetal que estimulam a cicatrização

Atualmente, diante dos riscos inerentes de uma ferida crônica, muitos estudos buscam métodos alternativos para estimular o processo de cicatrização. Nesse contexto, destacam-se aqueles que analisam compostos naturais de origem vegetal. Entre esses compostos, as lectinas e os polissacarídeos surgem como candidatos promissores (CORIOLANO et al., 2014; ALBUQUERQUE et al., 2017; SUN, 2017).

As lectinas fazem parte de um grupo de proteínas ou glicoproteínas de origem não imunológica que se ligam reversivelmente a carboidratos específicos, essa interação acontece devido a sítios de ligação presentes na estrutura tridimensional desses polímeros (SUN et al., 2007; COELHO et al., 2017). Essas proteínas desempenham atividades biológicas importantes quando estão na superfície de células, como aglutinação, reconhecimento celular, simbiose, estimulação da proliferação celular, opsonização e apoptose (WITITSUWANNAKUL; WITITSUWANNAKUL; SAKULBORIRUG, 1998).

Podem ser encontradas em vírus, microorganismos, algas, plantas e animais, sua presença pode ser determinada através da ação de aglutinar eritrócitos de diferentes espécies animais (CORREIA; COELHO, 1995; SHARON; LIS, 2004) (Figura 6). As sementes de leguminosas são particularmente fontes abundantes de lectinas (SOL; CAVADA; CALVETE, 2007).

Figura 6. Rede de aglutinação mediada por lectinas



FONTE: Adaptada de PAIVA, et al., 2011.

Cratylia mollis, também conhecida como feijão camaratu, é uma planta forrageira encontrada na região semi-árida do estado de Pernambuco (CORREIA; COELHO, 1995), pertencente à família de leguminosas Papilionoideae (POLHILL et al., 1981) (Figura 7). De suas sementes têm sido purificadas e caracterizadas isoformas de lectinas (Cramoll 1, Cramoll 2, Cramoll 3 e Cramoll 4), que vem apresentando diversas atividades promissoras na área biotecnológica. Uma solução contendo as isoformas 1 e 4 é denominada Cramoll, que apresenta especificidade glicose/manose (CORREIA; COELHO, 1995) e vários estudos têm relatado seu amplo leque de atividades biológicas.

Figura 7. *Cratylia mollis*



FONTE: Pereira, D. S. T. et al., 2012. Arbusto (à esquerda) e sementes (à direita) da *Cratylia mollis*

Tais como: o perfil imunomodulatório de Cramoll (MELO et al., 2010; SILVA et al., 2015; JANDÚ et al., 2017), a capacidade de caracterização de

tecidos cancerígenos humanos (BELTRÃO et al., 1998; LIMA et al., 2010), atividade mitogênica em linfócitos humanos (MACIEL et al., 2004). A lectina promoveu 41% de inibição tumoral (sarcoma 180) quando aplicada na forma livre, quando encapsulada, esta atividade aumentou para cerca de 80% e eliminou os efeitos hepatotóxicos provocados pela Cramoll livre (ANDRADE et al., 2004), revelando dessa forma sua ação antitumoral (CUNHA et al., 2016; OLIVEIRA FIGUEIRÔA et al., 2017). Além disso, ela pode atuar como biosensor na identificação de diferentes sorotipos de dengue, como indutora de morte de epimastigotas de *Trypanosoma cruzi* por necrose (FERNANDES et al., 2010), como potencial anti-helmíntico contra *Schistosoma mansoni* (MELO et al., 2011a), e efeitos citoprotetores contra danos oxidativos induzidos por peróxido de hidrogênio em células Vero (SILVA et al., 2015).

Recentemente um estudo relatou que Cramoll foi promissora quando conjugada a pontos quânticos para analisar expressão de carboidratos em *Candida albicans*, sendo esse complexo importante para estudos de mudanças de glicosilação (CUNHA et al., 2018), e outro estudo, afirma que a imobilização de Cramoll em nanotubos de dióxido de titânio aumentam a adesão e proliferação de células semelhantes a osteoblastos, sendo este complexo relevante para testes em implantodontia (OLIVEIRA et al., 2018).

Entre os vários estudos que investigaram as atividades biológicas que a Cramoll apresenta, se destacam aqueles que relatam sua capacidade de acelerar o processo de cicatrização. Estudos já mostraram que ela acelerou a cicatrização de queimaduras de segundo grau (PEREIRA et al., 2012), o reparo ósseo (SANTOS-OLIVEIRA et al., 2013) e quando imobilizada em membranas do polissacarídeo Galactomanana também acelerou a cicatrização de feridas cutâneas (ALBUQUERQUE et al., 2017). Mesmo quando se apresenta condições adversas ao processo cicatricial, como por exemplo, a imunossupressão, ela mantém sua atividade cicatrizante (MELO et al., 2011b; PEREIRA et al., 2019).

Assim como as lectinas, os polissacarídeos também são analisados quanto a capacidade de estimular o processo cicatricial (SUN, 2017). Os polissacarídeos são polímeros difundidos na natureza e disponíveis especialmente em plantas e microrganismos, representando uma fonte inesgotável de biopolímeros, geralmente não tóxicos, biodegradáveis e

biocompatíveis (MKEDDER et al., 2013). Esses compostos apresentam várias aplicações nas áreas alimentícia, biomédica, farmacêutica, cosmética e biológica. São aplicados na engenharia de tecidos, como matriz para imobilização de moléculas e construção de biossensores. Além disso, também são utilizados em formulações de géis, hidrogéis e membranas, como veículo para liberação de medicamentos e como curativos tópicos (MONTEIRO, 2007; CARNEIRO-DA-CUNHA et al., 2009).

Estudos demonstram que curativos biológicos produzidos a partir de celulose, alginato e quitosana, tem a capacidade de envolvimento natural no tecido lesado, assim como no tecido em formação, para promover cicatrização. Eles também apresentam propriedades antimicrobianas e distintas possibilidades de ligações com mediadores inflamatórios (citocinas, proteases e radicais livres), cujas concentrações são elevadas em úlceras crônicas (WIEGAND; HIPLER, 2010).

Xiloglucanas são heteropolissacarídeos normalmente encontrados nas paredes celulares primárias e nas sementes de plantas, apresentando respectivamente, função estrutural e de reserva energética. Sua estrutura química é composta por uma cadeia central de (1→4)-β-D-glicose, ligada por pontes de hidrogênio na posição O-6 por ramos α-D-xilose e parcialmente ligada em O-2 por unidades de β-D-galactose (HAYASHI, 1989; BUCKERIDGE et al., 2010).

Esses polissacarídeos podem ser utilizados nas indústrias alimentícia e farmacêutica em processos biotecnológicos, pois apresentam capacidade de reter água e de resistir ao calor, salinidade e pH. São amplamente utilizados como espessantes, substitutos de gordura, ou modificadores de amido em muitos produtos, para melhorar as propriedades reológicas e térmicas. Além disso, várias são as atividades biológicas apresentadas, como por exemplo, efeitos hipolipemiantes e antidiabéticos, podem formar matrizes para imobilização de moléculas bioativas (LUCYSZYN et al., 2011) podendo dessa forma, funcionar como curativo tópico.

Arruda et al. (2015) afirmam que a Xiloglucana extraída de *Hymenaea courbaril* é um polissacarídeo promissor nas áreas alimentícia e farmacêutica. A *H. courbaril* var. *courbaril* pertence à família Fabaceae e subfamília Caesalpinaceae, é popularmente conhecida por jatobá, e apresenta

distribuição ampla, desde o sul do México até o centro-oeste do Brasil, ocorrendo também na Floresta Amazônica, e no cerrado e na caatinga do Nordeste brasileiro (LEE; LANGENHEM, 1975) (Figura 8).

Figura 8. *Hymenaea courbaril*.



FONTE: Disponível em: Adaptado de <https://www.medicinanatural.com.br/sp-hymenaea-courbaril-jatoba/>; <https://www.clickmudas.com.br/sementes> respectivamente. Arbusto e vagens (à esquerda) e sementes (à direita) da *Hymenaea courbaril*.

Acesso em 21 jul. 2019.

Diante do exposto, pesquisas que objetivam encontrar uma alternativa que estimule/acelere o processo cicatricial em feridas de animais diabéticos, hipertensos e diabéticos hipertensos, são importantes, pois tais feridas são de difícil cura, recorrentes, geram altos custos clínicos, além de afetarem negativamente a qualidade de vida dos acometidos podendo levá-los a amputação de membros.

3.8 Referências

ACKERMANN, M. R. **Inflamação crônica e cicatrização de feridas**. In: Bases da patologia em veterinária. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier. 2009.

ALBUQUERQUE, P. B. S.; SOARES, P. A. G.; ARAGÃO-NETO, A. C.; ALBUQUERQUE, G. S.; SILVA, L. C. N.; LIMA-RIBEIRO, M. H. M.; SILVA NETO, J. C.; COELHO, L. C. B. B.; CORREIA, M. T. S.; TEIXEIRA, J. A. C.; CARNEIRO-DA-CUNHA, M. G. Healing activity evaluation of the galactomannan film obtained from *Cassia grandis* seeds with immobilized *Cratylia mollis* seed lectin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 102, p. 749-757, 2017.

ALMEIDA, P. C. C. **Estudo da transição dermoepidermica dos enxertos de pele e sua relação como surgimento de vesículas**. São Paulo. Tese, Faculdade de Medicina de São Paulo, pp. 113, 2009.

AMERICAN HEART ASSOCIATION. Disponível em: <https://www.heart.org/en>
Acesso em 18 jun. 2019.

ANDRADE, C. A. S.; CORREIA, M. T.; COELHO, L. C.; NASCIMENTO, S. C.; SANTOS-MAGALHÃES, N. S. Antitumor activity of *Cratylia mollis* lectin encapsulated into liposomes. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 278, p. 435-445, 2004.

ANTÔNIO S.; FERREIRA, P.; ESTEVES, M. C.; CABANELAS, N. Terapêutica anti-hipertensiva em doentes diabéticos. **Revista portuguesa de medicina geral e familiar**, v. 24, n. 3, p. 403-409, 2008.

ARIOTTI, S.; VELDHOFEN, M. Immunology: Skin T Cells Switch Identity to Protect and Heal. **Current Biology**, v. 29, n. 6, p. 220-223, 2019.

ARNOLD, F.; WEST, D. C. Angiogenesis in wound healing. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 52, n. 3, p. 407-422, 1991.

ARRUDA, I. R.; ALBUQUERQUE, P. B.; SANTOS, G. R.; SILVA, A. G.; MOURÃO, P. A.; CORREIA, M. T.; VICENTE, A. A.; CARNEIRO-DA-CUNHA, M. G. Structure and rheological properties of a xyloglucan extracted from *Hymenaea coubaril* var. *coubaril* seeds. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 73, p. 31-38, 2015.

ATHUKORALA, C.; CROWTHER, C. A.; WILLSON, K. Australian Carbohydrate Intolerance Study in Pregnant Women (ACHOIS) trial group. Women with gestational diabetes mellitus in the ACHOIS trial: Risk factors for shoulder dystocia. The **Australian & New Zealand Journal of Obstetrics & Gynaecology**, n. 47, p. 37-41, 2007.

BAKAY, M.; PANDEY, R.; HAKONARSON, H. Genes involved in type 1 diabetes: na update. **Genes (Basel)**, v. 4, n. 3, p. 499-521, 2013.

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

BELTRÃO, E. I. C.; CORREIA, M. T.; FIGUEREDO-SILVA, J.; COELHO, L. C. Binding evaluation of isoform 1 from *Cratylia mollis* lectin to human mammary tissues. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 74, p. 125-134, 1998.

BIONDO-SIMÕES, M. L. P.; ALCANTARA, E. M.; DALLAGNOL, J. C.; YOSHIZUMI, K. O.; TORRES, L. F. B.; BORSATO, K. S. Wound healing: comparative study in hypertensive rats untreated and treated with na angiotensin converting enzyme inhibitor. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 33, n. 2, p. 74-78, 2006.

BLAKYTNY, R.; JUDE, E. The molecular biology of chronic wounds and delayed healing in diabetes. **Diabetic Medicine: a Journal of the British**

Diabetic Association, 23, 594–608, 2006.

BORGES, E. L.; SAAR, S. R. C.; MAGALHÃES, M. B. B.; GOMES, F. S. L.; LIMA, V. L. A. N. **Feridas: como tratar**. 2. Ed. Coopmed, Belo Horizonte, 2010. 245 p.

BORGES, F. S. **Dermato-funcional: modalidades terapêuticas na disfunções estéticas**. 2 ed. São Paulo: Phorte, 2010. 672 p.

BOTTING, R. A.; RANA, H.; BERTRAM, K. M.; RHODES, J. W.; BAHARLOU, H.; NASR, N.; CUNNINGHAM, A. L.; HARMAN, A. N. Langerhans cells and sexual transmission of HIV and HSV. **Reviews in Medical Virology**, v. 27, v. 2, 2017.

BREM, H.; TOMIC-CANIC, M. Cellular and molecular basis of wound healing in diabetes. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 117, n. 5, p. 1219-1222, 2007.

BUCKERIDGE, M. S. Seed cell wall storage polysaccharides: models to understand cell wall biosynthesis and degradation. **Plant Physiology**, v. 154, p. 1017-1023, 2010.

BULA DA POMADA KOLLAGENASE® CRISTÁLIA - Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda. Disponível em: https://www.cristalia.com.br/arquivos_medicamentos/113/KOLLAGENASE.pdf Acesso em: 20 jul. 2019.

CARNEIRO-DA-CUNHA, M. G.; SOUZA, B. . S.; TEIXEIRA, J. A.; CERQUEIRA, M.; SOUZA, M. P.; VICENTE, A. Physical properties of edible coatings and films made with a polysaccharide from *Anacardium occidentale* L. **Journal of Food Engineering**, p. 379-385, 2009.

CIERPKA-KMIEC, K.; WRONSKA, A.; KMIEC, Z. In vitro generation of pancreatic β -cells for diabetes treatment. I. β -like celss derived from human pluripotent stem cells. **Folia Histochemica et Cytobiologica**, v. 57, n. 1, p. 1-14, 2019.

CLARK, J. J. Wound repair and factors influencing healing. **Critical Care Nursing Quarterly**, v. 25, n. 1, p. 1-12, 2002.

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**, 1594074, 2017.

CORIOLOANO, M. C.; DE MELO, C. M.; SILVA, F. D. E. O.; SCHIRATO, G. V.; PORTO, C. S.; DOS SANTOS, P. J.; CORREIA, M. T.; PORTO, A. L.; CARNEIRO-LEÃO, A. M.; COELHO, L. C. *Parkia pendula* seed lectin: potential use to treat cutaneous wounds in healthy and immunocompromised mice. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 172, n. 5, p. 2682-2693, 2014.

CORREIA, M. T. S.; COELHO, L. C. B. Purification of a glucose/manose specific lectin isoform 1, from seeds of *Cratylia mollis* Mart (Camaratu bean). **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 55, n. 3, p. 261-273, 1995.

CSOBONYEIOVA, M.; POLAK, S.; DANISOVIC, L. Generation of Pancreatic β -cells From iPSCs and their Potential for Type 1 Diabetes Mellitus Replacement Therapy and Modelling. **Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes: Official Journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association**, 2018.

CUNHA, C. R. A.; ANDRADE, C. G.; PEREIRA, M. I. A.; CABRAL FILHO, P. E.; CARVALHO, L. B. J. R.; COELHO, L. C. B. B.; SANTOS, B. S.; FONTES, A.; CORREIA, M. T. S. Quantum dot-Cramoll lectin as novel conjugates to glycobiology. **Journal of Photochemistry and Photobiology Biology**, n. 178, p. 85-91, 2018.

CUNHA, C. R.; DA SILVA, L. C. N.; ALMEIDA, F. J. F.; FERRAZ, M. S.; VAREJÃO, N.; CARTAXO, M. F. S.; MIRANDA, R. C. M.; AGUIAR JR., F. C. A.; SANTOS, N. P. S.; COELHO, L. C. B. B.; SANTOS-MAGALHÃES, N. S.; CORREIA, M. T. S. Encapsulation into stealth liposomes enhances the antitumor action of recombinant *Cratylia mollis* lectin expressed in *Escherichia coli*. **Frontiers in Microbiology**, 7:1355, 2016.

DARBY, I. A.; LAVERDET, B.; BONTÉ, F.; DESMOULIÈRE, A. Fibroblasts and myofibroblasts in wound healing. **Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology**, v. 7, p. 301–311, 2014.

DeFRONZO R. A.; FERRANNINI, E.; ZIMMET, P.; ALBERTI, G. **International Textbook of Diabetes Mellitus**, 2 Volume Set, 4 Ed. Wiley-Blackwell, 2015. 1228 p.

DEREKE, J.; NILSSON, J.; NILSSON, C.; STREVESEN, H.; LANDIN-OLSSON, M.; HILLMAN, M. Soluble CD163 and TWEAK in early pregnancy gestational diabetes and later glucose intolerance. **PloS One**, v. 14, n. 5, e0216728, 2019.

DICKINSON, L. E.; GERECHT, S. Engineered Biopolymeric Scaffolds for Chronic Wound Healing. **Frontiers in Physiology**, v. 7, p. 341, 2016.

ĐURAŠEVIĆ, S.; JASNIĆ, N.; PROKIĆ, M.; GRIGOROV, I.; MARTINOVIĆ, V.; ĐORĐEVIĆ, J.; PAVLOVIĆ, S. The protective role of virgin coconut oil on the alloxan- induced oxidative stress in the liver, kidneys and heart of diabetic rats. **Food & Function**, v. 10, n. 4, p. 2114-2124, 2019.

DVORAK, H. F. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: a critical cytokine in tumor angiogenesis and a potential target for diagnosis and therapy. **Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology**, v. 20, n. 21, p. 4368-4380, 2002.

EBAID, H.; AHMED, O. M.; MAHMOUD, A. M.; AHMED, R. R. Limiting

prolonged inflammation during proliferation and remodeling phases of wound healing in streptozotocin-induced diabetic rats supplemented with camel undenatured whey protein. **BMC Immunology**, 14: 31, 2013.

EHRENREICH, M.; RUSZCZAK, Z. Update on tissue-engineered biological dressings. **Tissue Engineering**, v. 12, n. 9, p. 2407-2424, 2006.

EMING, S. A.; KRIEG, T.; DAVIDSON, J. M. Inflammation in wound repair: molecular and cellular mechanisms. **The Journal of Investigative Dermatology**, v. 127, n. 3, p. 514-525, 2007.

FAAL, S.; ABEDI, P.; JAHANFAR, S.; NDEKE, J. M.; MOHAGHEGH, Z.; SHARIFIPOUR, F.; ZAHEDIAN, M. Sex hormone binding globulin for prediction of gestational diabetes mellitus in pre-conception and pregnancy: A systematic review. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 52, p. 39-52, 2019.

FARRAR, D. **Advanced Wound Repair Therapies**. In: Andrew, J. R. (Ed), Biomimetic biomaterials: Structure and applications, Woodhead Publishing, Cambridge. 2011. 672 p.

FAWCETT, A.; SHEMBEKAR, M.; CHURCH, J. S.; VASHISHT, R.; SPRINGALL, R. G.; NOTT, D. M. Smoking, hypertension, and colonic anastomotic healing; a combined clinical and histopathological study. **Gut**, v. 38, n. 5, p. 714-718, 1996.

FEDERIUK, I. F.; CASEY, H. M.; QUINN, M. J.; WOOD, M. D.; WARD, W. K. Induction of type-1 diabetes mellitus in laboratory rats by use of alloxan: route of administration, pitfalls, and insulin treatment. **Comparative Medicine**, v. 54, n. 3, p. 252-257, 2004.

FEJFAROVA, V.; JIRKOVSKÁ, A.; DUBSKÝ, M.; GAME, F.; VYDLÁKOVÁ, J.; SEKERKOVÁ, A.; FRANEKOVÁ, J.; KUČEROVÁ, M.; STŘÍŽ, I.; PETKOV, V.; BÉM, R.; WOSKOVÁ, V.; NĚMCOVÁ, A.; SKIBOVÁ, J. An alteration of lymphocytes subpopulations and immunoglobulins levels in patients with diabetic foot ulcers infected particularly by resistant pathogens. **Journal of Diabetes Research**, 2356870, 2016.

FERNANDES, M. P.; INADA, N. M.; CHIARATTI, M. R.; ARAÚJO, F. F.; MEIRELLES, F. V.; CORREIA, M. T.; COELHO, L. C.; ALVES, M. J.; GADELHA, F. R.; VERCESI, A. E. Mechanism of Trypanosoma cruzi death induced by Cratylia mollis seed lectin. **Journal of Bioenergetics and biomembranes**, v. 42, n. 1, p. 69-78, 2010.

FERRARA, A.; WEISS, N. S.; HEDDERSON, M. M.; QUESENBERRY, C. P. J. R.; SELBY, J. V.; ERGAS, I. J.; PENG, T.; ESCOBAR, G. J.; PETTITT, D. J.; SACKS, D. A. Pregnancy plasma glucose levels exceeding the American Diabetes Association thresholds, but below the National Diabetes Data Group thresholds for gestational diabetes mellitus, are related to the risk of neonatal macrosomia, hypoglycemia and hyperbilirubinaemia. **Diabetologia**, v. 50, n. 2,

p. 298-306, 2007.

FLORA FILHO, R.; ZILBERSTEIN, B. Óxido nítrico: o simples mensageiro percorrendo a complexidade. Metabolismo, síntese e funções. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 46, n. 3, p. 265-271, 2000.

GABBIANI, G.; HIRSCHL, B. J.; RYAN, G. B.; STATKOV, P. R.; MAJNO, G. Granulation tissue as a contractile organ. A study of structure and function. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 135, n. 4, p. 719-734, 1972.

GÁL, O.; VASILENKO, T.; KOSTELNÍKOVÁ, M.; JAKUBCO, J.; KOVÁČ, I.; SABOL, F.; ANDRÉ, S.; KALTNER, H.; GABIUS, H. J.; SMETANA, K. J. R. Open wound healing in vivo: monitoring binding and presence of adhesion/growth-regulatory galectins in rat skin during the course of complete re-epithelialization. **Acta Histochemica Cytochemica**, v. 44, n. 5, p. 191-199, 2011.

GIACCO F, BROWNLEE, M. Oxidative stress and diabetic complications. **Circulation Research**, v. 107, n. 9, p. 1058-1070, 2010.

HAYASHI, T. Xyloglucans in the primary cell wall. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.40, p. 139-168, 1989.

HEAGERTY, A. M.; AALKJAER, C.; BUND, S. J.; KORSGAARD, N.; MULVANY, M. J. Small artery structure in hypertension. Dual processes of remodeling and growth. **Hypertension**, v. 21, p. 391–397, 1993.

HE, J.; BAZAN, H. E. Neuroanatomy and neurochemistry of mouse cornea. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 57, p. 664-674, 2016.

HUETT, E.; BARTLEY, W.; MORRIS, D.; REASBECK, D.; MCKITRICK-BANDY, B.; YATES, C. Collagenase for wound debridement in the neonatal intensive care unit: a retrospective case series. **Pediatric Dermatology**, v. 34, n. 3, p. 277-281, 2017.

ILANGO, K.; CHITRA, V. Wound Healing and Anti-oxidant Activities of the Fruit Pulp of Limonia Acidissima Linn (Rutaceae) in Rats. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 9, n. 3, p. 223-230, 2010.

INTENGAN, H. D.; SCHIFFRIN, E. L. Vascular remodeling in hypertension: roles of apoptosis, inflammation, and fibrosis. **Hypertension**, v. 38, p. 581–587, 2001.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. IDF Diabetes Atlas, 8º ed. Bruxelas, Bélgica: International Diabetes Federation, 2017. Disponível em: <http://www.diabetesatlas.org/across-the-globe.html>
Acesso em 22 jul. 2019.

ISAAC, C.; LADEIRA, P. R. S.; RÊGO, F. M. P.; ALDUNATE, J. C. B.; FERREIRA, M. C. Physiological wound healing. **Revista de Medicina**, v. 89, p.

125-131, 2010.

JANDÚ, J. J.; COSTA, M. C.; SANTOS, J. R. A.; ANDRADE, F. M.; MAGALHÃES, T. F.; SILVA, M. V.; CASTRO, M. C. A. B.; COELHO, L. C. B. B.; GOMES, A. G.; PAIXÃO, T. A.; SANTOS, D. A.; CORREIA, M. T. S. Treatment with pCramoll alone and in combination with fluconazole provides therapeutic benefits in *C. gattii* infected mice. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, 7:211, 2017.

JAWORSKA, K.; HUC, T.; SAMBOROWSKA, E.; DOBROWOLSKI, L.; BIELINSKA, K.; GAWLAK, M.; UFNAL, M. Hypertension in rats is associated with an increased permeability of the colon to TMA, a gut bacteria metabolite. **PLoS One**. v. 12, n. 12, e0189310, 2017.

JOFFE, G. M.; ESTERLITZ, J. R.; LEVINE, R. J.; CLEMENS, J. D.; EWELL, M. G.; SIBAI, B. M.; CATALANO, P. M. The relationship between abnormal glucose tolerance and hypertensive disorders of pregnancy in healthy nulliparous women. Calcium for preeclampsia prevention (CPEP) study group. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 179, n. 4, p. 1032-1037, 1998.

JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J. **Histologia básica: texto e atlas**. 13 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. 554 p.

KARUKONDA, S. R. K.; FLYNN, T. C.; BOH, E. E.; MCBURNEY, E. I.; RUSSO, G. G.; MILLIKAN, L. E. The effects of drugs on wound healing. **International Journal of Dermatology**, v.39, p. 250-257, 2000.

KAWSER HOSSAIN, M.; ABDAL DAYEM, A.; HAN, J.; KUMAR SAHA, S.; YANG, G. M.; CHOI, H. Y.; CHO, S. G. Recent advances in disease modeling and drug Discovery for diabetes mellitus using induced pluripotent stem cells. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 2, p. 256, 2016.

KIM, J.; YUN, H.; CHO, Y. Analysis of ceramide metabolites in differentiating epidermal keratinocytes treated with calcium or vitamin C. **Nutrition Research and Practice**, v. 5, n. 5, p. 396-403, 2011.

KOLLURU, G. K.; BIR, S. C.; KEVIL, C. G. Endothelial dysfunction and diabetes: effects on angiogenesis, vascular remodeling, and wound healing. **International Journal of Vascular Medicine**, 918267, 2012.

KORSGARRD, N.; AALKJAER, C.; HEAGERTY, A. M.; IZZARD, A. S.; MULVANY, M. J. Histology, of subcutaneous small arteries from patients with essential hypertension. **Hypertension**, v. 22, n. 4, p. 523-526, 1993.

KUMAR, S.; SINGH, R.; VASUDEVA, N.; SHARMA, S. Acute and chronic animal models for the evaluation of anti-diabetic agents. **Cardiovascular Diabetology**, v. 11, n. 9, p. 1-13, 2012.

LEE, Y. T.; LANGENHEIM, J. H. Systematics of the genus *Hymenaea* L.

(Leguminosae, Caesalpinioideae, Detarieae). **University of California Publications in Botany**, v. 69, p. 1-109, 1975.

LIMA, A. L. R.; CAVALCANTI, C. C. B.; SILVA, M. C. C.; PAIVA, P. M. G.; COELHO, L. C. B. B.; BELTRÃO, E. I. C.; CORREIA, M. T. S. Histochemical evaluation of human prostatic tissues with *Cratylia mollis* seed lectin. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, p. 6, 2010.

LIMA, M. H. M.; ARAUJO, E. P. Diabetes mellitus e o processo de cicatrização cutânea. **Cogitare Enfermagem**, v. 18, n. 1, p. 170-172, 2013.

LUCYSZYN, N.; LUBAMBO, A. F.; ONO, L.; JÓ, T. A.; SOUZA, C. F.; SIERAKOWSKI, M. R. Chemical, physico-chemical and cytotoxicity characterisation of xyloglucan from *Guibourtia hymenifolia* (Moric.) J. Leonard seeds. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 1242-1250, 2011.

MAAHS, D. M.; WEST, N. A.; LAWRENCE, J. M.; MAYER-DAVIS, E. J. Epidemiology of Type 1 Diabetes. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**, v. 39, n. 3, p. 481-497, 2010.

MACIEL, E. V.; ARAÚJO-FILHO, V. S.; NAKAZAWA, M.; GOMES, Y. M.; COELHO, L. C.; CORREIA, M. T. Mitogenic activity of *Cratylia mollis* lectin on human lymphocytes. **Biologicals**, v. 32, p. 57-60, 2004.

MANDELBAUM, S. H.; DI SANTIS, E. P.; MANDELBAUM, M. H. S. Cicatrization: current concepts and auxiliary resources – Part I. **Anais Brasileiro de Dermatologia**, v. 78, n. 4, p. 393-410, 2003.

MASOOD, N.; AHMED, R.; TARIQ, M.; AHMED, Z.; MASOUD, M. S.; ALI, I.; ASGHAR, R.; ANDLEEB, A.; HASAN, A. Silver nanoparticle impregnated chitosan-PEG hydrogel enhances wound healing in diabetes induced rabbits. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 556, p. 23-36, 2019.

MELO, C. M.; DE CASTRO, M. C.; DE OLIVEIRA, A. P.; GOMES, F. O.; PEREIRA, V. R.; CORREIA, M. T.; COELHO, L. C.; PAIVA, P. M. Immunomodulatory response of Cramoll 1,4 lectin on experimental lymphocytes. **Phytotherapy Research**, v. 24, p. 1631-1636, 2010.

MELO, C. M.; DE LIMA, A. L.; BELTRÃO, E. I.; CAVALCANTI, C. C.; DE MELO-JÚNIOR, M. R.; MONTENEGRO, S. M.; COELHO, L. C.; CORREIA, M. T.; CARNEIRO-LEÃO, A. M. Potential effects of Cramoll 1,4 lectin on murine Schistosomiasis mansoni. **Acta Tropica**, v. 118, n. 2, p. 152-158, 2011a.

MELO, C. M.; PORTO, C. S.; MELO-JÚNIOR, M. R.; MENDES, C. M.; CAVALCANTI, C. C. B.; COELHO, L. C. B. B.; PORTO, A. L. F.; CARNEIRO-LEÃO, A. M. A.; CORREIA, M. T. S. Healing activity induced by Cramoll 1,4 lectin in healthy and immunocompromised mice. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 408, n. 1-2, p. 113-119, 2011b.

MENDIZÁBAL, Y.; LLORENS, S.; NAVA, E. Hypertension in metabolic

syndrome: vascular pathophysiology. **International Journal of Hypertension**, 230868, 2013.

MILLMAN, J. R.; XIE, C.; VAN DERVORT, A.; GÜRTLER, M.; PAGLIUCA, F. W.; MELTON, D. A. Generation of stem cell-derived β -cells from patients with type 1 diabetes. **Nature Communications**, 7:11463, 2016.

MKEDDER, I.; TRAVELET, C.; DURAND-TERRASSON, A.; HALILA, S.; DUBREUIL, F.; BORSALI, R. Preparation and enzymatic hydrolysis of nanoparticles made from single xyloglucan polysaccharide chain. **Carbohydrate Polymers**, v. 94, p. 934-939, 2013.

MONTEIRO, F. M. F.; SILVA, J. B. R.; CARVALHO, L.; CARNEIRO-LEÃO, A. M. A.; PORTO, A.; SILVA, G. M.; PORTO, C. S.; FILHO, J. L. L.; CARNEIRO-DA-CUNHA, M. G. Immobilization of trypsin on polysaccharide film from *Anacardium occidentale* L. and its application as cutaneous dressing. **Process Biochemistry**, v. 42, n. 5, p. 884-888, 2007.

MORTON, L. M.; PHILLIPS, T. J. Wound healing and treating wounds: Differential diagnosis and evaluation of chronic wounds. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 74, n. 4, p. 589-605, 2016.

NAGARAJAN, N.; JALAL, D. Resistant Hypertension: Diagnosis and Management. **Advances in Chronic Kidney Disease**, v. 26, n. 2, p. 99-109, 2019.

NANDI, S.; SPROUL, E. P.; NELLENBACH, K.; ERB, M.; GAFFNEY, L.; FREYTES, D. O.; BROWN, A. C. Platelet-like particles dynamically fibrin matrices and improve wound healing outcomes. **Biomaterials Science**, v. 7, n. 2, p. 669-682, 2019.

NCD Risk Factor Collaboration. Worldwide trends in blood pressure from 1975 to 2015: a pooled analysis of 1479 population-based measurement studies with 19.1 million participants. **Lancet**, v. 389, n. 10064, p. 37-55, 2017.
OGURTSOVA, K.; DA ROCHA FERNANDES, J. D.; HUANG, Y.; LINNENKAMP, U.; GUARIGUATA, L.; CHO, N. H.; CAVAN, D.; SHAW, J. E.; MAKAROFF, L. E. IDF Diabetes Atlas: Global estimates for the prevalence of diabetes for 2015 and 2040. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 128, p. 40-50, 2017.

ONENGUT-GUMUSCU, S.; CHEN, W. M.; BURREN, O.; COOPER, N. J.; QUINLAN, A. R.; MYCHALECKYJ, J. C.; FARBER, E.; BONNIE, J. K.; SZPAK, M.; SCHOFIELD, E.; ACHUTHAN, P.; GUO, H.; FORTUNE, M. D.; STEVENS, H.; WALKER, N. M.; WARD, L. D.; KUNDAJE, A.; KELLIS, M.; DALY, M. J.; BARRETT, J. C.; COOPER, J. D.; DELOUKAS, P.; TYPE 1 DIABETES GENETICS CONSORTIUM; TODD, J. A.; WALLACE, C.; CONCANNON, P.; RICH, S. S. Fine mapping of type 1 diabetes susceptibility loci and evidence for colocalization of causal variants with lymphoid gene enhancers. **Nature Genetics**, v. 47, n. 4, p. 381-386, 2015.

OKAMOTO, K.; AOKI, K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. **Japanese Circulation Journal**, v. 27, p. 282–293, 1963.

OLIVEIRA, I. V. P. M.; DIAS, R. V. C. Cicatrização de feridas: fases e fatores de influencia. **Acta Veterinária Brasilica**, v. 6, n. 4, p. 267-271, 2012.

OLIVEIRA FIGUEIRÔA, E.; ARANDA-SOUZA, M. Â.; VAREJÃO, N.; ROSSATO, F. A.; COSTA, R. A. P.; FIGUEIRA, T. R.; SILVA, L. C. N.; CASTILHO, R. F.; VERCESI, A. E.; SANTOS CORREIA, M. T. pCramoll and rCramoll lectins induce cell death in human prostate adenocarcinoma (PC-3) cells by impairment of mitochondrial homeostasis. **Toxicology In Vitro: an International Journal Published in Association With BIBRA**, v. 43, p. 40-46, 2017.

OLIVEIRA, W. F.; SILVA, G. M. M.; CABRAL FILHO, P. E.; FONTES, A.; OLIVEIRA, M. D. L.; ANDRADE, C. A. S.; SILVA, M. V.; COELHO, L. C. B. B.; MACHADO, G.; CORREIA, M. T. S. Titanium dioxide nanotubes functionalized with Cratylia mollis seed lectin, Cramoll, enhanced osteoblast-like cells adhesion and proliferation. **Materials Science and Engineering C: Materials for Biological Applications**, v. 90, p. 664-672, 2018.

ONENGUT-GUMUSCU, S.; CHEN, W. M.; BURREN, O.; COOPER, N. J.; QUINLAN, A. R.; MYCHALECKYJ, J. C.; FARBER, E.; BONNIE, J. K.; SZPAK, M.; SCHOFIELD, E.; ACHUTHAN, P.; GUO, H.; FORTUNE, M. D.; STEVENS, H.; WALKER, N. M.; WARD, L. D.; KUNDAJE, A.; KELLIS, M.; DALY, M. J.; BARRETT, J. C.; COOPER, J. D.; DELOUKAS, P.; TYPE 1 DIABETES GENETICS CONSORTIUM; TODD, J. A.; WALLACE, C.; CONCANNON, P.; RICH, S. S. Fine mapping of type 1 diabetes susceptibility loci and evidence for colocalization of causal variants with lymphoid gene enhancers. **Nature Genetics**, v. 47, n. 4, p. 381–386, 2015.

PAIVA, P. M. G.; NAPOLEÃO, T. H.; SÁ, R. A.; COELHO, L. C. B. B. Insecticide activity of lectins and secondary metabolites. In: Farzana Perveen. (Org.). **Insecticides - Advances in Integrated Pest Management**. Rijeka: InTech, p. 579-598, 2011.

PATRY, J. BLANCHETTE, V. Enzymatic debridement with collagenase in wounds and ulcers: a systematic review and metanalysis. **International Wound Journal**, v. 14, n. 6, p. 1055-1065, 2017.

PEREIRA, D. S. T.; LIMA-RIBEIRO, M. H. M.; SANTOS-OLIVEIRA, R.; CAVALCANTI, C. L. B.; PONTES-FILHO, N. T.; COELHO, L. C. B. B.; CARNEIRO-LEÃO, A. M. A.; CORREIA, M. T. S. Topical application effect of the isolectin hydrogel (Cramoll 1,4) on second-degree burns: experimental model. **Journal of Biomedicine & biotechnology**, 184538, 2012.

PEREIRA, D. S. T.; LIMA-RIBEIRO, M. H. M.; SANTOS-OLIVEIRA, R.; CAVALCANTI, C. L. B.; PONTES-FILHO, N. T.; ALVES, A. M. S.; CARNEIRO-LEÃO, A. M. A.; COELHO, L. C. B. B.; CORREIA, M. T. S. The use of lectin gel in the treatment of thermal burns in rats immunocompromised. **International**

Journal of Advanced Engineering Research and Science, v. 6, 2019.

PLOWS, J. F.; STANLEY, J. L.; BAKER, P. N.; REYNOLDS, C. M.; VICKERS, M. H. The pathophysiology of gestational diabetes mellitus. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 11, 2018.

POLHILL, R. M.; RAVEN, P. H.; STIRTON, C. H. Evolution and systematics of the Leguminosae. Pp. 1-26. In: R.M. Polhill & P.H. Raven (eds.). **Advances in Legume Systematics part I**. Kew, Royal Botanic Gardens, 1981.

RADENKOVIĆ, M.; STOJANOVIĆ, M.; PROSTRAN, M. Experimental diabetes induced by alloxan and streptozotocin: The current state of the art. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 78, p. 13-31, 2016.

RANADE, S. S.; WOO, S. H.; DUBIN, A. E.; MOSHOURAB, R. A.; WETZEL, C.; PETRUS, M.; MATHUR, J.; BÉGAY, V.; COSTE, B.; MAINQUIST, J.; WILSON, A. J.; FRANCISCO, A. G.; REDDY, K.; QIU, Z.; WOOD, J. N.; LEWIN, G. R.; PATAPOUTIAN, A. Piezo2 is the major transducer of mechanical forces for touch sensation in mice. **Nature**, v. 516, n. 7529, p. 121-125, 2014.

REESE, S.; BUDRAS, K. D.; MULLING, CHR.; BRAGULLA, H.; KONIG, H. E. **Tegumento comum. In: Anatomia dos animais domésticos**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2016. 824 p.

RIZZONI, D.; PORTERI, E.; GUEFI, D.; PICCOLI, A.; CASTELLANO, M.; PASINI, G.; MUIESAN, M. L.; MULVANY, M. J.; ROSEI, E. A. Cellular hypertrophy in subcutaneous small arteries of patients with renovascular Hypertension. **Hypertension**, v. 35, n. 4, p. 931- 935, 2000.

ROSS, M. H. **Histologia: texto e atlas**. 7 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016. 1000 p.

ROTHER, K. I. Diabetes treatment—bridging the divide. **The New England Journal of Medicine**, v. 356, n. 15, p. 1499, 2007.

SANTISTEBAN, M. M.; QI, Y.; ZUBCEVIC, J.; KIM, S.; YANG, T.; SHENOY, V.; COLE-JEFFREY, C. T.; LOBATON, G. O.; STEWART, D. C.; RUBIANO, A.; SIMMONS, C. S.; GARCIA-PEREIRA, F.; JOHNSON, R. D.; PEPINE, C. J.; RAIZADA, M. K. Hypertension-linked pathophysiological alterations in the gut. **Circulation Research**, v. 120, n. 2, p. 312-323, 2017.

SANTORO, M. M.; GAUDINO, G. Cellular and molecular facets of keratinocyte reepithelization during wound healing. **Experimental Cell Research**, v.304, n.1, p. 274-86, 2005.

SANTOS-OLIVEIRA, R.; LIMA-RIBEIRO, M. H. M.; CARNEIRO-LEÃO, A. M. A.; CRUZ, A. F.; SANTANA, M. F.; CAVALCANTI, C. L. B.; FILHO, N. T. P.; COELHO, L. C. B. B.; CORREIA, M. T. S. Evaluating the effective ness of gel formulation of irradiated seed lectin Cratylia mollis during bone repair in rats.

International Journal of Applied Basic Medical Research, v. 3, n. 2, p. 88-92, 2013.

SANTOS, V. N. S.; FERREIRA, L. M.; HORIBE, E. K.; DUARTE, I. S. Electric microcurrent in the restoration of the skin undergone a trichloroacetic acid peeling in rats. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 19, p. 466-469, 2004.

SANTOS SILVA, P. M.; OLIVEIRA, W. F.; ALBUQUERQUE, P. B. S.; CORREIA, M. T. S.; COELHO, L. C. B. B. Insights into anti-pathogenic activities of mannose lectins. **International Journal of Biological Macromolecules**, n. 140, p. 234-244, 2019.

SCHMIEDER, R. E. End organ damage in hypertension. **Deutsches Arzteblatt international**, v. 107, n. 49, p. 866-873, 2010.

SENNETT, R.; RENDL, M. Mesenchymal-epithelial interactions during hair follicle morphogenesis and cycling. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, v. 23, n. 8, p. 917-927, 2012.

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

SIBBALD, R. G.; GOODMAN, L.; WOO, K. Y.; KRASNER, D. L.; SMART, H.; TARIQ, G.; AYELLO, E. A.; BURRELL, R. E.; KEAST, D. H.; MAYER, D.; NORTON, L.; SALCIDO, R. S. Special considerations in wound bed preparation 2011: an update©. **Advances in Skin & Wound Care**, v. 24, n. 9, p. 415-136, 2011.

SILVA, L. C. N.; ALVES, N. M. P.; CASTRO, M. C. A. B.; PEREIRA, V. R. A.; PAZ, N. V. N.; COELHO, L. C. B. B.; FIGUEIREDO, R. C. B. Q.; CORREIA, M. T. S. Immunomodulatory effects of pCramoll and rCramoll on peritoneal exudate cells (PECs) infected and non-infected with *Staphylococcus aureus*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 72, p. 848-854, 2015.

SILVA, L. C.; ALVES, N. M. P.; CASTRO, M. C. A. B.; HIGINO, T. M. M.; CUNHA, C. R. A.; PEREIRA, V. R. A.; PAZ, N. V. N.; COELHO, L. C. B. B.; CORREIA, M. T. S.; FIGUEIREDO, R. C. B. Q. pCramoll and rCramoll as new preventive agents against the oxidative dysfunction induced by hydrogen peroxide. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 520872, 2015.

SINGER, A. J.; CLARK, R. A. Cutaneous wound healing. **The New England Journal of Medicine**, v. 321, n. 10, p. 738-746, 1999.

SOL, F. G. D.; CAVADA, B. S.; CALVETE, J. J. Crystal structures of *Bauhinia floribunda* seed lectin at acidic and basic pHs. Insights into the structural basis of the pH-dependent dimer-tetramer transition. **Journal of Structural Biology**, v. 158, p. 1-9, 2007.

STREIT, M.; VELASCO, P.; RICCARDI, L.; SPENCER, L.; BROWN, L. F.; JANES, L.; LANGE-ASSCHENFELDT, B.; YANO, K.; HAWIGHORST, T.;

IRUELA-ARISPE, L.; DETMAR, M. Thrombospondin-1 suppresses wound healing and granulation tissue formation in the skin of transgenic mice. **The EMBO Journal**, v. 19, n. 13, p. 3272-3282, 2000.

SUBRAMANIAN, M.; THOTAKURA, B.; CHANDRA SEKARAN, S. P.; JYOTHI, A. K.; SUNDARAMURTHI, I. Naringin Ameliorates Streptozotocin-Induced Diabetes through Forkhead Box M1-Mediated Beta Cell Proliferation. **Cells, Tissues, Organs**, v. 206, n. 4-5, p. 242-253, 2018.

SUN, J.; WANG, L.; WANG, B.; GUO, Z.; LIU, M.; JIANG, K.; LUO, Z. Purification and characterization of a natural lectin from the serum of the shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 23, n. 2, p. 292-299, 2007.

SUN, B. K.; SIPRASHVILI, Z.; KHAVARI, P. A. Advances in skin grafting and treatment of cutaneous wounds. **Science.**, v. 346, n. 6212, p. 941-5, 2014.

SUN, G. Pro-regenerative hydrogel restores scarless skin during cutaneous wound healing. **Advanced Healthcare Materials**, v. 6, n. 23, 2017.

SZKUDELSKI, T.; KANDULSKA, K.; OKULICZ, M. Alloxan in vivo does not only exert deleterious effects on pancreatic B cells. **Physiological research.**, v. 47, p. 343-346, 1998.

TALAGAS, M.; LEBONVALLET, N.; BERTHOD, F.; MISERY, L. Cutaneous nociception: role of keratinocytes. **Experimental Dermatology**, v. 28, n. 12, p. 1466-1469, 2019.

THEORET, C. Tissue engineering in wound repair: the three "R" s - - repair, replace, regenerate. **Veterinary Surgery**, v. 38, n. 8, p. 905-913, 2009.

WERNER, S.; GROSE, R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. **Physiological Reviews**, v. 83, n. 3, p. 835-870, 2003.
WIEGAND, C.; HIPLER, U. Polymer-based biomaterials as dressing for chronic stagnating wounds. **Macromolecular Symposia**, v. 294, n. 2, p. 1-13, 2010.

WITITSUWANNAKUL, R.; WITITSUWANNAKUL, D.; SAKULBORIRUG, C. A lectin from the bark of the rubber tree (*Hevea brasiliensis*). **Phytochemistry**, v. 47, n. 2, p. 183-187, 1998.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. (1). Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications : report of a WHO consultation. Part 1, Diagnosis and classification of diabetes mellitus. World Health Organization. 1999. Disponível em: <http://www.who.int/iris/handle/10665/66040>
Acesso em 22 jul. 2019.

YANG, T.; SANTISTEBAN, M. M.; RODRIGUEZ, V.; LI, E.; AHMARI, N.; CARVAJAL, J. M.; ZADEH, M.; GONG, M.; QI, Y.; ZUBCEVIC, J.; SAHAY, B.; PEPINE, C. J.; RAIZADA, M. K.; MOHAMADZADEH, M. Gut dysbiosis is

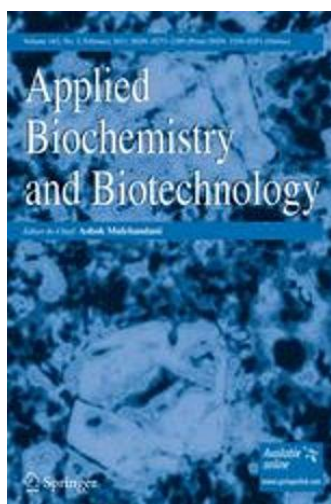
linked to hypertension. **Hypertension**. v. 65, n. 6, p. 1331-1340, 2015.

ZANCHI, A.; BRUNNER, H. B.; HAYOZ, D. Age-related changes of the mechanical properties of the carotid artery in spontaneously hypertensive rats. **Journal of Hypertension**, v. 15, p. 1415-1422, 1997.

4. RESULTADOS

ARTIGO I

Healing activity of Cramoll and xyloglucan membrane in cutaneous wounds of diabetic mice



O artigo será submetido na revista Applied Biochemistry and Biotechnology.

Fator de impacto: 2.14

Healing activity of Cramoll and xyloglucan membrane in cutaneous wounds of diabetic mice

Fernanda M. de Andrade¹; Fernanda P. A. Neves¹; Priscila B. S. de Albuquerque²; Adelmo C. Aragão-Neto³; Jannyson J. Jandú¹; Luana C. B. B. Coelho¹; Maria H. M. Lima-Ribeiro³; Álvaro A. C. Teixeira⁴; Maria G. Carneiro-da-Cunha^{1,3}; Valéria W. Teixeira⁴; Maria T. S. Correia^{1*}

¹ Departamento de Bioquímica da Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901 Recife, PE, Brasil.

² Departamento de Medicina da Universidade de Pernambuco, 5529-110 Garanhuns, PE, Brasil.

³ Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901 Recife, PE, Brasil.

⁴ Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 52171-900 Recife, PE, Brasil.

* Corresponding author. Tel.: +55 81 2126 8540. E-mail address: mtscorreia@gmail.com (Maria T. S. Correia).

Abstract

This study evaluated the healing potential of Cramoll, xyloglucan membrane extracted from *Hymenaea courbaril* (HcXM) and Cramoll immobilized in HcXM (Cramoll-HcXM), in cutaneous wounds of diabetic mice induced by alloxan. Sixty male Swiss albino mice were randomly divided into four experimental groups (15 animals): Control; Cramoll; HcXM; and Cramoll-HcXM. Wounds, on the animal's back after anesthesia and trichotomy, were treated daily, and clinical analysis was performed daily. Microbiological, wound retraction, histological and collagen I and III quantification analyses were performed on the 2, 7 and 12 days of treatment. During the 12 days of treatment no contamination were observed to all experimental wounds. Reepithelialization was accelerated in Cramoll, HcXM and Cramoll-HcXM groups and the wound retraction was statistically superior in Cramoll group. Cramoll and HcXM groups, after 12 days of treatment, presented epidermis and dermis with typical characteristics of healthy skin, with greater deposition of type 1 collagen. The treatment of cutaneous wounds in diabetic mice with Cramoll and HcXM accelerates the healing process when used individually, however, in Cramoll-HcXM persisted inflammatory infiltrate and fibrovascular tissue. According to the results, is the first report on the use of a lectin as a healer in induced diabetic

mice; Cramoll and HcXM are excellent compounds for repairing skin wounds in diabetics.

Keywords: Wound Healing. Diabetes. Lectin. *Cratylia mollis*. Carbohydrates. *Hymenaea courbaril*.

1. Introduction

The skin is the first physical barrier of defense of an organism. Once injured, a cascade of cellular and biochemical reactions is activated with the purpose of initiating the healing process and repairs cutaneous wounds [1]. This healing process can be divided into three phases that are interdependent and overlap: inflammation, proliferation and remodeling. In the first, hemostasis, leukocyte migration and the onset of the tissue repair cascade occur. The proliferative phase is characterized by presence of fibroblasts, angiogenesis and reepithelialization. In the remodeling phase occur the replacement of type III collagen deposited in the proliferative phase by type I collagen [2].

Among the pathologies that may affect the healing process one that can be highlighted is diabetes. The affected individuals are subjected to slow healing [1] or induced chronic lesions. Among the various physiological mechanisms that delay the healing in diabetics, there is decrease in the production of nitric oxide, an excessive production of reactive oxygen species, and a decrease in the cellular response and growing factors [3].

According to International Diabetes Federation [4], there are 425 million people with diabetes in the world and it is estimated that by the year 2045 the number of affected will be 629 million. This estimate signals an alert, since among complications that frequently affect these individuals are heart diseases, retinopathies, neuropathies and lower extremities wounds [5]. These usually become chronic and may take years to heal and present a high rate of recurrence [6], leading to the presence of necrosis and infections, being such factors responsible for limb amputation [7].

In this context, compounds of natural origin that have tissue-stimulating properties are studied, among them are the lectins, which are proteins of non-immunological origin that bind reversibly and specifically to carbohydrates [8] being indicate as potential healing agents [9]. *Cratylia mollis* is a forage plant of the Semi-Arid of Pernambuco State; one purified lectin (Cramoll) obtained by its

seeds have been applied in several biotechnological areas. Cramoll, that in other studies was also named as pCramoll or Cramoll 1,4, showed mitogenic activity in human lymphocytes [10], an immunomodulatory profile [11, 12, 13], being effective in the characterization of human carcinogenic tissues [14], besides antitumor action [15, 16] and healing [17, 18].

In addition, polysaccharides also have healing properties [19] being employed in formulations of gels, hydrogels and membranes, as a vehicle for drug delivery and topical dressing [20]. Among the studied polysaccharides, xyloglucans extracted from plant seeds can form matrices in immobilization of bioactive molecules [21]. *Hymenaea courbaril* is popularly known as jatobá, and is widely distributed from southern Mexico to central-western Brazil, also occurring in the Amazon rainforest, cerrado and Caatinga in northeastern Brazil [22]. Arruda et al. [23] stated that the Xyloglucana (HcX) extracted from this plant is a promising polysaccharide in the food and pharmaceutical areas.

In view of the above, acceleration of healing activity in topical wounds, especially with regard to evaluation of healing process in slow repair models, such as diabetic lesions, may be stimulated based on the healing potential of Cramoll and on the inherent characteristics of HcX. This study aimed to evaluate the healing potential of Cramoll, membranes of HcX (HcXM) and Cramoll immobilized in HcXM (Cramoll-HcXM) in model of diabetic mice induced by alloxan.

2. Material and Methods

2.1 Obtaining Cramoll

Cramoll was obtained from the protocol established by Correia and Coelho [24], in which after being dried, the seeds of *C. mollis* were crushed to flour, which was then dissolved in 0.15 M NaCl at 10 % (w / v), under magnetic stirring (500 rpm) for 18 h at 4 °C. This extract was fractionated by saturation with ammonium sulphate (0-40% and 40-60%), producing four fractions (F): F0-40 and F40-60 (precipitated fractions), SF0-40 and SF40-60 (supernatant fractions). The precipitated F40-60 was dialyzed and lectins were purified by Sephadex G-75 column affinity chromatography.

2.2 Obtaining Xyloglucan from seeds of *Hymenaea courbaril* (HcX)

Xyloglucan was obtained according to protocol established by Arruda et al. [23]. The seeds of *H. courbaril* were washed and boiled in distilled water at 100 °C for 30 min for enzymatic inactivation and softening of the peel. The seeds were then peeled and dried until constant weight was reached. When dried, the seeds were triturated with 0.1 M NaCl (15% w / v) at 25 °C until a crude extract was obtained. Residues from the crude extract were removed by centrifugation for 20 min at 1500 rpm. The supernatant was filtered, first in a vial tissue and in a screen cloth (90-wire type), then precipitated with 46% ethanol (1:3 v/v) for 16 h. The precipitate was filtered on screen cloth (110-wire type), washed with 100% ethanol (1:3 w/v) for 30 min, and acetone PA twice consecutively (1:3 w/v) also for 30 min for removal of possible protein contaminants. Between each wash the precipitate was filtered on screen cloth (110-wire type). After the last filtration, the precipitate was dried at 60 °C until constant weight was obtained, pulverized and packed in amber glass vials.

2.3 Preparations of Xyloglycan membranes containing or not Cramoll

The filmogenic solution of Xyloglucan containing or not Cramoll was obtained following the protocol of Albuquerque et al. [25] with some modifications. For this, dissolution of 0.5% (w / v) of Xyloglucan in distilled water was carried out. This solution remained under magnetic stirring (200 rpm) for 16 h at 25 °C. Then 0.3% (v / v) glycerol plasticiser was added to the film-forming solution, and the solution was maintained under magnetic stirring (200 rpm) for two hours at 25 °C. The pH of the solution was adjusted to 5.8 with 1.0 M NaOH solution. Next, 5 mL of the film-forming solution were placed in wells (3 cm) of acrylic plates and dried at 37 °C for 24 h. For preparation of Xyloglucan membranes containing Cramoll, 0.5 mg.mL⁻¹ of Cramoll was incorporated into the filmogenic solution. The incorporation of Cramoll into the film-forming solution was performed at 25 °C for 30 min under magnetic stirring (200 rpm). The membranes were used with a maximum interval of 48 h.

2.4 Experimental model

Sixty male *Swiss albino* mice, at 2 months old, weighing between 28 and 32 g, were used from the Keizo Asami Immunopathology Laboratory (LIKA) of the Federal University of Pernambuco, and were maintained under temperature

(22 ± 2 °C) and controlled luminosity (12 h light and 12 h dark), with water and food *ad libitum*. The experiments were carried out obeying the rules of the Brazilian College of Animal Experimentation (COBEA) and the National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals. The study was approved by the Ethics Committee on the Use of Animals of the Center of Biological Sciences of the Federal University of Pernambuco, Brazil, under protocol n°. 23076.018754/2013-61.

The animals were randomly divided into 4 experimental groups, each containing 15 animals: **Control Group** - diabetic animals treated daily with 100 µL of saline solution (0.9% w/v); **Cramoll Group** - diabetic animals treated daily with 100 µL of Cramoll (0.5 mg/mL); **HcXM Group** - diabetic animals treated with the Xyloglucan membrane (0.5% w/v) and **Cramoll-HcXM Group** - diabetic animals treated with the Xyloglucan membrane (0.5% w/v) with Cramoll (2,5 µg). Each group was subdivided into three subgroups: **Day 2** (two days of treatment), **Day 7** (seven days of treatment) and **Day 12** (twelve days of treatment), each containing 5 animals. The subgroups correspond to stages of healing and to times when biopsies of the wounds were carried out.

2.5 Induction of Diabetes

Diabetes was induced by a single intraperitoneal injection of aloxane monohydrate (Sigma-AldrichInc, St Louis, MO, USA) at the dose of 150 mg/kg, diluted in saline solution (0.9% w/v) at moment of induction [26]. For this, the animals were fasted solid for 12 h. Glucose levels were measured 7 days after induction with the Labtest glucose kit through blood collection from orbital plexus. Animals that had glycemia greater than 200 mg/dL were considered diabetic.

2.6 Induction of injuries

For wound induction, animals were anesthetized intramuscularly with 2% xylazine hydrochloride (10 mg/kg) and 10% ketamine hydrochloride (115 mg/kg). After anesthetic procedure, each animal was submitted to tricotomy and antisepsis with 1% w/v iodopovidone in dorsal region. Excisional biopsy was performed with aid of a biopsy punch (8 mm diameter) and divulsion with iris

scissors. They were kept in individual cages and treated according to the corresponding group.

2.7 Microbiological evaluation

The microbiological evaluation was performed with swab in wound area at the time of surgery and in the days 2, 7 and 12. The collected material in the swabs was sown in MHA and Sabouhaud media to evaluate the presence of bacteria and fungi in the wounds.

2.8 Clinical evaluation of experimental wounds

The clinical characteristics of the experimental wounds were observed daily, considering the following aspects: edema, hyperemia, exudate, primary and secondary crust, and detachment [20].

2.9 Evaluation of wound retraction

The evaluation of wound retraction was performed following the methodology of Xu et al. [27]. The images were recorded at a constant distance on the day of wound induction (day 0), and on days 2, 7 and 12. From these images the injury area was measured using ImageJ (National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA). The calculus of contraction degree was expressed as a percentage using the equation: % of lesion contraction = $[P_0 - P_t / P_0] \times 100\%$, where P_0 represents the initial area of the lesion and P_t represents the lesion area on biopsy days (days 2, 7 and 12).

2.10 Wound biopsy

For collection of samples, the animals were previously anesthetized intramuscularly with 2% xylazine hydrochloride (10 mg / kg) and 10% ketamine hydrochloride (115 mg / kg). Skin biopsies were performed by removing the skin fragment within wound area, covering one centimeter beyond each margin. Immediately, after removal of the skin, the samples were laid on filter paper and fixed in 10% v/v formalin, which after 48 h was replaced with a 70% v/v ethanol solution. After biopsy, animals were sacrificed with a lethal dose of thiopental sodium (200 mg/kg).

2.11 Histological processing

The skin samples were cleaved, dehydrated in increasing concentrations of ethanol, diaphanized in xylol and embedded in paraffin. The blocks were cut in microtome at a thickness of 5 μm , and the slides were stained with hematoxylin and eosin (HE) for histological evaluation under light microscopy, and with picrosirius histochemistry for collagen fibers quantification (type I and III) under a polarized light microscope.

2.12 Collagen quantification

For the quantification of collagen, the picrosirius stained slides were analyzed by the Axio Imager M2m microscope through the polarized light illumination technique. Through this method, it was possible to differentiate collagen type I (orange-yellow to orange and red birefringence) and type III collagen (green or yellow-green birefringence) [28]. From each slide, the lesion was photomicrographed with Axio Cam HRC using the Zen BLUE edition capture software 2.3. Quantification was performed from image analysis in Image Pro Plus software 6.0.

2.13 Statistical analysis

For the statistical analysis, we used the ANOVA variance analysis method and the Bonferroni multiple comparison test, using GraphPad Prism 5.0 software. All the results were expressed in arithmetic mean values of the groups $\pm$ standard deviation and were analyzed considering the value of $p < 0.05$ as statistically significant.

3. Results

3.1 There was no contamination in the wounds during the 12 days of treatment

The microbiological evaluation showed that the experimental groups wounds were not contaminated during the 12 days of treatment.

3.2 Clinical evaluation showed that reepithelialization was accelerated in Cramoll, HcXM and Cramoll-HcXM groups

The presence of edema and hyperemia was observed in all experimental groups, but were more pronounced in Control and Cramoll groups. The formation of primary and secondary crusts was also observed in all experimental groups, however it was earlier in the groups treated with Cramoll, HcXM and Cramoll-HcXM, consequently detachment occurred faster in these. The clinical evaluation of the wounds was performed daily and recorded in days 0, 2, 7 and 12 (Fig. 1).

3.3 After 12 days of treatment the Cramoll group presented a retraction rate superior to Control and Cramoll-HcXM groups

The wound area gradually decreased in all experimental groups (Fig. 2). At day 2, Control (42.55 ± 8.43), HcXM (50.38 ± 2.46) and Cramoll-HcXM (44.22 ± 5.02) groups had a significant retraction rate regarding to Cramoll group (27.16 ± 3.67). At day 7 it was observed that the retraction for the Cramoll group (76.42 ± 7.29) was significantly higher in comparison to Control (61.76 ± 0.80) and HcXM (56.41 ± 2.27) groups, and for the Cramoll-HcXM group (71.56 ± 3.65) was significantly higher regarding to HcXM. At day 12, the response for Cramoll (95.58 ± 2.11) was significant regarding to Control (80.48 ± 4.29) and Cramoll-HcXM group (79.94 ± 6.83). The retraction of group HcXM (90.03 ± 1.00) was not statistically significant in relation to the other groups.

3.4 According to histological evaluation, Cramoll and HcXM groups, at 12 days of treatment, presented epidermis and dermis with typical characteristics of healthy skin

The histological analysis at day 2 revealed that all injuries had the same characteristics, a vascular granulation tissue, but in the Cramoll group the tissue was vascular and loose. During this time the leukocyte infiltrate was acute in all animals of the experimental groups, although it was intense in HcXM group and with moderate intensity in Cramoll-HcXM group (Figure 3). After 7 days of treatment, all the experimental groups presented fibrovascular granulation tissue, characteristic of the proliferative phase of healing, the inflammatory infiltrate was acute in Control group and discrete in the groups treated with Cramoll, HcXM and Cramoll-HcXM. All groups showed re-epithelialization, which was more prevalent in the groups Cramoll, HcXM and Cramoll-HcXM

(Figure 4). After 12 days of treatment the Control, Cramoll and HcXM groups presented fibrous tissue, but in Control was still at the beginning of its formation, while in the Cramoll and HcXM groups the fibrous tissue was mature, exhibiting a loose connective tissue in papillary layer and dense connective tissue in the reticular layer of the dermis. However, the groups Control and Cramoll-HcXM still had leukocyte infiltration, and in the Cramoll-HcXM group there was persistence of a fibrovascular tissue. In all groups the complete reepithelialization occurred, exhibiting in the epidermis a keratinized pavement layered epithelium (Figure 5).

3.5 Greater deposition of type I collagen in the Cramoll and HcXM groups after 12 days of treatment

After 12 days of treatment a significant increase of type I collagen was observed in the Cramoll (95.42 ± 5.48) in relation to Control (78.64 ± 4.28) and Cramoll-HcXM group (71.72 ± 5.32). HcXM (89.71 ± 5.33) showed a significant type I collagen deposition in relation to the Cramoll-HcXM group. However, it was observed that Control (21.34 ± 4.28) presented a significant deposition of type III collagen in relation to Cramoll group (4.57 ± 5.48), and that Cramoll-HcXM (28.27 ± 5.32) showed a higher type III collagen deposition significantly regarding to the Cramoll and HcXM groups (10.31 ± 5.33) (Figure 6).

4. Discussion

The healing activity of lectins in wounds of healthy and immunocompromised animals has been studied and, among these lectins, Cramoll has stood out as an effective lectin in the repair of cutaneous wounds [17, 18, 29]. In the present study, Cramoll stimulated healing in wounds of induced diabetic mice, unprecedented results for the study of healing activity using lectins, emphasizing that no healing work using lectins was found in induced diabetic animal models.

The presence of edema and hyperemia are the main characteristics of inflammation, they are necessary for the prevention of infections, stimulation of cell proliferation, revascularization and remodeling of the extracellular matrix and, consequently, wound healing [30, 31]. However, in diabetic animals, these characteristics appear exacerbated, as hyperglycemia increases the production

of pro-inflammatory cytokines and reactive oxygen species (ROS), which in turn decreases the production of nitric oxide (NO), resulting in an exacerbated and prolonged inflammatory phase, hindering the healing process [32; 33]. Since Cramoll has immunomodulatory activity [11, 12], and shows a pro-inflammatory profile, accelerating the inflammatory phase from the recruitment of cells to the wound bed, justifying the lower retraction of the wounds treated with Cramoll, on the 2nd day of treatment, due to the accentuated increase in edema, hyperemia and acute inflammatory infiltrate. Consequently, inducing a rapid evolution of the healing process to the proliferative and remodeling phase. It should be noted that Cramoll's action as a cytoprotective, maintaining cellular functions and morphologies even in situations of oxidative stress has already been proved [11, 34].

The proliferative activity of Cramoll (10; 35) suggests the proliferation of keratinocytes and fibroblasts, accelerating the formation of the epidermis (reepithelization and keratinization) and remodeling of the extracellular matrix in the dermis (deposition of collagen, elastin, glycoproteins and proteoglycans), respectively, due to the results observed for the retraction and histological analysis from day 7 of treatment.

The use of biological membranes, with or without immobilized biomolecules, has been shown as a potential curative for the healing of cutaneous wounds, since it does not require daily application and protects the wound area from possible contamination, forming a continuity matrix with the tissue, the membranes are expected to accelerate the healing process [25, 36]. In addition, polysaccharide membranes, in general, have antimicrobial activity, as well as pro-inflammatory effects. Rosário et al. [37] claim that xyloglucans extracted from *Copaifera langsdorffii*, *Hymenaea courbaril*, and *Mucuna sloanei* seeds have immunomodulatory activity, as they promote an increase in the recruitment of mice peritoneal macrophages; Activated macrophages produce pro-inflammatory cytokines, which act to amplify the inflammatory process [38]. In the present study, an intense inflammatory infiltrate was observed in animals treated with HcXM on day 2, but retraction on day 7 was slower, among all groups studied. Possibly justified by the delayed pro-inflammatory action, which probably hindered cell proliferation, when compared to the Cramoll-HcXM group, demonstrating that the presence of Cramoll stimulated cell proliferation.

After 12 days of treatment, the HcXM group was efficient in the healing process, showing fibrous tissue, characteristic of the remodeling phase. It is suggested that Xyloglucans act in the regeneration of the skin not only by recruiting macrophages but also by stimulating cell proliferation; results corroborated by the study of Xyloglucans extracted from tamarind gum (TSw and TSc), which promoted proliferation of human keratinocytes and fibroblasts *in vitro* [39].

Unlike Cramoll and HcXM, the Cramoll-HcXM group, at 12 days of treatment, presented characteristics similar to the Control, related to the retraction and the presence of leukocyte infiltrate. The cloistering of Cramoll in HcXM did not favor the effect of both biomolecules (Cramoll and HcXM) on the remodeling of scar tissue. The lectin carbohydrate recognition domains (CRD) play a crucial role in the biological activities of lectins [40]. Over the 12 days, there may have been a greater interaction between Cramoll and HcXM bonds justifying the decrease in biomolecules in the final healing phase. The results showed that Cramoll-HcXM was efficient in the healing process on days 2 and 7 (inflammation and proliferation).

In this study, differential quantification of types I and III collagen was performed, a methodology not yet used in the assessment of remodeling in healing studies involving lectins. In the remodeling phase, most of the type III collagen deposited in the proliferative phase is replaced by type I collagen, which is thicker and more resistant [41]. The results of the present study showed that possibly, Cramoll and HcXM act to accelerate tissue remodeling since, both biomolecules, promoted a greater deposition of type I collagen.

5. Conclusion

Treatment using Cramoll and Xyloglucan membrane in skin lesions of diabetic mice induced by alloxan was effective when used individually and not associated, since the association of these compounds causes a decrease in the activity of both. The results also showed that Cramoll demonstrated a stimulatory action in the production of type I collagen, which confirms even more its stimulatory effect of the cicatricial process. The results amplify the biotechnology and pharmaceutical potential of Cramoll and Xyloglucan.

6. Acknowledgments

The authors are grateful to the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) for financial support, and to the laboratory of Immunopathology Keizo Asami (LIKA). Maria T. S. Correia, Valéria W. Teixeira, Luana C. B. B. Coelho and Maria G. Carneiro-da-Cunha expressed their gratitude to CNPq for research grants.

7. References

1. Lima, M. H. M., & Araujo, E. P. (2013). Diabetes mellitus e o processo de cicatrização cutânea. *Cogitare Enfermagem*, 18 (1), 170-172.
2. Isaac, C., Ladeira, P. R. S., Rêgo, F. M. P., Aldunate, J. C. B., & Ferreira, M. C. (2010). Physiological wound healing. *Revista de Medicina*, v. 89, p. 125-131.
3. Kolluru, G. K., Bir, S. C., & Kevil, C. G. (2012). Endothelial dysfunction and diabetes: effects on angiogenesis, vascular remodeling, and wound healing. *International Journal of Vascular Medicine*, 918267.
4. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas, 8^o ed. Bruxelas, Bélgica: International Diabetes Federation, 2017. <http://www.diabetesatlas.org/across-the-globe.html>
5. Singh, N., Armstrong, D. G., & Lisy, B. A. (2005). Preventing foot ulcers in patients with diabetes. *JAMA*, 293 (2), 217-228.
6. Rodgers, K., Verco, S., Bolton, L., & Dizerega, G. (2011). Accelerated healing of diabetic wounds by NorLeu(3)-angiotensin(1-7). *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 20, 1575-1581.
7. Beyaz, S., Güler, Ü. Ö., & Bağır, G. S. (2017). Factors affecting lifespan following below-knee amputation in diabetic patients. *Acta Orthopaedica et Traumatologica Turcica*, 51 (5), 393-397.
8. Sun, J., Wang, L., Wang, B., Guo, Z., Liu, M., Jiang, K., & Luo, Z. (2007). Purification and characterization of a natural lectin from the serum of the shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology*, 23 (2), 292-299.
9. Coriolano, M. C., Melo, C. M., Silva, F. D. E. O., Schirato, G. V., Porto, C. S.; Santos, P. J., Correia, M. T., Porto, A. L., Carneiro-Leão, A. M., & Coelho, L. C. (2014). *Parkia pendula* seed lectin: potential use to treat cutaneous wounds in healthy and immunocompromised mice. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 172 (5), 2682-2693.

10. Maciel, E. V. M., Araújo-Filho, V. S., Nakazawa, M., Gomes, Y. M., Coelho, L. C. B. B., & Correia, M. T. S. (2004). Mitogenic activity of *Cratylia mollis* lectin on human lymphocytes. *Biologicals: Journal of the International Association of Biological Standardization*, 32 (1), 57-60.
11. Melo, C. M. L., Castro, M. C. A. B., Oliveira, A. P., Gomes, F. O. S., Pereira, V. R. A., Correia, M. T. S., Coelho, L. C. B. B., & Paiva, P. M. G. (2010). Immunomodulatory response of Cramoll 1,4 lectin on experimental lymphocytes. *Phytotherapy Research*, 24 (11), 1631-1636.
12. Silva, L. C. N., Alves, N. M. P., Castro, M. C. A. B., Pereira, V. R. A., Paz, N. V. N., Coelho, L. C. B. B., Figueiredo, R. C. B. Q., & Correia, M. T. S. (2015). Immunomodulatory effects of pCramoll and rCramoll on peritoneal exudate cells (PECs) infected and non-infected with *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 72, 848-854.
13. Jandú, J. J., Costa, M. C. , Santos, J. R. A., Andrade, F. M., Magalhães, T. F., Silva, M. V., Castro, M. C. A. B., Coelho, L. C. B. B., Gomes, A. G., Paixão, T. A., Santos, D. A., & Correia, M. T. S. (2017). Treatment with pCramoll alone and in combination with fluconazole provides therapeutic benefits in *C. gattii* infected mice. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 7, 211.
14. Lima, A. L. R., Cavalcanti, C. C. B., Silva, M. C. C., Paiva, P. M. G., Coelho, L. C. B. B., Beltrão, E. I. C., & Correia, M. T. S. (2010). Histochemical evaluation of human prostatic tissues with *Cratylia mollis* seed lectin. *Journal of Biomedicine & Biotechnology*, 179817.
15. Cunha, C. R., Silva, L. C. N., Almeida, F. J. F., Ferraz, M. S., Varejão, N., Cartaxo, M. F. S., Miranda, R. C. M., Aguiar JR., F. C. A., Santos, N. P. S., Coelho, L. C. B. B., Santos-Magalhães, N. S., & Correia, M. T. S. (2016). Encapsulation into stealth liposomes enhances the antitumor action of recombinant *Cratylia mollis* lectin expressed in *Escherichia coli*. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1355
16. Figueirôa, E. O., Aranda-Souza, M. Â., Varejão N., Rossato, F. A., Costa, R. A. P., Figueira, T. R., Silva, L. C. N., Castilho, T. F., Vercesi, A. E., & Correia, M. T. S. (2017). pCramoll and rCramoll lectins induce cell death in human prostate adenocarcinoma (PC-3) cells by impairment of mitochondrial homeostasis. *Toxicology in Vitro: an international Journal Published in association with BIBRA*, 43, 40-46.
17. Melo, C. M. L., Porto, C. S., Melo-Júnior, M. R., Mendes, C. M., Cavalcanti, C. C. B., Coelho, L. C. B. B., Porto, A. L. F., Carneiro-Leão, A. M. A., & Correia, M. T. S. (2011). Healing activity induced by Cramoll 1,4 lectin in healthy and immunocompromised mice. *International Journal of Pharmaceutics*, 408 (1-2) 113-119.
18. Pereira, D. S. T., Lima-Ribeiro, M. H. M., Santos-Oliveira, R., Cavalcanti, C. L. B., Pontes-Filho, N. T., Coelho, L. C. B. B., Carneiro-Leão, A. M. A., &

Correia, M. T. S. (2012). Topical application effect of the isolectin hydrogel (Cramoll 1,4) on second-degree burns: experimental model. *Journal of Biomedicine & Biotechnology*, 184538.

19. Sun, G. (2017). Pro-Regenerative Hydrogel Restores Scarless Skin During Cutaneous Wound Healing. *Advanced Healthcare Materials*, 6 (23).

20. Monteiro, F. M. F., Silva, G. M. M., Silva, J. B. R., Carvalho Jr., L. B., Lima Filho, J. L., Carneiro-Leão, A. M. A., Carneiro-da-Cunha, M. G., & Porto, A. L. F. (2007). Immobilization of trypsin on polysaccharide film from *Anacardium occidentale* L. and its application as cutaneous dressing. *Process Biochemistry*, 42, 884-888.

21. Lucyszyn, N., Lubambo, A. F., Ono, L., Jó, T. A., Souza, C. F., & Sierakowski, M. R. (2011). Chemical, physico-chemical and cytotoxicity characterisation of xyloglucan from *Guibourtia hymenifolia* (Moric) J. Leonard seeds. *Food Hydrocolloids*, 25, 1242-1250.

22. LEE, Y. T., & LANGENHEIM, J. H. (1975). Systematics of the genus *Hymenaea* L. (Leguminosae, Caesalpinioideae, Detarieae). *University of California Publications in Botany*, 69, 1-109.

23. Arruda, I. R. S., Albuquerque, P. B. S., Santos, G. R., Silva, A. G., Mourão, P. A. S., Correia, M. T. S., Vivente, A. A., & Carneiro-da-cunha. (2015). Structure and rheological properties of a xyloglucan extracted from *Hymenaea coubaril* var. coubaril seeds. *International Journal of Biological Macromolecules*, 73, 31-38.

24. Correia, M. T. S., & Coelho, L. C. B. (1995). Purification of a glucose/manose specific lectin isoform 1, from seeds of *Cratylia mollis* Mart (Camaratu bean). *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 55, 261-273.

25. Albuquerque, P. B. S., Soares, P. A. G., Aragão-Neto, A. C., Albuquerque, G. S., Silva, L. C. N., Lima-Ribeiro, M. H. M., Silva Neto, J. C., Coelho, L. C. B. B., Correia, M. T. S., Teixeira, J. A. C., & Carneiro-da-Cunha, M. G. (2017). Healing activity evaluation of the galactomannan film obtained from *Cassia grandis* seeds with immobilized *Cratylia mollis* seed lectin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 102, 749-757.

26. Ajiboye, B. O., Ojo, A. O., Akuboh, O. S., Abiola, O. M., Idowu, O., & Amuzat, A. O. (2018). Anti-hyperglycemic and anti-inflammatory activities of polyphenolic-rich extract of *Syzygium cumini* linn leaves in alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Evidence-Based Integrative Medicine*, 23, 2515690X18770630.

27. Xu, N., Wang, L., Guan, J., Tang, C., He, N., Zhang, W., & Fu, S. (2018). Wound healing effects of a *Curcuma zedoaria* polysaccharide with platelet-rich plasma exosomes assembled on chitosan/silk hydrogel sponge in a diabetic rat model. *International Journal of Biological Macromolecules*, 117, 102-107.

28. Coleman, R. (2011). Picrosirius red staining revisited. *Acta Histochemica*, 113, 231-233.
29. Pereira, D. S. T.; Lima-Ribeiro, M. H. M.; Santos-Oliveira, R.; Cavalcanti, C. L. B.; Pontes-Filho, N. T.; Alves, A. M. S.; Carneiro-Leão, A. M. A.; Coelho, L. C. B. B.; & Correia, M. T. S. (2019). The use of lectin gel in the treatment of thermal burns in rats immunocompromised. *International Journal of Advanced Engineering Research and Science*, v. 6.
30. Bielefeld, K. A., Amini-Nik, S., Alman, B. A. (2013). Cutaneous wound healing: recruiting developmental pathways for regeneration. *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS*, 70, 2059-2081.
31. Chen, L., Schrementi, M. E., Ranzer, M. J., Wilgus, T., & DiPietro, L. A. (2014). Blockade of mast cell activation reduces cutaneous scar formation. *PloS one*, 9(1), e85226.
32. Bir, S. C., Xiong, Y., Kevil, C. G., & Luo, J. (2012). Emerging role of PKA/eNOS pathway in therapeutic angiogenesis for ischaemic tissue diseases. *Cardiovascular Research*, 95, 7-18.
33. Tam, J. C. W., Ko, C. H., Lau, K. M., To, M. H., Kwok, H. F., Chan, Y. W., Siu, W. S., Etienne-Selloum, N., Lau, C. P., Chan, W. Y., Leung, P. C., Fung, K. P., Schini-Kerth, V. B., & Lau, C. B. S. (2014). A chinese 2-herb formula (NF3) promotes hindlimb ischemia-induced neovascularization and wound healing of diabetic rats. *Journal of Diabetes and its Complications*, 28, 436-447.
34. Silva, L. C. N., Alves, N. M. P., Castro, M. C. A. B., Higino, T. M. M., Cunha, C. R. A., Pereira, V. R. A., Paz, N. V. N., Coelho, L. C. B. B., Correia, M. T. S., & Figueiredo, R. C. B. Q. (2015). pCramoll and rCramoll as new preventive agentes against the oxidative dysfunction induced by hydrogen peroxide. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 520872.
35. Oliveira, W. F., Silva, G. M. M., Cabral Filho, P. E., Fontes, A., Oliveira, M. D. L., Andrade, C. A. S., Silva, M. V., Coelho, L. C. B. B., Machado, G., & Correia, M. T. S. (2018). Titanium dioxide nanotubes functionalized with cratylia mollis seed lectin, Cramoll, enhanced osteoblast-like cells adhesion and proliferation. *Materials Science & Engineering. C, Materials for Biological Applications*, 90, 664-672.
36. Souza, F. D., Vasconcelos, P. D., Silva, A. F. B., Mota, E. F., Tomé, A. R., Mendes, F. R. S., Gomes, A. M. M., Abraham, D. J., Shiwen, X., Owen, J. S., Lourenzoni, M. R., Campos, A. R., Moreira, R. A., & Monteiro-Moreira, A. C. O. (2019). Hydrogel and membrane scaffold formulations of Frutalin (breadfruit lectin) within a polysaccharide galactomannan matrix have potential for wound healing. *International Journal of Biological Macromolecules*, 121, 429-442.
37. Rosário, M. M., Noletto, G. R., Bento, J. F., Reicher, F., Oliveira, M. B. M., & Petkowicz, C. L. O. (2008). Effect of storage xyloglucans on peritoneal macrophages. *Phytochemistry*, 69 (2), 464-472.

38. Mantovani, A., Biswas, S. K., Galdiero, M. R., Sica, A., & Locati, M. (2013). Macrophage plasticity and polarization in tissue repair and remodelling. *The Journal of Pathology*, 229 (2), 176-185.
39. Nie, W., & Deters, A. M. (2013). Tamarind seed xyloglucans promote proliferation and migration of human skin cells through internalization via stimulation of proliferative signal transduction pathways. *Dermatology Research and Practice*, 359756.
40. Lossio, C. F., Moreira, C. G., Amorim, R. M. F., Nobre, C. S., Silva, M. T. L., Neto, C. C., Pinto-Junior, V. R., Silva, I. B., Campos, J., Assreuy, A. M. S., Cavada, B. S., & Nascimento, K. S. (2017). Lectin from *Canavalia villosa* seeds: a glucose/mannose-specific protein and a new tool for inflammation studies. *International Journal of Biological Macromolecules*, 272-280.
41. Ackermann, M. R. (2009). Inflamação crônica e cicatrização de feridas. In: *Bases da patologia em veterinária*. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier.

Figures and Legends

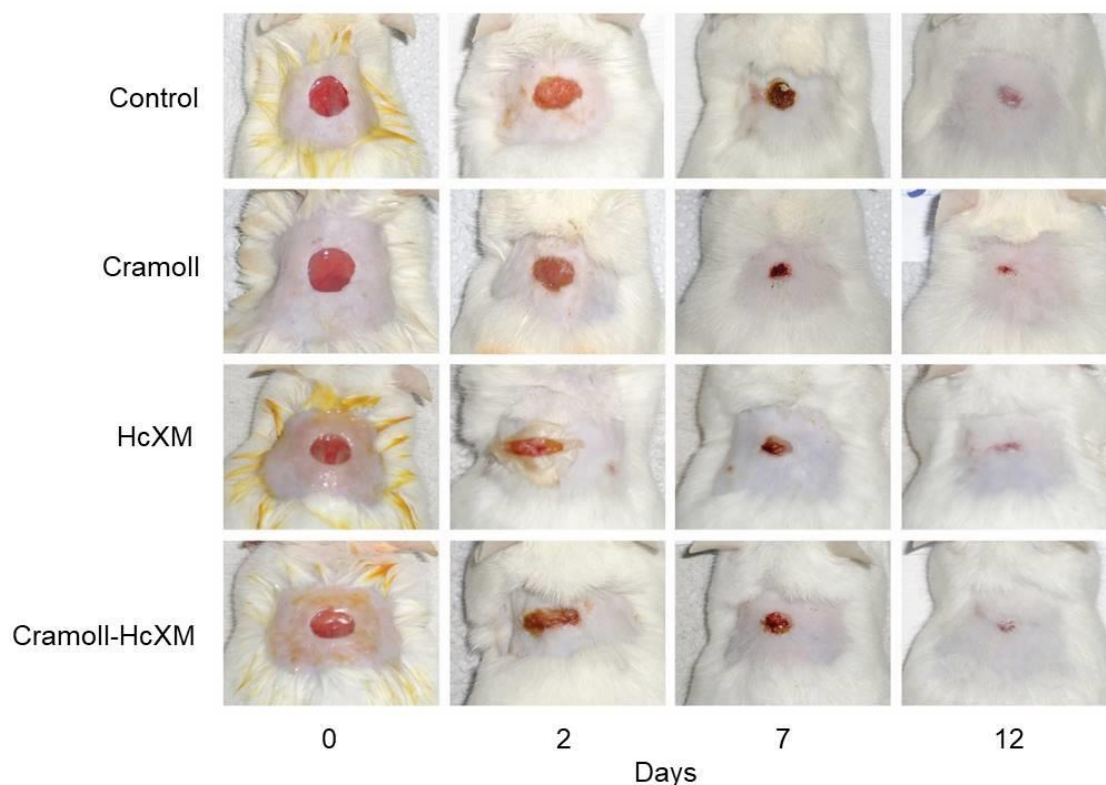


Fig. 1. Clinical evaluation of diabetic mice wounds by time of evaluation (days). Day 0 - production of wounds in the experimental groups; Day 2 - edema and hyperemia in all groups, but more marked in Control and Cramoll groups, and formation of primary scab in all groups; Day 7 - the presence of a secondary scab and detachment was observed in all groups, and in Cramoll a more evident contraction of the wound were observed; Day 12 – detachment of the secondary scab and wound retraction in all experimental groups, being more pronounced in Cramoll, HcXM and Cramoll-HcXM groups.

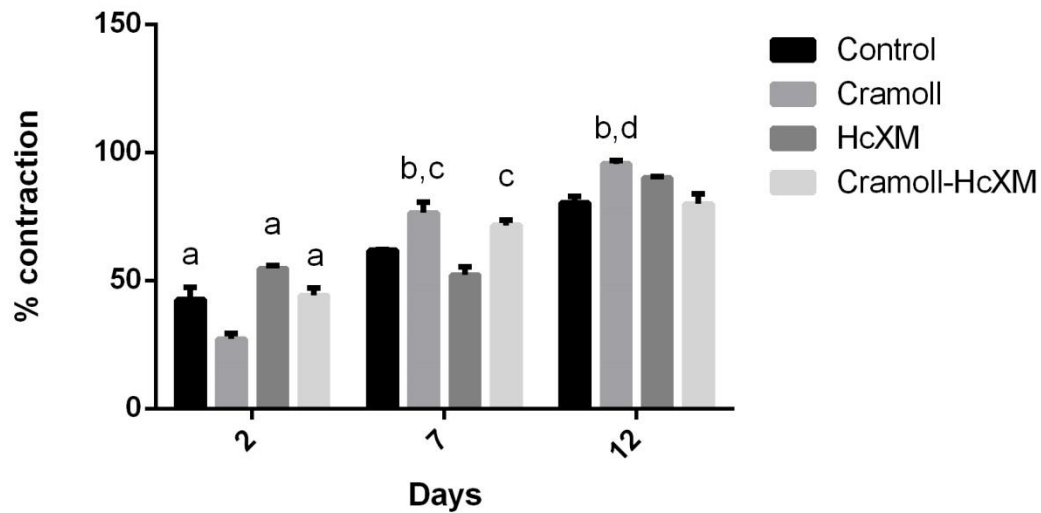


Fig. 2. Percentage of wound contraction at 2, 7 and 12 days of treatment. Comparison of the Arithmetical Mean (AM) and Standard Deviation (SD) among experimental groups and control using the methods of analysis of variance (ANOVA) and Bonferroni's multiple comparisons test ($p < 0.05$). (a) – significant in comparison to the Cramoll group; (b) – significant in comparison to the Control group; (c) – significant in comparison to the HcXM group; (d) – significant in comparison to the Cramoll-HcXM group.

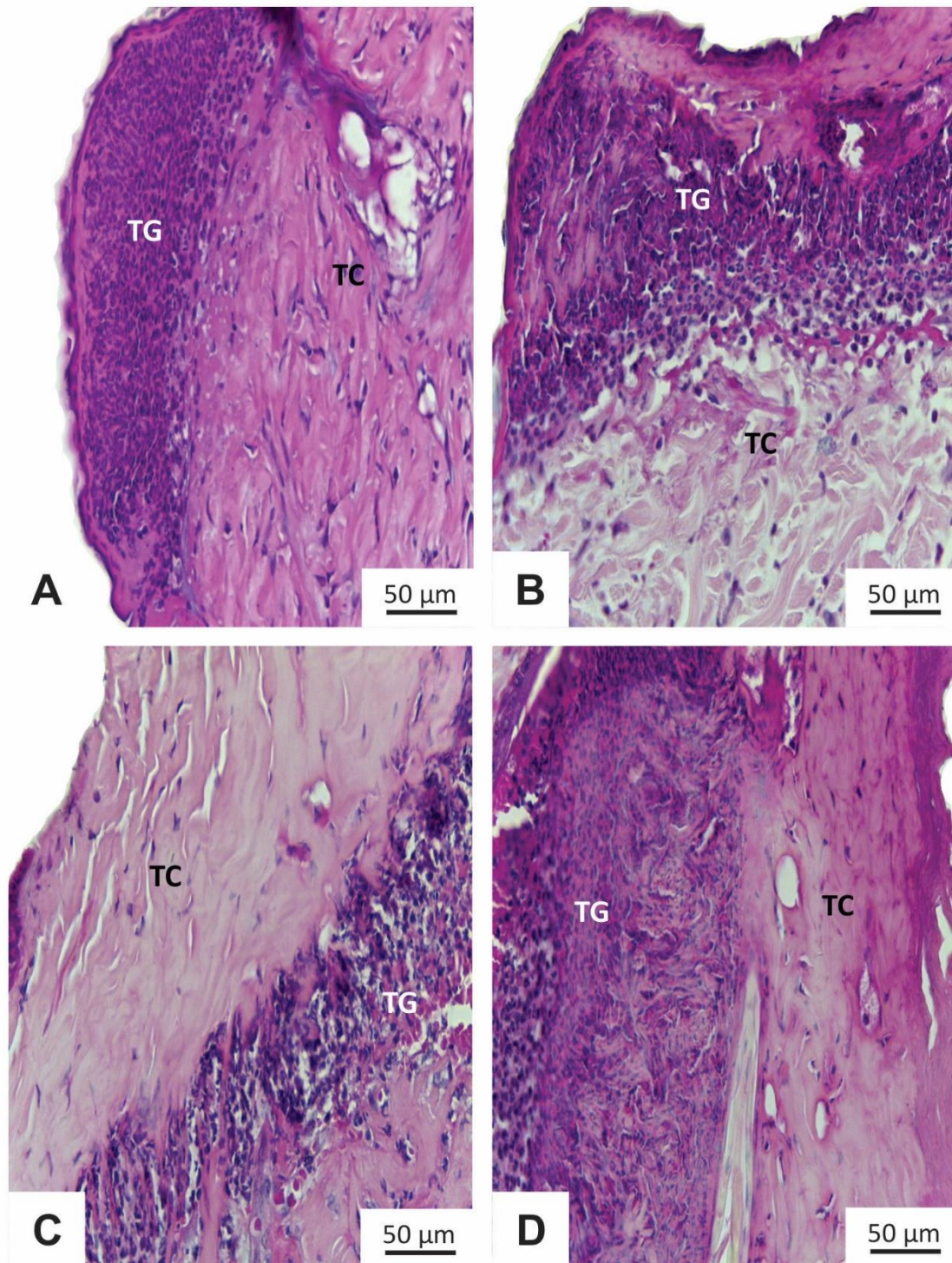


Fig. 3. Histological analysis of diabetic mice wounds within 2 days of treatment using H.E. staining. A – Control; B – Cramoll; C – HcXM; D – Cramoll-HcXM. Presence of granulation tissue in all treatments. It is worth noting the intense inflammatory infiltrate in C, moderate infiltrate in D, and a floppy vascular granulation tissue in B. (TC) – connective tissue; and (TG) – granulation tissue.

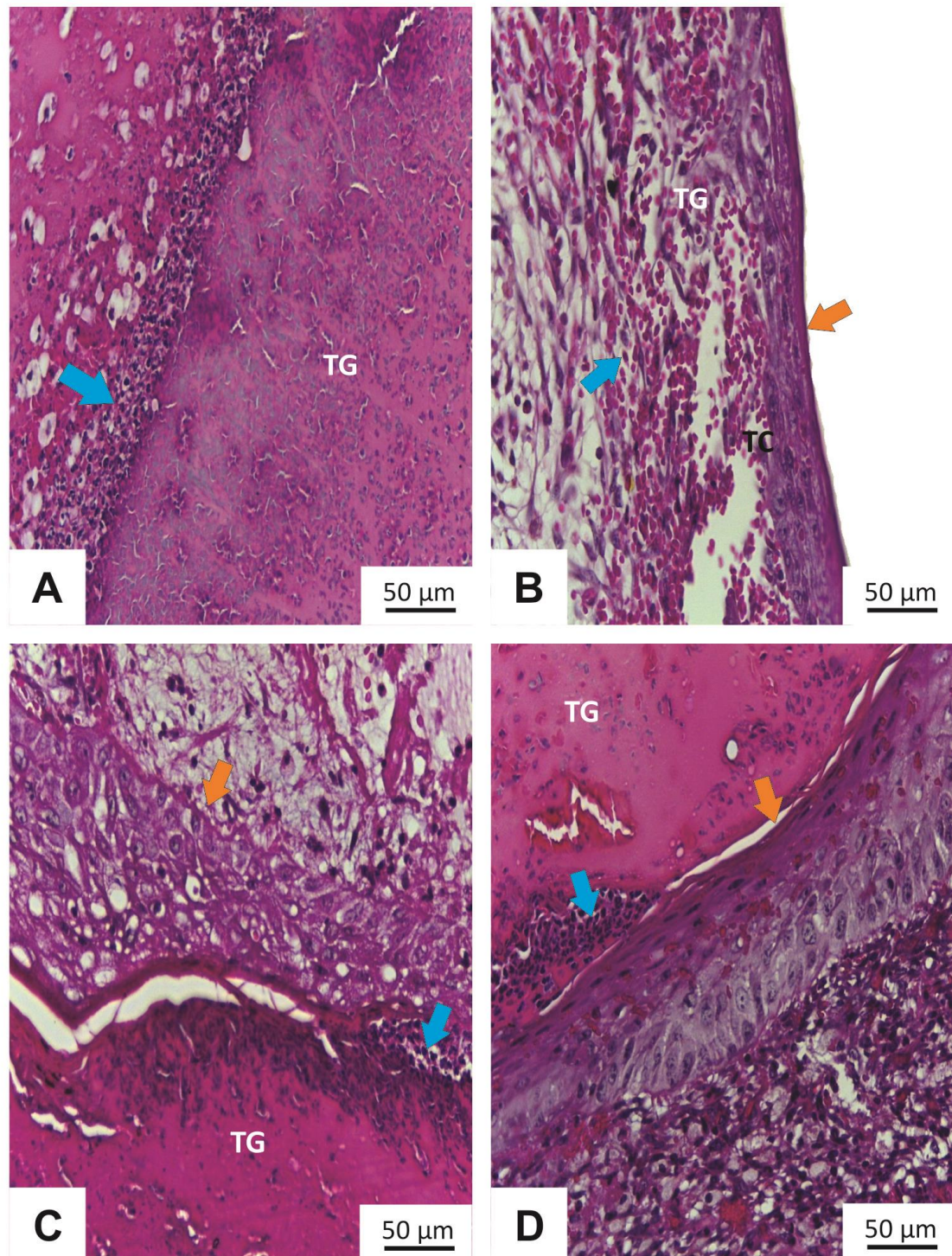


Fig. 4. Histological analysis of diabetic mice wounds within 7 days of treatment using H.E. staining. A – Control; B – Cramoll; C – HcXM; D – Cramoll-HcXM. Presence of an acute inflammatory infiltrate in A and early re-epithelialization in B, C and D. (TG) – granulation tissue; (blue arrow) – leukocyte infiltrate; (orange arrow) – re-epithelialization.

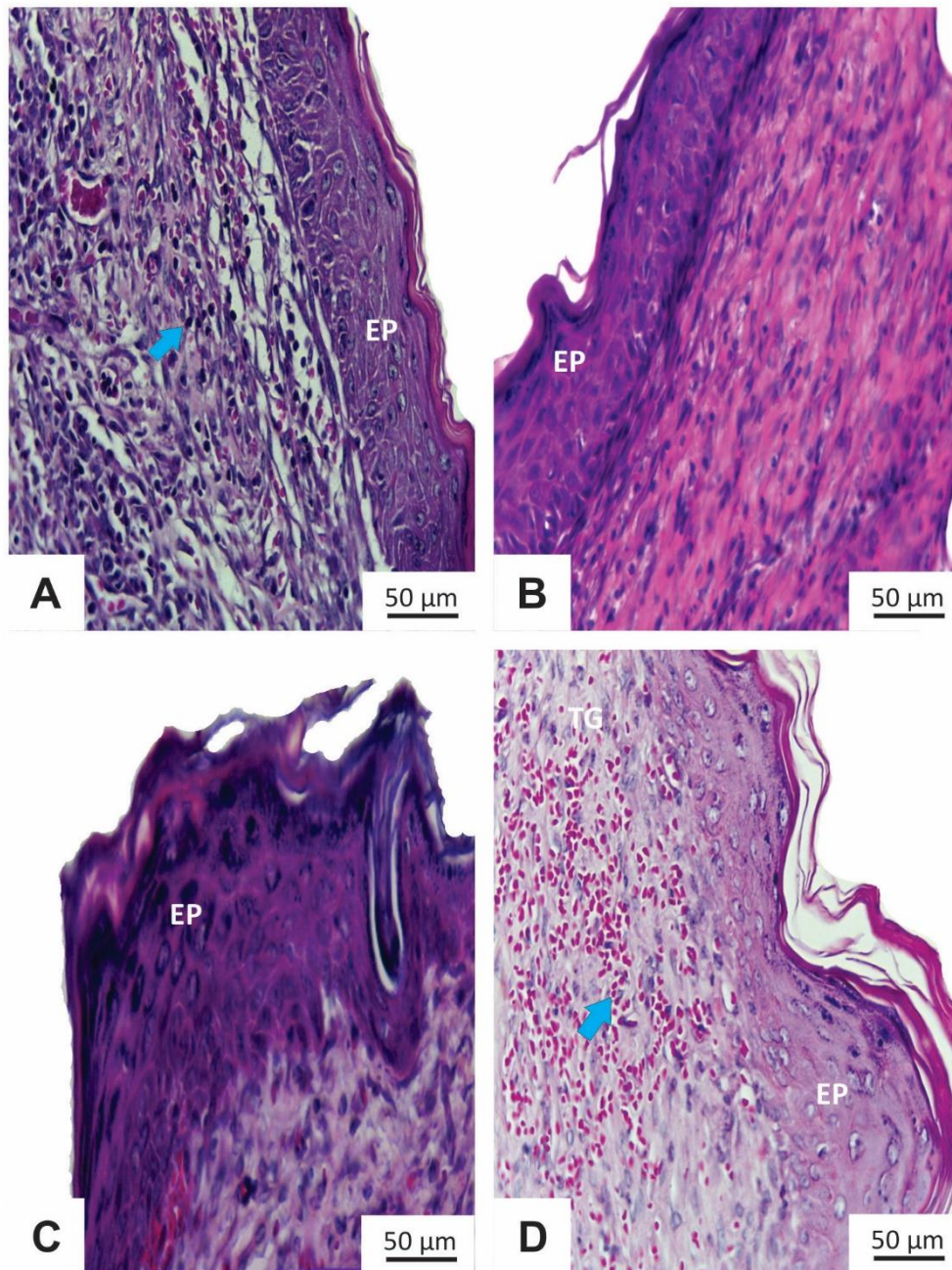


Fig. 5. Histological analysis of diabetic mice wounds at 12 days of treatment using H.E. staining. A – Control; B – Cramoll; C – HcXM; D – Cramoll-HcXM. Presence of fibrous tissue in A, B and C; fibrovascular tissue in D; and presence of leukocyte infiltrate in A and D. (Ep) - epithelium, (blue arrow) - leukocyte infiltrate.

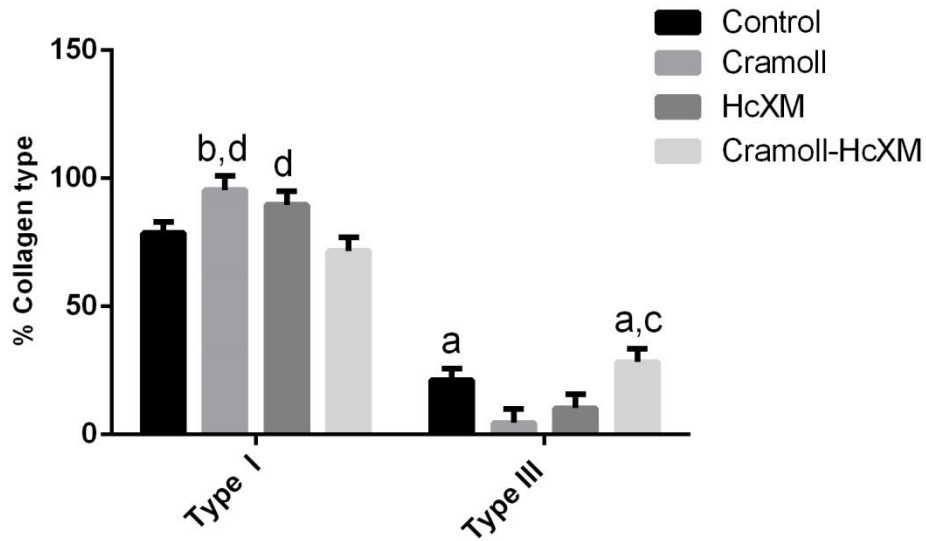


Fig 6. Collagen quantification by type at 12 days of treatment. Comparison of the Arithmetical Mean (AM) and Standard Deviation (SD) among experimental groups and the Control group using the methods of analysis of variance (ANOVA) and Bonferroni's multiple comparisons test. (a) – significant in comparison to the Cramoll group; (b) – significant in comparison to the Control group; (c) – significant in comparison to the HcXM group; (d) – significant in comparison to the Cramoll-HcXM group.

ARTIGO II

Lectina de *Cratylia mollis* (Cramoll): avaliação da atividade cicatrizante em feridas de ratos espontaneamente hipertensos (SHR) e SHR diabéticos

Fernanda M. de Andrade¹; Ismaela M. F. de Melo²; Adelmo C. Aragão-Neto³; Fernanda P. A. Neves¹; Jannyson J. Jandú¹; Elenildo D. S. Júnior¹; Luana C. B. B. Coelho¹; Gloria I. B. P. Duarte⁴; Maria H. M. Lima-Ribeiro³; Álvaro A. C. Teixeira²; Maria G. Carneiro-da-Cunha^{1,3}; Maria T. S. Correia^{1*}

¹ Departamento de Bioquímica da Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901 Recife, PE, Brasil.

² Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 52171-900 Recife, PE, Brasil.

³ Laboratório de Immunopatologia Keizo Asami, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901 Recife, PE, Brasil.

⁴ Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901 Recife, PE, Brasil.

* Autor correspondente. Tel.: +55 (81) 2126-8540. E-mail: mtscorreia@gmail.com (Maria T. S. Correia). Endereço: Avenida Professor Moraes Rego, Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Departamento de Bioquímica, Laboratório de Glicoproteínas.

RESUMO

Este estudo teve o objetivo de avaliar a atividade cicatrizante de Cramoll em feridas cutâneas experimentais de ratos machos espontaneamente hipertensos (SHRs) e SHRs diabéticos. 90 SHRs foram divididos ao acaso em 6 grupos experimentais, cada um contendo 15 animais: SHR Controle, SHR Kollagenase®, SHR Cramoll, SHR+Diabetes Controle, SHR+Diabetes Kollagenase® e SHR+Diabetes Cramoll. O diabetes foi induzido com estreptozotocina e as feridas foram realizadas com um punch mediante anestesia, tricotomia e antissepsia do dorso do animal. Os animais receberam seus respectivos tratamentos diariamente. Para avaliação do processo cicatricial foi realizada análise clínica diária durante 14 dias, objetivando acompanhar os aspectos clínicos da ferida, e também foram verificados os seguintes parâmetros após 3, 9 e 14 dias de tratamento: retração da ferida e cicatrização do ponto de vista histológico; além disso, foi realizada imunohistoquímica para colágeno tipos I e III após 9 e 14 dias de tratamento. Os resultados mostraram que os animais SHR e SHR+diabetes tratados com Cramoll não apresentaram edema e hiperemia exacerbados, houve desprendimento de crosta secundária precoce e reepitelização mais evidente. A retração após 3 dias de tratamento entre os SHR foi maior nos grupos SHR Controle e SHR Cramoll; e entre os e SHR+Diabetes, foi maior no SHR+Diabetes Camoll. A análise histológica evidenciou que animais SHR Cramoll apresentaram regeneração total da pele, e os SHR+Diabetes Cramoll, início de reepitelização e queratinização, após 14 dias de tratamento. A imunohistoquímica para o colágeno III marcou fortemente os SHR aos 9 dias e fracamente aos 14 dias, e entre os SHR+Diabetes só marcou os tratados com Cramoll. O colágeno tipo I apareceu aos 9 dias nos grupos tratados com Cramoll, e aos 14 dias em todos os grupos. De acordo com os resultados a Cramoll é eficaz no tratamento de feridas de SHRs e SHRs diabéticos, porém o processo cicatricial é mais acelerado nos SHR.

Palavras-chave: Cicatrização. Diabetes. Hipertensão. Proteína.

1. Introdução

As lectinas fazem parte de um grupo de proteínas ou glicoproteínas de origem não imunológica que se ligam através de ligações não covalentes a carboidratos específicos, essa interação acontece graças a sítios de ligação presentes na estrutura tridimensional dessa classe de proteínas (SUN et al., 2007; COELHO et al., 2017). Essa capacidade de se ligar reversivelmente a carboidratos permite que as lectinas desempenhem atividades biológicas importantes quando ligadas a superfície celular (SANTOS SILVA et al. 2019).

Cratylia mollis, também conhecida como feijão camaratu, é uma planta forrageira encontrada na região Semi-árida do estado de Pernambuco, de suas sementes têm sido purificadas e caracterizadas isoformas de lectinas (Cramoll 1, Cramoll 2, Cramoll 3 e Cramoll 4) (CORREIA; COELHO, 1995), que vem apresentando diversas atividades promissoras na área da biotecnologia.

Uma solução contendo a Cramoll 1 e 4 é denominada Cramoll, e vários estudos relatam seu amplo leque de atividades. Uma das atividades dessa lectina é sua capacidade de acelerar o processo de cicatrização (PEREIRA et al., 2012; SANTOS-OLIVEIRA et al., 2013; ALBUQUERQUE et al., 2017), mesmo quando se apresenta condições adversas, como por exemplo, a imunossupressão (MELO et al., 2011a; PEREIRA et al., 2019).

A pele, além de proteger os órgãos internos do ambiente externo, é o órgão responsável pela manutenção da homeostase corporal (KIM et al., 2018), e a ocorrência de uma ferida cutânea leva a uma série de eventos que tem como objetivos manter a homeostase, reparar e remodelar o tecido lesado (NANDI et al., 2019). O processo cicatricial compreende quatro fases que se sobrepõem: hemostasia, inflamação, proliferação e remodelamento (MORTON; PHILLIPS, 2016).

Apesar de existir vários estudos com o objetivo de acelerar o processo cicatricial cutâneo de feridas de difícil cura, presentes em indivíduos diabéticos e hipertensos (WERDIN et al., 2009; MORTON; PHILLIPS, 2016), tais feridas ainda são responsáveis por um alto custo médico, por altas taxas de morbidade e recorrência, dor, limitações de mobilidade e amputações, afetando de maneira negativa a qualidade de vida dos acometidos (SIERSMA et al., 2014). Essas feridas se desenvolvem devido a uma ruptura da cascata de cicatrização

normal, de maneira que se cria um microambiente hostil ao tecido, prolongando a fase inflamatória do processo cicatricial (DICKINSON; GERECHT, 2016).

O diabetes é uma epidemia global, e segundo a Federação Internacional de Diabetes (2017) 425 milhões de adultos no mundo tem diabetes e a estimativa para o ano de 2045 é que cerca de 629 milhões de pessoas serão afetados por essa enfermidade. A hipertensão atinge cerca de 1,13 bilhões de pessoas no mundo (NCD RISK FACTOR COLLABORATION, 2017). Um fato preocupante é que sob o ponto de vista epidemiológico a hipertensão é três vezes mais frequente em diabéticos do que na população não diabética (ANTÓNIO et al., 2008), potencializando dessa forma os riscos do aparecimento de uma ferida de difícil cura.

Diante do exposto, e levando em consideração a atividade cicatrizante da Cramoll, já confirmada em feridas de animais normais e imunocomprometidos, este estudo teve o objetivo de avaliar a atividade cicatrizante da Cramoll em feridas cutâneas experimentais de ratos machos espontaneamente hipertensos (SHR) e SHR com diabetes induzido, visando propor uma alternativa que acelere o processo cicatricial em indivíduos com essas disfunções sistêmicas.

2. Material e Métodos

2.1. Obtenção da Lectina Cramoll

A lectina Cramoll foi obtida através do protocolo estabelecido por Correia e Coelho (1995).

2.2. Obtenção da pomada Kollagenase

A pomada Kollagenase® Crystália (0,6 U de collagenase e 1g de vaselina - veículo q. s. p.) foi obtida comercialmente.

2.3. Modelo experimental

O experimento foi realizado de acordo com as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e do Instituto Nacional de Saúde, Guia de Cuidados e Uso de Animais de Laboratório. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Uso de Animais do Centro de Ciências

Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, Brasil, sob protocolo nº. 23076.029359/2014-94.

Foram utilizados 90 ratos espontaneamente hipertensos (SHR) com três meses de idade, pesando entre 200-260 g, obtidos do Biotério Setorial do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), mantidos sob temperatura (22 ± 2 °C) e luminosidade controladas (12 h de claro e 12 h de escuro) e com água e ração ad libitum. O experimento foi realizado no Biotério do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA), onde os animais foram mantidos nos mesmos padrões de temperatura, luminosidade, alimentação e hidratação, passaram por um período de uma semana de adaptação antes de serem submetidos aos procedimentos.

Os animais foram divididos ao acaso em 6 grupos experimentais, cada um contendo 15 animais: Grupo SHR Controle – SHRs tratados com 100 µl de solução salina (0.9% v/v); Grupo SHR Kollagenase® – SHRs tratados com 100 µl da pomada Kollagenase®; Grupo SHR Cramoll – SHRs tratados com 100 µl Cramoll (0,5 mg/ml); Grupo SHR+Diabetes Controle – SHRs diabéticos tratados com 100 µl de solução salina (0.9% v/v); Grupo SHR+Diabetes Kollagenase® – SHRs diabéticos tratados com 100 µl da pomada Kollagenase®; Grupo SHR+Diabetes Cramoll – SHRs diabéticos tratados com 100 µl Cramoll (0,5 mg/ml). Cada grupo foi subdividido em 3 subgrupos, cada um contendo 5 animais, cada subgrupo corresponde ao tempo de coleta das biópsias após a cirurgia de indução das feridas (Dia 3, Dia 9 e Dia 14).

2.4. Indução do diabetes

O diabetes foi induzido pela administração de uma única injeção intraperitoneal de solução de estreptozotocina (Sigma Chemical Co. USA) após jejum alimentar de 14 h na dose de 60 mg/kg. A estreptozotocina foi dissolvida em tampão citrato de sódio a 10 mM, pH 4,5. O quadro de diabetes foi confirmado 7 dias após a indução através da verificação dos níveis plasmáticos de glicose com o Kit Labtest para glicose após jejum alimentar de 12h. Os animais com glicemia inferior a 200 mg/dL foram descartados (DALL'AGO et al., 2002)

2.5. Indução das feridas

Para indução das feridas os animais foram anestesiados por via intramuscular com cloridrato de xilazina 2% (10 mg/kg) e cloridrato de cetamina 10 % (115 mg/kg). Após o procedimento anestésico, cada animal foi submetido à tricotomia e à antissepsia com iodopovidona 1% p/v na região dorsal. A biópsia circular excisional da pele foi realizada com o auxílio de um punch para biópsia (8 mm de diâmetro) e divulsão com tesoura íris. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais e tratados de acordo com o grupo correspondente.

2.6. Avaliação Clínica

As características clínicas das feridas experimentais foram observadas diariamente, considerando os seguintes aspectos: edema, hiperemia, exudato, crosta primária e secundária, desprendimento e reepitelização (MONTEIRO et al., 2007).

2.7. Avaliação da retração da ferida

A avaliação da retração da ferida foi realizada seguindo a metodologia de Xu et al. (2018). As imagens foram capturadas a uma distância constante no dia da indução da ferida (dia 0) e nos dias 3, 9 e 14. A partir dessas imagens, a área da lesão foi medida em pixels através do ImageJ (Institutos Nacionais de Saúde, Bethesda, MD). EUA). O cálculo do grau de contração foi expresso em porcentagem usando a equação: % da contração da lesão = $[P0 - Pt / P0] \times 100\%$, onde P0 representa a área inicial da lesão e Pt representa a área da lesão em dias de biópsia (dias 3, 9 e 14).

2.8. Biópsia da lesão

Para a coleta das amostras, os animais foram previamente anestesiados, por via intramuscular, com cloridrato de xilazina 2% (10 mg/kg) e cloridrato de cetamina 10% (115 mg/kg). A biópsia excisional da ferida foi realizada através da retirada do fragmento de pele contendo a área da ferida, abrangendo um centímetro além de cada margem da lesão. Imediatamente, após a retirada da pele, as amostras foram dispostas sobre papel filtro e fixadas em formalina 10% v/v, que após 48 h foi substituída por uma solução

de etanol 70% v/v. Após a biópsia excisional os animais foram sacrificados com uma dose letal de tiopental sódio (200 mg/kg).

2.9. Processamento histológico

As amostras de pele foram clivadas, desidratadas em concentrações crescentes de etanol, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina. Os blocos foram cortados em micrótomo, numa espessura de 5 μ m, e as lâminas foram coradas com hematoxilina e eosina (H.E.) para avaliação histológica em microscópio óptico de luz.

2.10. Imunohistoquímica dos colágenos tipo I e III

Foi realizada a análise imunohistoquímica para os colágenos I e III. As lâminas silanizadas contendo as amostras de pele foram desparafinizadas e reidratadas em xilol e álcoois, respectivamente. A recuperação antigênica foi realizada através de uma solução de tampão citrato de sódio (pH 6.0) em alta temperatura no micro-ondas por 5 min. A peroxidase endógena foi inibida através de uma solução de peróxido de hidrogênio (1%) em água destilada. A reação antígeno-anticorpo inespecífica foi bloqueada através da incubação das lâminas em PBS e albumina sérica bovina (BSA) 5% durante 1 h. Todos os anticorpos (Santa Cruz Biotechnology Inc., Santa Cruz, CA, EUA) foram diluídos em PBS/BSA 1% e incubados overnight. Em sequência, as lâminas foram tratadas com anticorpo secundário por 30 min. A reação antígeno-anticorpo foi observada através de um precipitado marrom após aplicação de 3,3 diaminobenzidina por 6 min e contracorados com hematoxilina. As imagens foram capturadas por meio de câmera de vídeo Sony®, acoplada ao microscópio Olympus® Bx50.

2.11. Análise estatística

Para a análise estatística, foi utilizado o método de análise de variância ANOVA e o teste de comparações múltiplas de Bonferroni, utilizando o programa GraphPad Prism 5.0. Todos os resultados foram expressos em valores de média aritmética dos grupos $\pm$ desvio padrão e foram analisados considerando o valor de $p < 0,05$ como estatisticamente significativo.

3. Resultados

3.1. Avaliação clínica

De acordo com a avaliação clínica, aos 3 dias de tratamento, todos os grupos apresentaram edema, hiperemia e formação de crosta primária, porém os grupos SHR Kollagenase®, SHR+Diabetes Controle e SHR+Diabetes Kollagenase® apresentaram edema e hiperemia muito acentuados que permaneceram até o sexto dia de tratamento. Após 9 dias todos os grupos apresentaram desprendimento de crosta secundária e início de reepitelização, porém, tais características foram mais evidentes nos grupos SHR Cramoll e SHR+Diabetes Cramoll. Aos 14 dias de tratamento ocorreu reepitelização em todos os grupos experimentais, porém, entre os SHR foi mais evidente no grupo SHR Cramoll, e entre os SHR+Diabetes as feridas não diferiram quanto a reepitelização (Figs. 1 e 2).

3.2. Retração da ferida

Após 3 dias de tratamento, os SHR dos grupos SHR Cramoll ($36,8 \pm 8,5$) e SHR Controle ($20,8 \pm 5,3$) apresentaram uma retração maior significativamente em relação ao grupo SHR Kollagenase® ($-4,6 \pm 4,8$). Com 9 e 14 dias, respectivamente, os grupos SHR Controle ($78,46 \pm 6,1$; $84,23 \pm 3,9$), SHR Kollagenase® ($73,9 \pm 5,2$; $91,5 \pm 2,6$) e SHR Cramoll ($80,5 \pm 6,0$; $95,0 \pm 2,4$) não apresentaram diferença estatística significativa (Fig. 3). Em relação aos SHR+Diabetes, depois de 3 dias de tratamento, o grupo SHR+Diabetes Cramoll ($34,0 \pm 4,8$) apresentou uma retração maior significativamente em relação aos grupos SHR+Diabetes Controle ($-7,6 \pm 7,3$) e SHR+Diabetes Kollagenase ($-18,8 \pm 19,7$). Com 9 e 14 dias, respectivamente, os grupos SHR+Diabetes Controle ($59,5 \pm 20,9$; $71,4 \pm 18,7$), SHR+Diabetes Kollagenase® ($77,1 \pm 7,32$; $79,2 \pm 6,4$) e SHR+Diabetes Cramoll ($82,2 \pm 4,1$; $93,2 \pm 2,3$) não apresentaram diferença estatística significativa (Fig. 4).

3.3. Análise histológica

A análise histológica revelou que as feridas cutâneas dos animais SHR dos grupos Controle, Kollagenase® e Cramoll ao terceiro dia apresentaram as mesmas características com a presença intensa de infiltrado leucocitário (Figs. 5A-F). Essa característica foi observada ainda aos 9 dias, porém com menor

intensidade, nas feridas dos animais dos grupos Controle e Kollagenase® (Figs. 6A-D). Nos animais do grupo Cramoll evidenciou-se reepitelização e processo de queratinização, além de ausência de infiltrado leucocitário no tecido conjuntivo (Figs. 6E-F). Aos 14 dias nota-se ainda infiltrado leucocitário nas lesões dos animais do grupo Controle (Figs. 7A-B) e reepitelização e processo de queratinização nas feridas do grupo Kollagenase® (Figs. 7C-D). No grupo Cramoll observou-se regeneração total da pele (Figs. 7E-F).

Nos animais SHR+Diabetes, após 3 dias de tratamento, evidenciou-se as mesmas características encontradas nas feridas dos animais SHR, independente do tratamento (Figs. 8A-F). Aos 9 dias, todos os animais apresentaram infiltrado leucocitário, não sendo observado portanto, processo de reepitelização e queratinização (Figs. 9A-F). Com 14 dias apenas os animais do grupo Cramoll apresentaram regeneração da pele caracterizada pela reepitelização e queratinização (Figs. 10A-F).

3.4. Imunohistoquímica dos colágenos tipo I e III

A imunohistoquímica para o colágeno III nos cortes das feridas dos animais SHR revelou forte marcação em todos os tratamentos aos 9 dias e fraca aos 14 dias (Figura 11). Nos animais SHR+Diabetes houve marcação apenas no tratamento Cramoll aos 9 e 14 dias (Figura 12). Já para o colágeno I tanto nas lesões cutâneas dos animais SHR e SHR+Diabetes, observou-se marcação apenas no tratamento Cramoll aos 9 dias e em todos os tratamentos aos 14 dias, sendo mais forte no Cramoll (Figuras 13 e 14).

4. Discussão

Estudos apontam que lectinas são biomoléculas promissoras na aceleração do processo cicatricial (BRUSTEIN et al., 2012; KIM et al., 2013; BATISTA et al., 2019), porém, até o momento, não foram relatadas informações sobre a ação cicatrizante de lectinas em feridas de animais hipertensos e diabéticos hipertensos. O presente estudo avaliou a atividade cicatrizante de Cramoll em feridas cutâneas de SHR e de SHR diabéticos, e Cramoll atuou estimulando/acelerando o processo cicatricial nesses animais, tornando-se uma alternativa eficaz, não tóxica e sustentável que acelera a regeneração tecidual em feridas de difícil cura.

Tanto o diabetes como a hipertensão, através de diversos mecanismos, provocam uma ruptura dos acontecimentos celulares e bioquímicos do processo de cicatrização, aumentando o estresse oxidativo e consequentemente causando danos celulares, levando a um prolongamento da inflamação, e retardando o processo cicatricial (KOLLURU; BIR; KEVIL, 2012; DICKINSON; GERECHT, 2016). Vários estudos relatam a ação imunomoduladora da Cramoll (MELO et al., 2010; SILVA et al., 2015), justificando a presença de edema e hiperemia de maneira não exacerbada, diferente do que aconteceu com os outros grupos. Os resultados sugerem que Cramoll modula a inflamação, estimulando-a ou inibindo-a, dependendo do estresse oxidativo presente na região inoculada.

Essa ação imunomoduladora juntamente com a atividade proliferativa, exibidas pela Cramoll (MACIEL et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2018), explica o resultado obtido na retração das feridas após 3 dias de tratamento, e também o desprendimento mais precoce da crosta secundária após 9 dias de tratamento. Indicando que Cramoll atua estimulando a proliferação de fibroblastos e queratinócitos, fazendo com que essas células reestabeleçam o tecido lesionado. Resultado semelhante foi obtido por Batista et al. 2019, quando utilizaram a lectina CrataBL por via intravenosa em ratos saudáveis, onde após 4 dias de indução das feridas houve maior retração nos animais tratados com a lectina em relação ao grupo controle.

Feridas de indivíduos diabéticos e hipertensos, entre outras complicações, apresentam danos celulares, diminuição de respostas aos fatores de crescimento e hipóxia, dificultando dessa forma a proliferação celular, e consequentemente a reepitelização (CLARK, 2002; SANTORO; GAUDINO, 2005; ILANGO; CHITRA, 2010; KOLLURU; BIR; KEVIL, 2012). A atividade proliferativa e citoprotetora da Cramoll já foi relatada em estudos anteriores (MELO et al., 2011b; OLIVEIRA et al., 2018; SILVA et al., 2015), e os resultados obtidos no presente estudo corroboram com tais relatos, pois de acordo com a análise histológica os SHR tratados com Cramoll após 9 dias apresentaram reepitelização e presença de queratina. Além disso, aos 9 dias de tratamento o grupo SHR Cramoll não apresentou infiltrado leucocitário, e aos 14 dias apresentou regeneração total da pele, o que não foi observado nos outros grupos. Nos animais SHR+Diabetes não aconteceu o mesmo, aos 9

dias de tratamento todos os grupos apresentaram infiltrado inflamatório, isso pode ter acontecido devido esses animais apresentarem as duas disfunções sistêmicas, hipertensão e diabetes, tornando o processo cicatricial mais lento. Porém, no 14º dia apenas o grupo SHR+diabetes Cramoll apresentou reepitelização e queratinização nas feridas, mostrando que mesmo em situações que dificultam a regeneração tecidual a Cramoll mantém a estimulação do processo cicatricial.

Na fase inflamatória da cicatrização a matriz extracelular é degradada para dar espaço a formação de uma nova matriz, que se estabelece na fase proliferativa. Os fibroblastos sintetizam e secretam colágeno para compor a nova matriz extracelular, porém as primeiras fibras formadas são de colágeno tipo III, que em sua maior parte será substituído por colágeno tipo I durante a remodelação (Ackermann, 2009). Então, uma pele regenerada e saudável deve apresentar os dois tipos de colágenos, porém o tipo I em maior quantidade. Entre os animais SHR+Diabetes apenas o grupo Cramoll marcou a presença do colágeno tipo III aos 9 e 14 dias de tratamento. E em relação ao colágeno tipo I tanto os animais SHR como os SHR+Diabetes tratados com Cramoll aos 9 dias de tratamento foram marcados. Os resultados sugerem que Cramoll também atua na remodelação tecidual, estimulando a deposição e organização de fibras de colágeno. Kim et al., (2013) observando a cicatrização de feridas da mucosa oral de ratos normais tratadas com a lectina Artin M (extraída das sementes de *Artocarpus heterophyllus*) viu que aos 7 dias de tratamento as feridas apresentavam remodelação tecidual com fibras colágenas organizadas. Demonstrando que as lectinas influenciam na estimulação da produção de colágeno e também na sua organização na matriz extracelular.

5. Conclusão

Através dos resultados obtidos pode-se concluir que o tratamento de feridas cutâneas de ratos espontaneamente hipertensos (SHR) e SHR diabéticos com a Cramoll é eficaz, porém a cicatrização ocorre mais rápido nos animais com a disfunção sistêmica hipertensão, apresentando total regeneração da pele aos 14 dias de tratamento. Talvez seja necessário um tempo maior para que a Cramoll possa regenerar totalmente a ferida de animais com as duas disfunções sistêmicas, hipertensão e diabetes. Os

resultados evidenciam a importância da Cramoll frente a cicatrização de feridas de difícil cura, tornando-a interessante para a indústria farmacêutica já que as pesquisas apontam para um aumento significativo de indivíduos hipertensos e diabéticos.

6. Agradecimentos

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) pelo apoio financeiro e ao laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA) pelo espaço cedido para a realização desse estudo.

7. Referências

ACKERMANN, M. R. **Inflamação crônica e cicatrização de feridas**. In: Bases da patologia em veterinária. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009.

ALBUQUERQUE, P. B. S.; SOARES, P. A. G.; ARAGÃO-NETO, A. C.; ALBUQUERQUE, G. S.; SILVA, L. C. N.; LIMA-RIBEIRO, M. H. M.; SILVA NETO, J. C.; COELHO, L. C. B. B.; CORREIA, M. T. S.; TEIXEIRA, J. A. C.; CARNEIRO-DA-CUNHA, M. G. Healing activity evaluation of the galactomannan film obtained from *Cassia grandis* seeds with immobilized *Cratylia mollis* seed lectin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 102, p. 749-757, 2017.

ANTÔNIO S.; FERREIRA, P.; ESTEVES, M. C.; CABANELAS, N. Terapêutica anti-hipertensiva em doentes diabéticos. **Revista Portuguesa de Medicina Geral e Familiar**, v. 24, n. 3, p. 403-409, 2008.

BATISTA, F. P.; AGUIAR, R. B.; SUMIKAWA, J. T.; LOBO, Y. A.; BONTURI, C. R.; FERREIRA, R. S.; ANDRADE, S. S.; PAIVA, P. M. G.; CORREIA, M. T. S.; VICENTE, C. M.; TOMA, L.; SAMPAIO, M. U.; PASCHOALIN, T.; GIRÃO, M. J. B. C.; MORAES, J. Z.; PAULA, C. A. A.; OLIVA, M. L. V. *Crataeva tapia* bark lectin (CrataBL) is a chemoattractant for endothelial cells that targets heparan sulfate and promotes in vitro angiogenesis. **Biochimie**, p. 173-183, 2019.

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

CLARK, J. J. Wound repair and factors influencing healing. **Critical Care Nursing Quarterly**, v. 25, n. 1, p. 1-12, 2002.

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**, 1594074, 2017.

CORREIA, M. T. S.; COELHO, L. C. B. Purification of a glucose/manose specific lectin isoform 1, from seeds of *Cratylia mollis* Mart (Camaratu bean). **Appl. Biochem. Biotechnol.**, v. 55, n. 3, p. 261-273, 1995.

DALL'AGO, P.; SILVA, V. O. K.; ANGELIS, K. L. D.; IRIGOYEN, M. C.; FAZAN JR, R.; SALGADO, H. C. Reflex control of arterial pressure and heart rate in short-term streptozotocin diabetic rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 35, n. 7, p. 843-849, 2002.

DICKINSON, L. E.; GERECHT, S. Engineered Biopolymeric Scaffolds for Chronic Wound Healing. **Frontiers in Physiology**, v. 7, p. 341, 2016.

ILANGO, K.; CHITRA, V. Wound healing and anti-oxidant activities of the fruit pulp of *Limonia acidissima* Linn (Rutaceae) in rats. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 9, n. 3, p. 223-230, 2010.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. IDF Diabetes Atlas, 8^o ed. Bruxelas, Bélgica: International Diabetes Federation, 2017. Disponível em: <http://www.diabetesatlas.org/across-the-globe.html> Acesso em 22 jul. 2019.

KIM, Y. J.; CARVALHO, F. C.; SOUZA, J. A. C.; GONÇALVES, P. C. G.; NOGUEIRA, A. V. B.; SPOLIDÓRIO, L. C.; ROQUE-BARREIRA, M. C.; CIRELLI, J. A. 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, n. 3, p. 456-463, 2013.

KIM, H. S.; SUN, X.; LEE, J. H.; KIM, H. W.; FU, X.; LEONG, K. W. Advanced drug delivery systems and artificial skin grafts for skin wound healing. **Advanced Drug Delivery Reviews**, S0169-409X (18), 30318-1, 2018.

KOLLURU, G. K.; BIR, S. C.; KEVIL, C. G. Endothelial dysfunction and diabetes: effects on angiogenesis, vascular remodeling, and wound healing. **International Journal of Vascular Medicine**, 918267, 2012.

MACIEL, E. V.; ARAÚJO-FILHO, V. S.; NAKAZAWA, M.; GOMES, Y. M.; COELHO, L. C.; CORREIA, M. T. Mitogenic activity of *Cratylia mollis* lectin on human lymphocytes. **Biologicals**, v. 32, p. 57-60, 2004.

MELO, C. M.; DE CASTRO, M. C.; DE OLIVEIRA, A. P.; GOMES, F. O.; PEREIRA, V. R.; CORREIA, M. T.; COELHO, L. C.; PAIVA, P. M.

Immunomodulatory response of Cramoll 1,4 lectin on experimental lymphocytes. **Phytotherapy Research**, v. 24, p. 1631-1636, 2010.

MELO, C. M.; PORTO, C. S.; MELO-JÚNIOR, M. R.; MENDES, C. M.; CAVALCANTI, C. C. B.; COELHO, L. C. B. B.; PORTO, A. L. F.; CARNEIRO-LEÃO, A. M. A.; CORREIA, M. T. S. Healing activity induced by Cramoll 1,4 lectin in healthy and immunocompromised mice. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 408, n. 1-2, p. 113-119, 2011a.

MELO, C. M. L.; MELO, H.; CORREIA, M. T. S.; COELHO, L. C. B. B.; SILVA, M. B.; PEREIRA, V. R. A. Mitogenic response and cytokine production induced by Cramoll 1,4 lectin splenocytes of inoculated mice. **Scandinavian Journal of Immunology**, v. 73, n. 2, p. 112-121, 2011b.

MONTEIRO, F. M. F.; SILVA, J. B. R.; CARVALHO, L.; CARNEIRO-LEÃO, A. M. A.; PORTO, A.; SILVA, G. M.; PORTO, C. S.; FILHO, J. L. L.; CARNEIRO-DA-CUNHA, M. G. Immobilization of trypsin on polysaccharide film from *Anacardium occidentale* L. and its application as cutaneous dressing. **Process Biochemistry**, v. 42, n. 5, p. 884-888, 2007.

MORTON, L. M.; PHILLIPS, T. J. Wound healing and treating wounds: differential diagnosis and evaluation of chronic wounds. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 74, n. 4, p. 589-605, 2016.

NANDI, S.; SPROUL, E. P.; NELLENBACH, K.; ERB, M.; GAFFNEY, L.; FREYTES, D. O.; BROWN, A. C. Platelet-like particles dynamically fibrin matrices and improve wound healing outcomes. **Biomaterials Science**, v. 7, n. 2, p. 669-682, 2019.

NCD - RISK FACTOR COLLABORATION. Worldwide trends in blood pressure from 1975 to 2015: a pooled analysis of 1479 population-based measurement studies with 19.1 million participants. **Lancet**, v. 389, n. 10064, p. 37-55, 2017.

OLIVEIRA, W. F.; SILVA, G. M. M.; CABRAL FILHO, P. E.; FONTES, A.; OLIVEIRA, M. D. L.; ANDRADE, C. A. S.; SILVA, M. V.; COELHO, L. C. B. B.; MACHADO, G.; CORREIA, M. T. S. Titanium dioxide nanotubes functionalized with *Cratylia mollis* seed lectin, Cramoll, enhanced osteoblast-like cells adhesion and proliferation. **Materials Science and Engineering C: Materials for Biological Applications**, v. 90, p. 664-672, 2018.

PEREIRA, D. S. T.; LIMA-RIBEIRO, M. H. M.; SANTOS-OLIVEIRA, R.; CAVALCANTI, C. L. B.; PONTES-FILHO, N. T.; COELHO, L. C. B. B.; CARNEIRO-LEÃO, A. M. A.; CORREIA, M. T. S. Topical application effect of the isolectin hydrogel (Cramoll 1,4) on second-degree burns: experimental model. **Journal of Biomedicine & biotechnology**, 184538, 2012.

PEREIRA, D. S. T.; LIMA-RIBEIRO, M. H. M.; SANTOS-OLIVEIRA, R.; CAVALCANTI, C. L. B.; PONTES-FILHO, N. T.; ALVES, A. M. S.; CARNEIRO-LEÃO, A. M. A.; COELHO, L. C. B. B.; CORREIA, M. T. S. The use of lectin gel

in the treatment of thermal burns in rats immunocompromised. **International Journal of Advanced Engineering Research and Science**, v. 6, 2019.

SANTORO, M. M.; GAUDINO, G. Cellular and molecular facets of keratinocyte reepithelization during wound healing. **Experimental Cell Research**, v.304, n.1, p. 274-86, 2005.

SANTOS-OLIVEIRA, R.; LIMA-RIBEIRO, M. H. M.; CARNEIRO-LEÃO, A. M. A.; CRUZ, A. F.; SANTANA, M. F.; CAVALCANTI, C. L. B.; FILHO, N. T. P.; COELHO, L. C. B. B.; CORREIA, M. T. S. Evaluating the effectiveness of gel formulation of irradiated seed lectin *Cratylia mollis* during bone repair in rats. **International Journal of Applied Basic Medical Research**, v. 3, n. 2, p. 88-92, 2013.

SANTOS SILVA, P. M.; OLIVEIRA, W. F.; ALBUQUERQUE, P. B. S.; CORREIA, M. T. S.; COELHO, L. C. B. B. Insights into anti-pathogenic activities of mannose lectins. **International Journal of Biological Macromolecules**, n. 140, p. 234-244, 2019.

SIERSMA, V.; THORSEN, H.; HOLSTEIN, P. E.; KARS, M.; APELQVIST, J.; JUDE, E. B.; PIAGGESI, A.; BAKKER, K.; EDMONDS, M.; JIRKAVSKÁ, A.; MAURICIO, D.; TENNVALL, G. R.; REIKE, H.; SPRAUL, M.; UCCIOLI, L.; URBANCIC, V.; ACKER, K. V.; BAAL, J. V.; SCHAPER, N. C. Health-related quality of life predicts major amputation and death, but not healing, in people with diabetes presenting with foot ulcers: the Eurodiale study. **Diabetes Care**, v. 37, n. 3, p. 694-700, 2014.

SILVA, L. C. N.; ALVES, N. M. P.; CASTRO, M. C. A. B.; PEREIRA, V. R. A.; PAZ, N. V. N.; COELHO, L. C. B. B.; FIGUEIREDO, R. C. B. Q.; CORREIA, M.T. S. Immunomodulatory effects of pCramoll and rCramoll on peritoneal exudate cells (PECs) infected and non-infected with *Staphylococcus aureus*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 72, p. 848-854, 2015.

SUN, J.; WANG, L.; WANG, B.; GUO, Z.; LIU, M.; JIANG, K.; LUO, Z. Purification and characterization of a natural lectin from the serum of the shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 23, n. 2, p. 292-299, 2007.

WERDIN, F.; TENNENHAUS, M.; SCHALLER, H. E.; RENNEKAMPFF, H. O. Evidence-based management strategies for treatment of chronic wounds. **Eplasty**, 2009.

XU, N.; WANG, L.; GUAN, J.; TANG, C.; HE, N.; ZHANG, W.; FU, S. Wound healing effects of a *Curcuma zedoaria* polysaccharide with platelet-rich plasma exosomes assembled on chitosan/silk hydrogel sponge in a diabetic rat model. **International Journal of Biological Macromolecules**, 117, 102-107, 2018.

Figuras e legendas

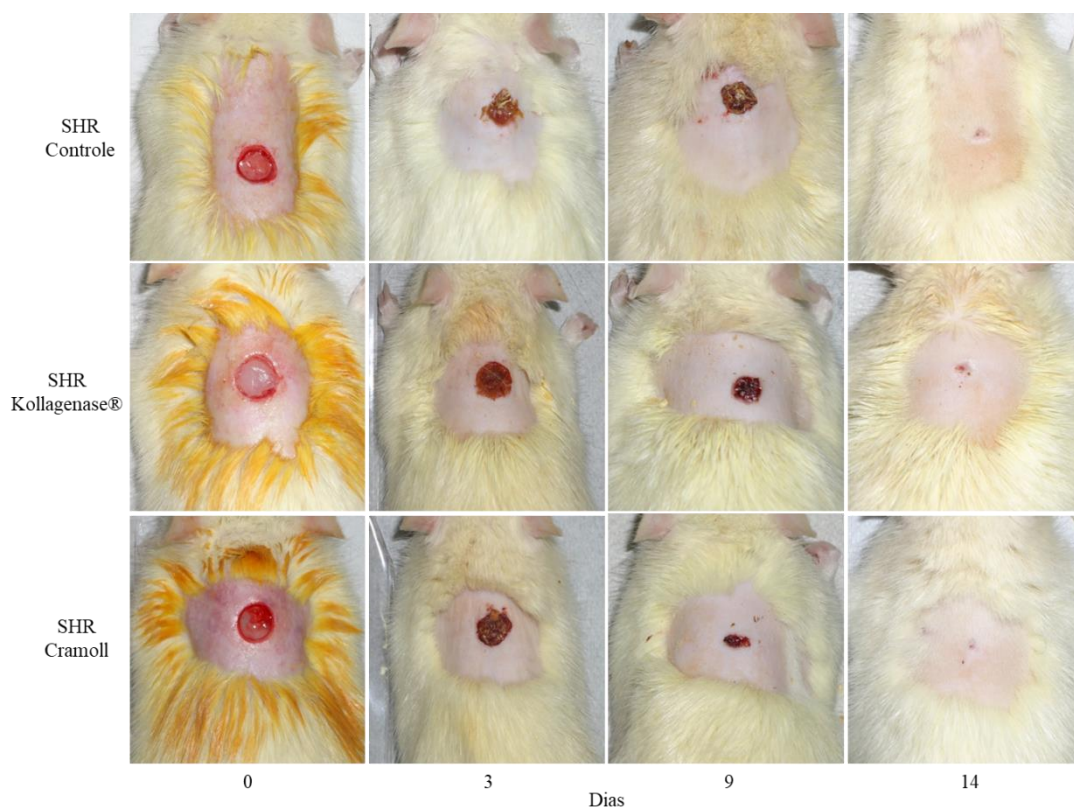


Figura 1. Avaliação clínica das feridas dos SHR por tempo de avaliação (dias), em que: Dia 0 - produção de feridas nos grupos experimentais; Dia 3 - edema e hiperemia em todos os grupos, porém mais acentuados no grupo SHR Kollagenase®, e formação de crosta primária em todos os grupos; Dia 9 - o desprendimento da crosta secundária e reepitelização foi observada em todos os grupos, porém ambos foram mais evidentes no grupo SHR Cramoll; Dia 14 - reepitelização e retração da ferida em todos os grupos experimentais, sendo mais acentuada no grupo SHR Cramoll.

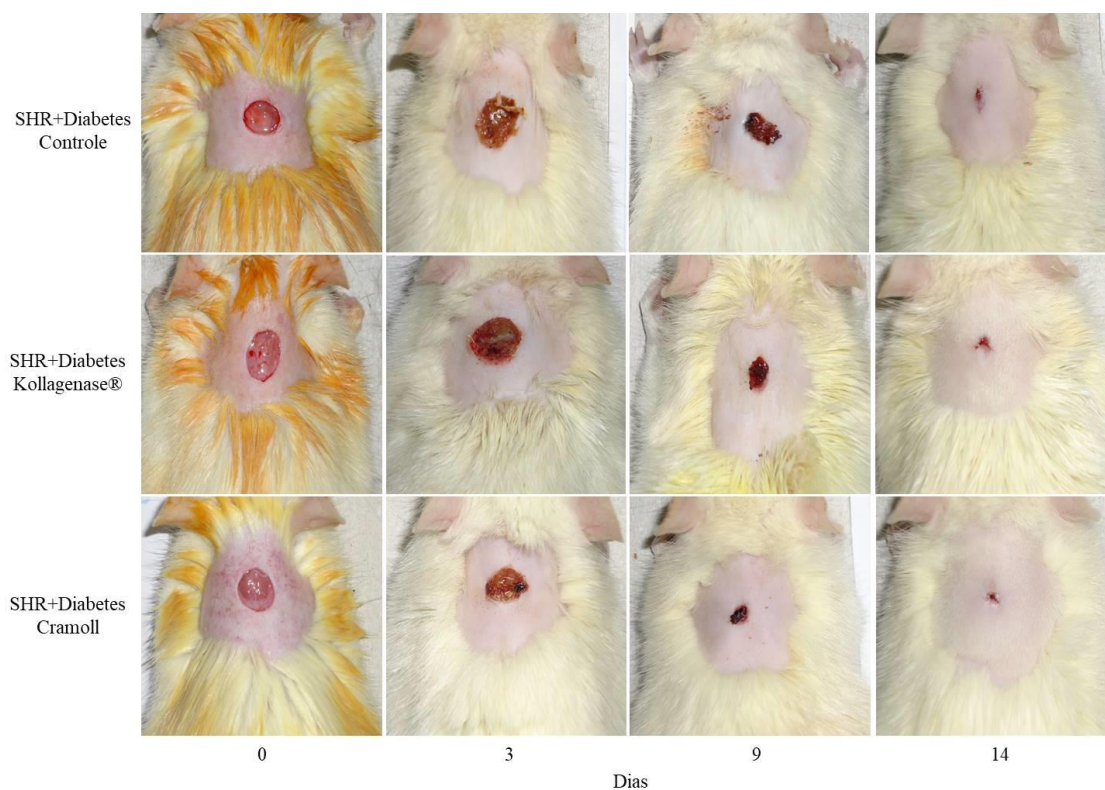


Figura 2. Avaliação clínica das feridas dos SHR+Diabetes por tempo de avaliação (dias), em que: Dia 0 - produção de feridas nos grupos experimentais; Dia 3 - edema e hiperemia em todos os grupos, porém mais acentuados nos grupos SHR+Diabetes Controle e SHR+Diabetes Collagenase®, e formação de crosta primária em todos os grupos; Dia 9 - o desprendimento da crosta secundária e reepitelização foi observada em todos os grupos, porém mais evidente no grupo SHR+Diabetes Cramoll; Dia 14 - reepitelização e retração da ferida em todos os grupos experimentais.

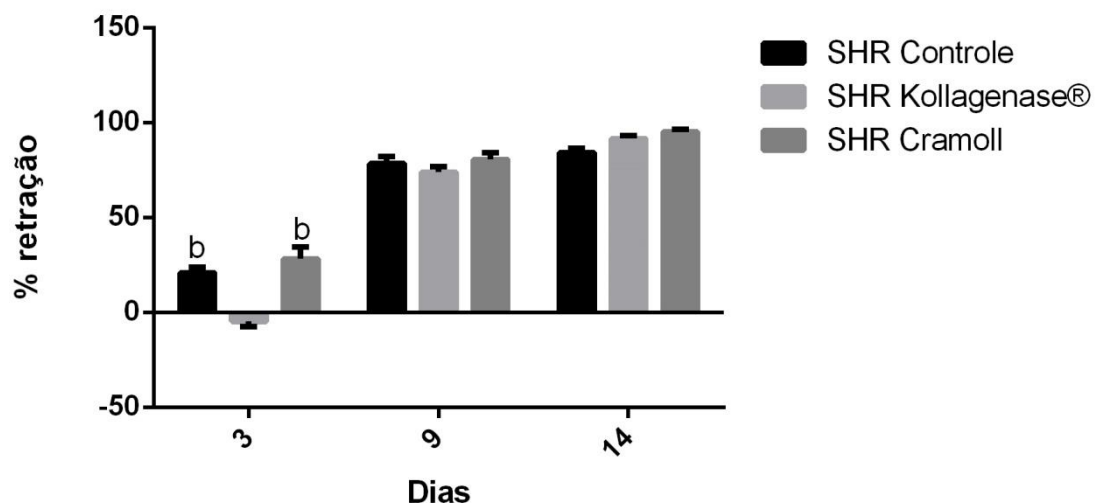


Figura 3. Porcentagem de retração das feridas aos 3, 9 e 14 dias de tratamento dos SHR. Comparação da Média Aritmética (AM) e Desvio Padrão (DP) entre grupos experimentais e controle utilizando os métodos de análise de variância (ANOVA) e teste de comparações múltiplas de Bonferroni ($p < 0,05$). (a) - significativo em comparação ao grupo SHR Controle; (b) - significativo em comparação com SHR Kollagenase®; (c) significativo em comparação a SHR Cramoll.

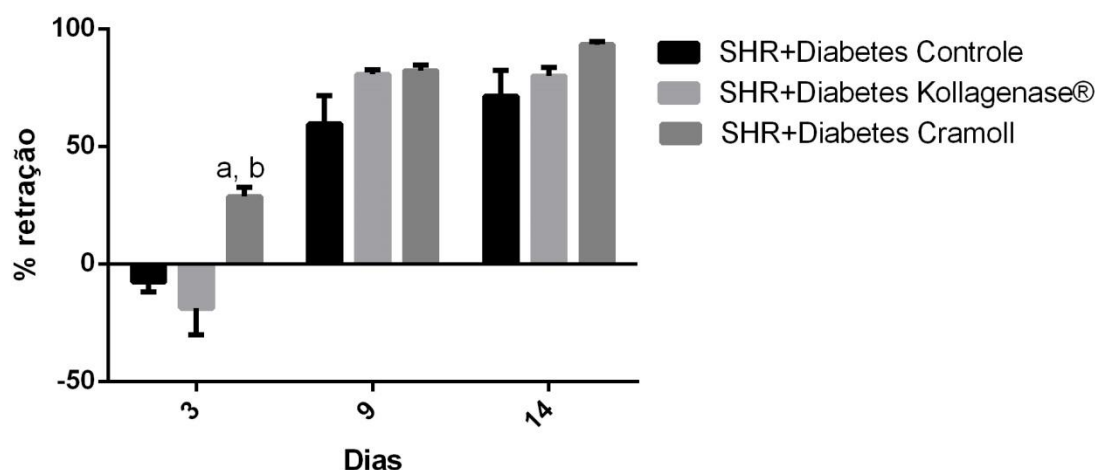


Figura 4. Porcentagem de retração das feridas aos 3, 9 e 14 dias de tratamento dos SHR+Diabetes. Comparação da Média Aritmética (AM) e Desvio Padrão (DP) entre grupos experimentais e controle utilizando os métodos de análise de variância (ANOVA) e teste de comparações múltiplas de Bonferroni ($p < 0,05$). (a) - significativo em comparação ao grupo SHR+Diabetes Controle; (b) - significativo em comparação com SHR+Diabetes Kollagenase®; (c) significativo em comparação a SHR+Diabetes Cramoll.

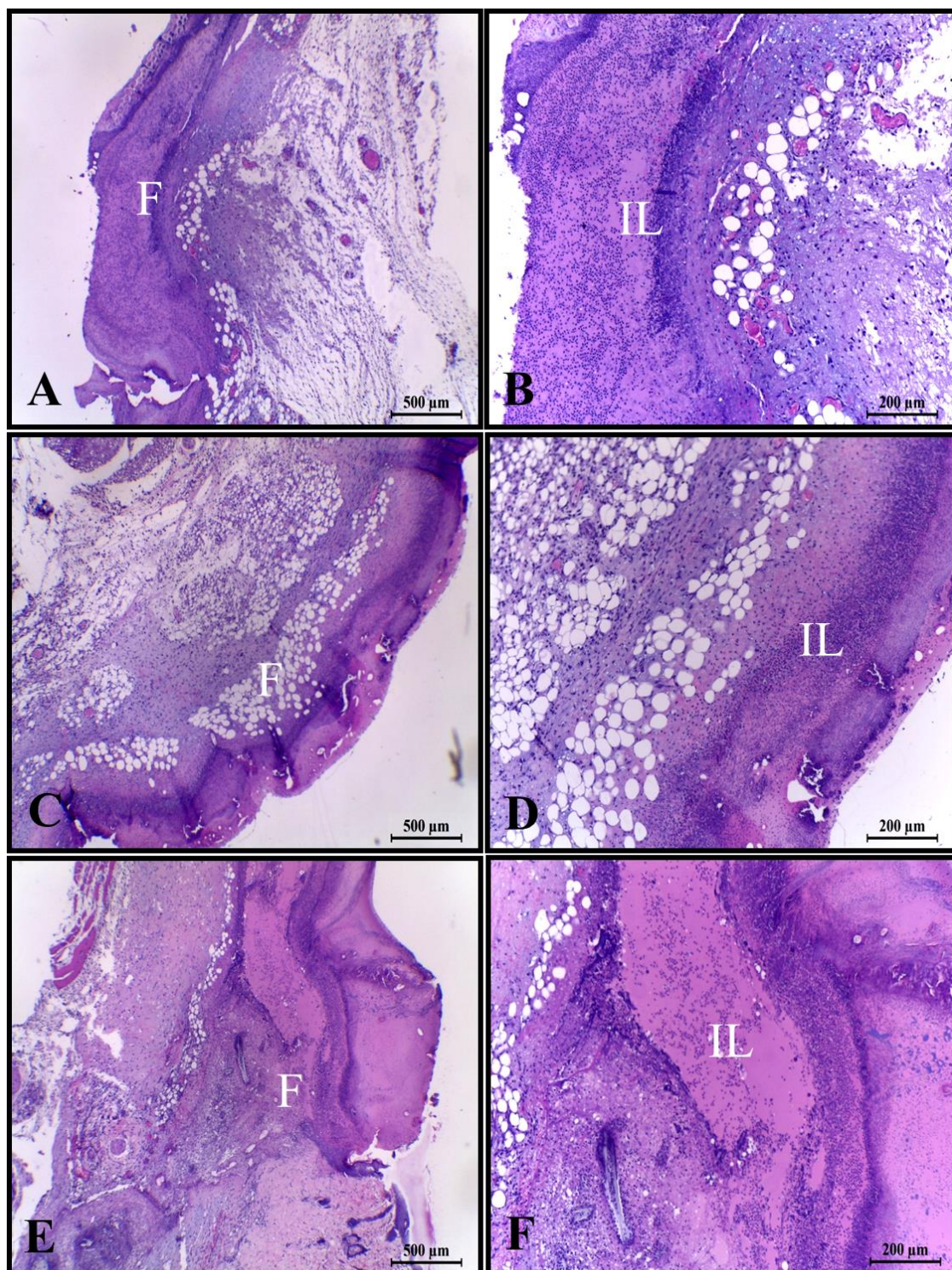


Figura 5: Fotomicrografia de feridas cutâneas nos animais SHR avaliadas após 3 dias de tratamento. (A-B) Controle; (C-D) Kollagenase®; (E-F) Cramoll. Notar em todas as feridas (F) a presença de tecido de infiltrado leucocitário (IL) em todos os tratamentos. H.E.

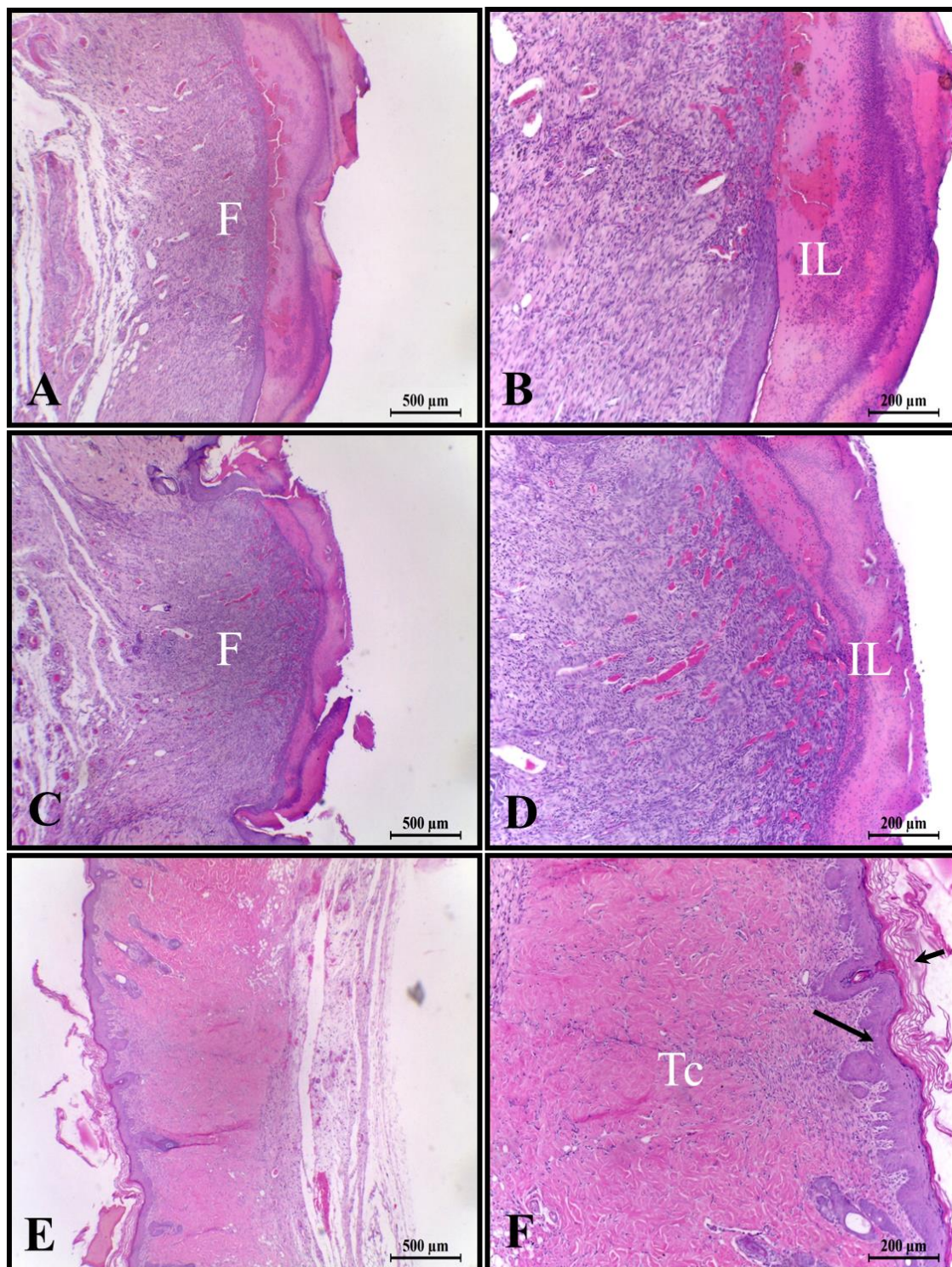


Figura 6: Fotomicrografia de feridas cutâneas nos animais SHR avaliadas após 9 dias de tratamento. (A-B) Controle; (C-D) Kollagenase®; (E-F) Cramoll. Notar nas feridas (F) a presença de tecido de infiltrado leucocitário (IL) apenas nos grupos Controle e Kollagenase®, e no grupo Cramoll reepitelização (seta longa), queratinização (seta curta) tecido conjuntivo (Tc) sem infiltrado leucocitário H.E.

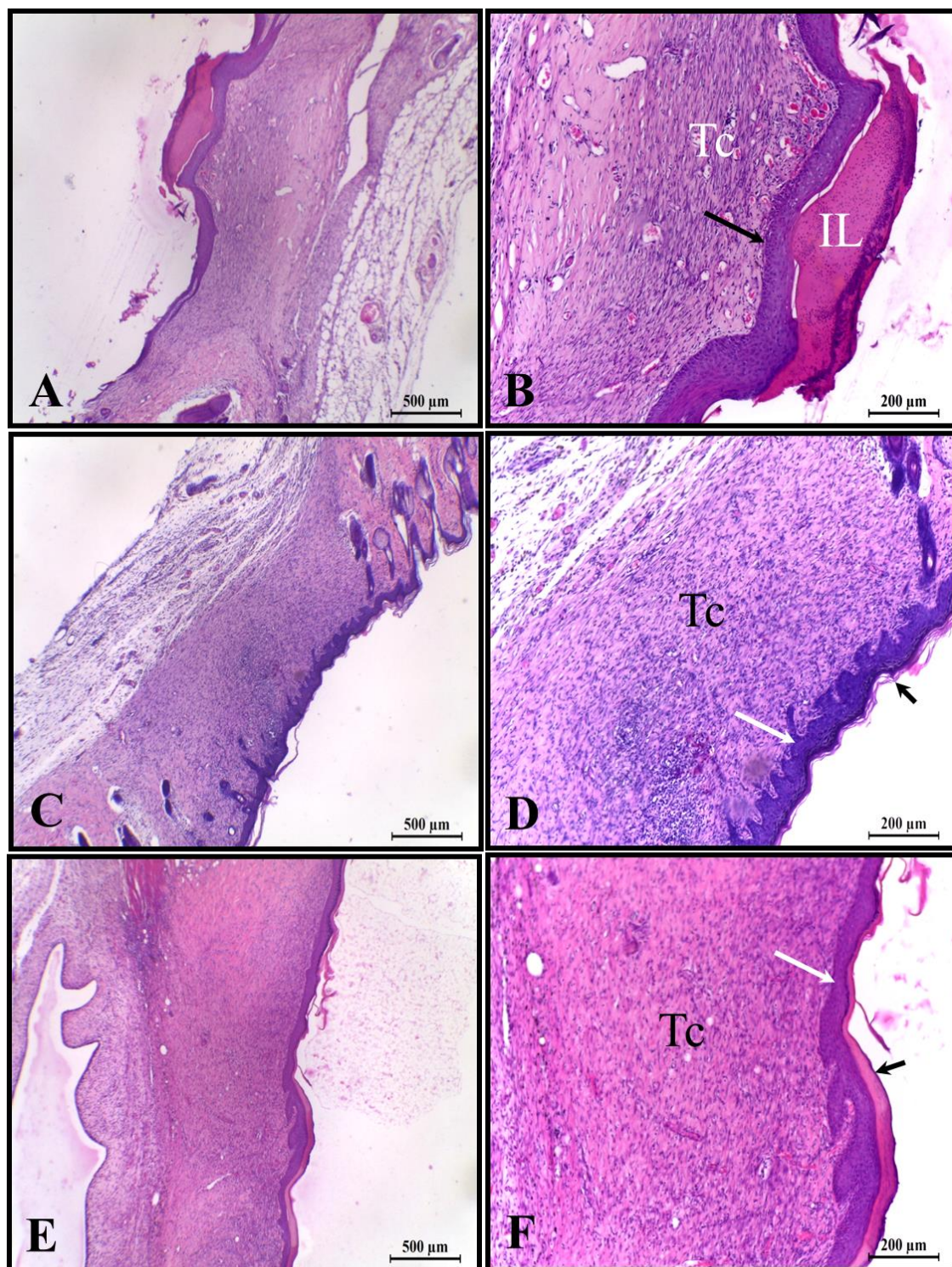


Figura 7: Fotomicrografia de feridas cutâneas nos animais SHR avaliadas após 14 dias de tratamento. (A-B) Controle; (C-D) Kollagenase®; (E-F) Cramoll. Notar na região onde eram as feridas a presença de infiltrado leucocitário (IL) apenas no grupo Controle, tecido conjuntivo (Tc) em todos os grupos, reepitelização (seta longa) e queratinização (seta curta) no grupo Kollagenase® e recuperação total da pele no grupo Cramoll. H.E.

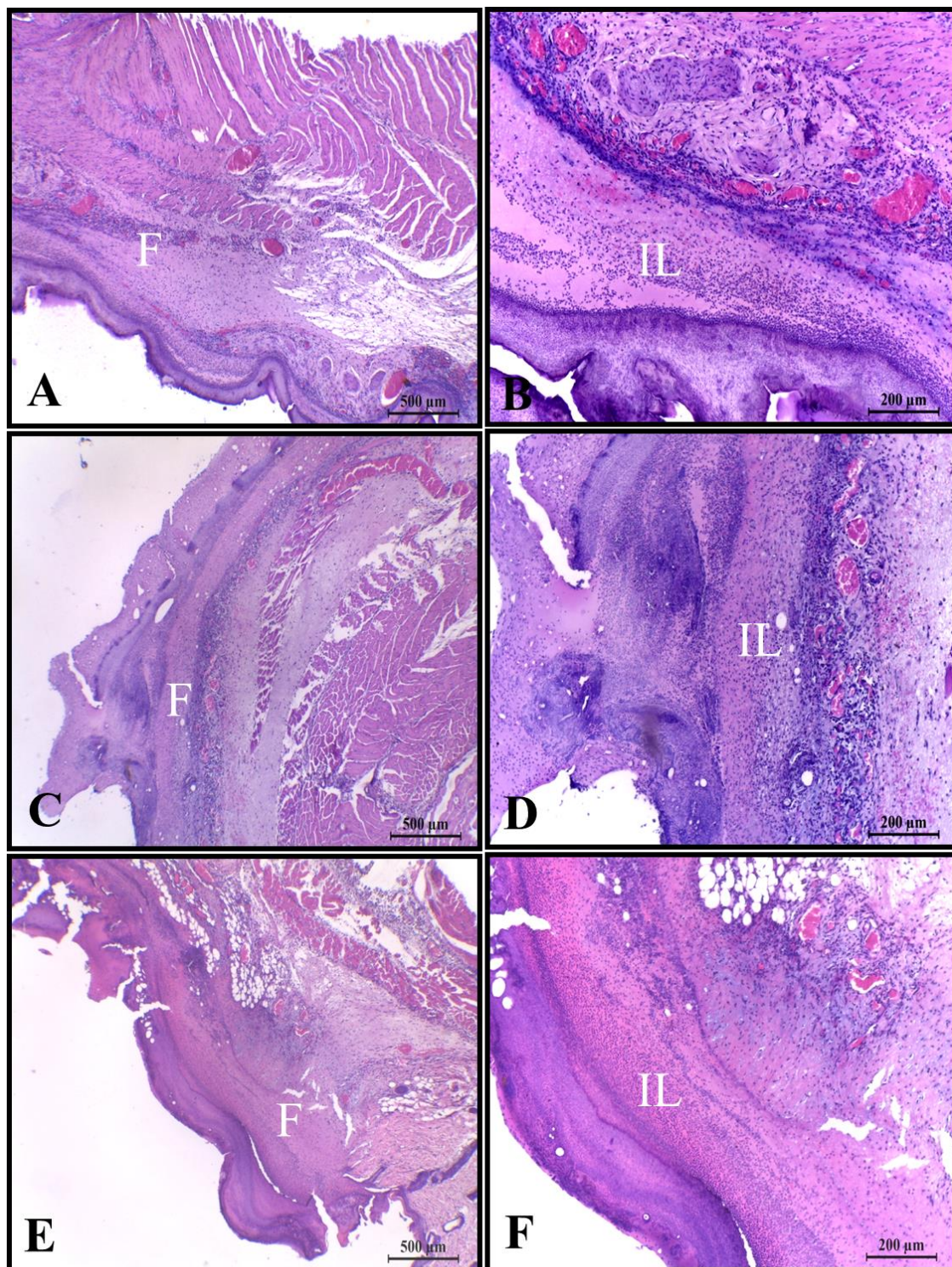


Figura 8: Fotomicrografia de feridas cutâneas nos animais SHR+Diabetes avaliadas após 3 dias de tratamento. (A-B) Controle; (C-D) Kollagenase®; (E-F) Cramoll. Notar nas feridas (F) a presença de tecido de infiltrado leucocitário (IL) em todos os tratamentos. H.E.

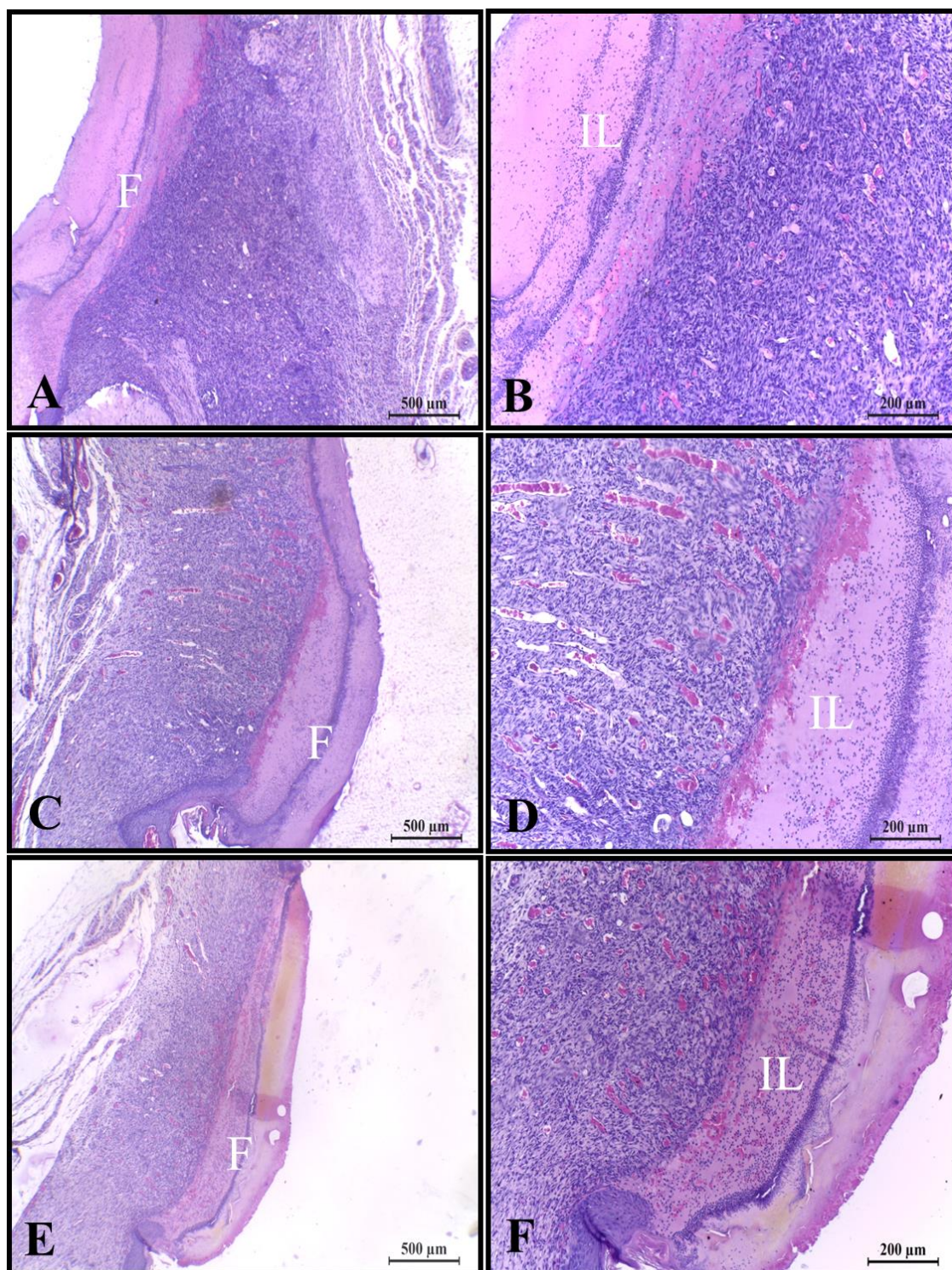


Figura 9: Fotomicrografia de feridas cutâneas nos animais SHR+Diabetes avaliadas após 9 dias de tratamento. (A-B) Controle; (C-D) Kollagenase®; (E-F) Cramoll. Notar nas feridas (F) a presença de tecido de infiltrado leucocitário (IL) em todos os tratamentos. H.E.

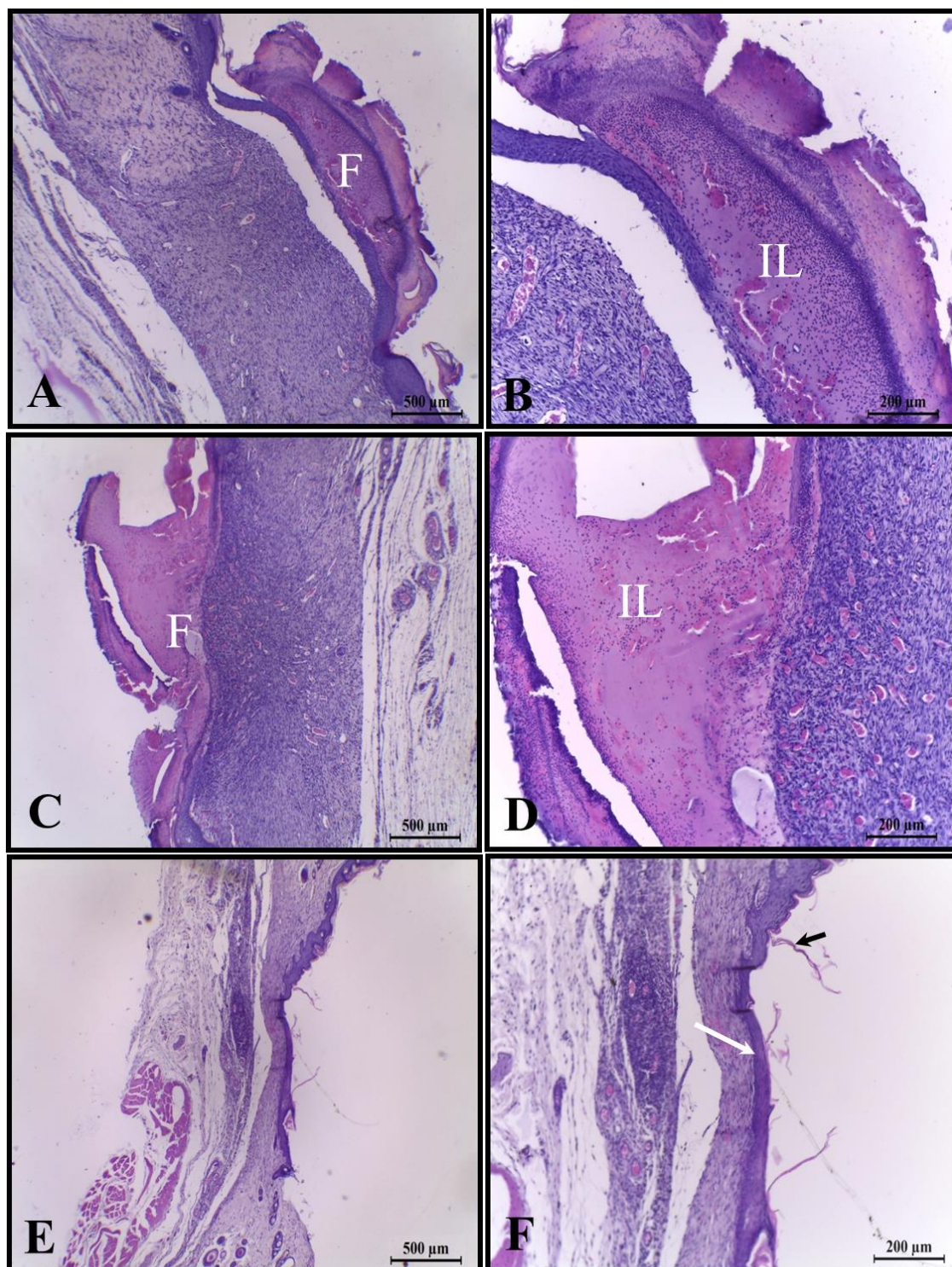


Figura 10: Fotomicrografia de feridas cutâneas nos animais SHR+Diabetes avaliadas após 14 dias de tratamento. (A-B) Controle; (C-D) Kollagenase®; (E-F) Cramoll. Notar nas feridas (F) a presença de tecido de infiltrado leucocitário (IL) apenas nos grupos Controle e Kollagenase®, e no grupo Cramoll reepitelização (seta longa), queratinização (seta curta) H.E.

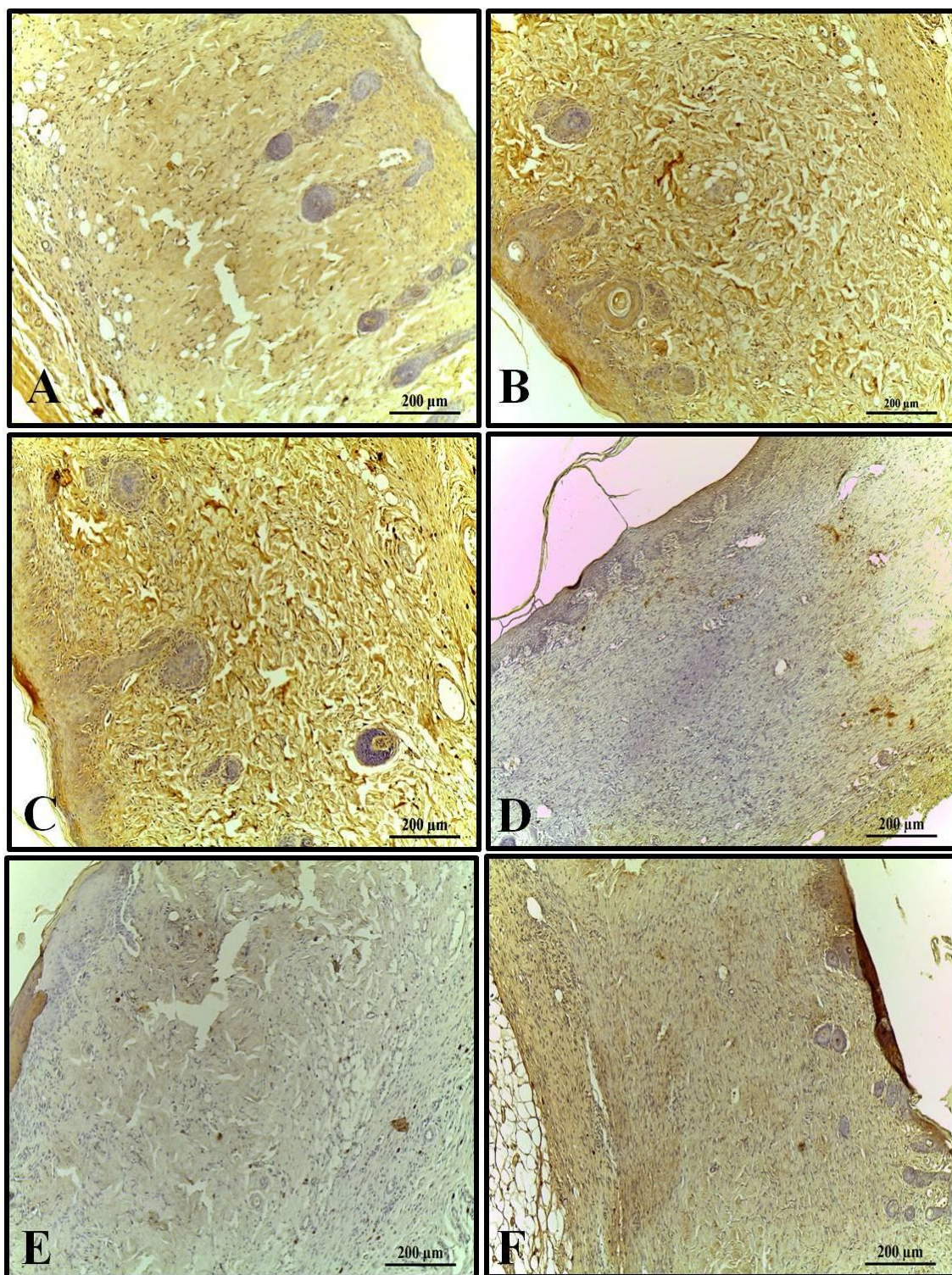


Figura 11: Imunohistoquímica para o colágeno III nas feridas cutâneas nos animais SHR: 9 dias - (A) Controle, (B) Kollagenase® e (C) Cramoll; 14 dias - (D) Controle, (E) Kollagenase® e (F) Cramoll. Notar forte marcação em todos os tratamentos aos 9 dias e fraca aos 14 dias.

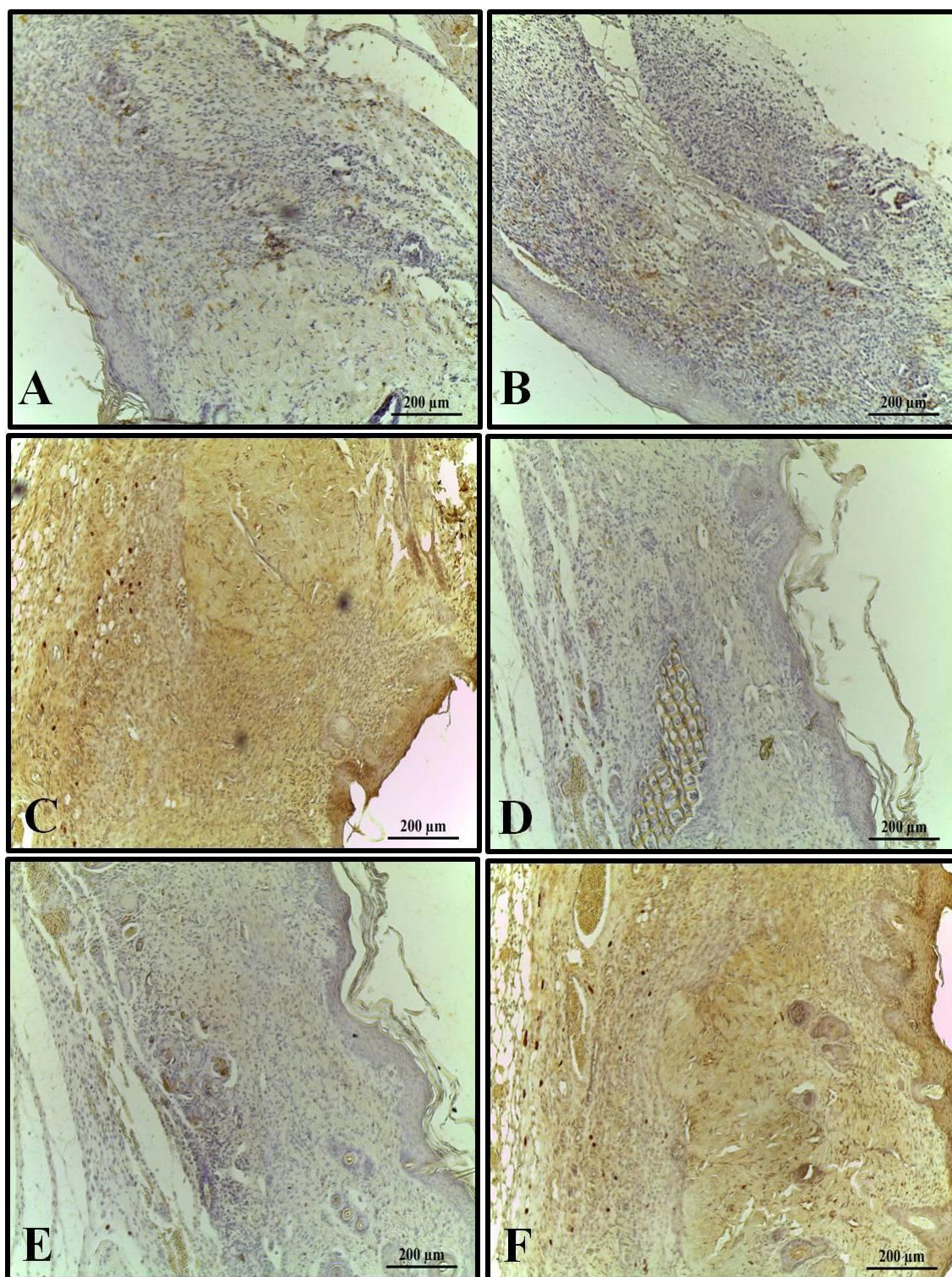


Figura 12: Imunohistoquímica para o colágeno III nas feridas cutâneas nos animais SHR + Diabetes: 9 dias - (A) Controle, (B) Kollagenase® e (C) Cramoll; 14 dias - (D) Controle, (E) Kollagenase® e (F) Cramoll. Notar forte marcação apenas no tratamento Cramoll aos 9 e 14 dias.

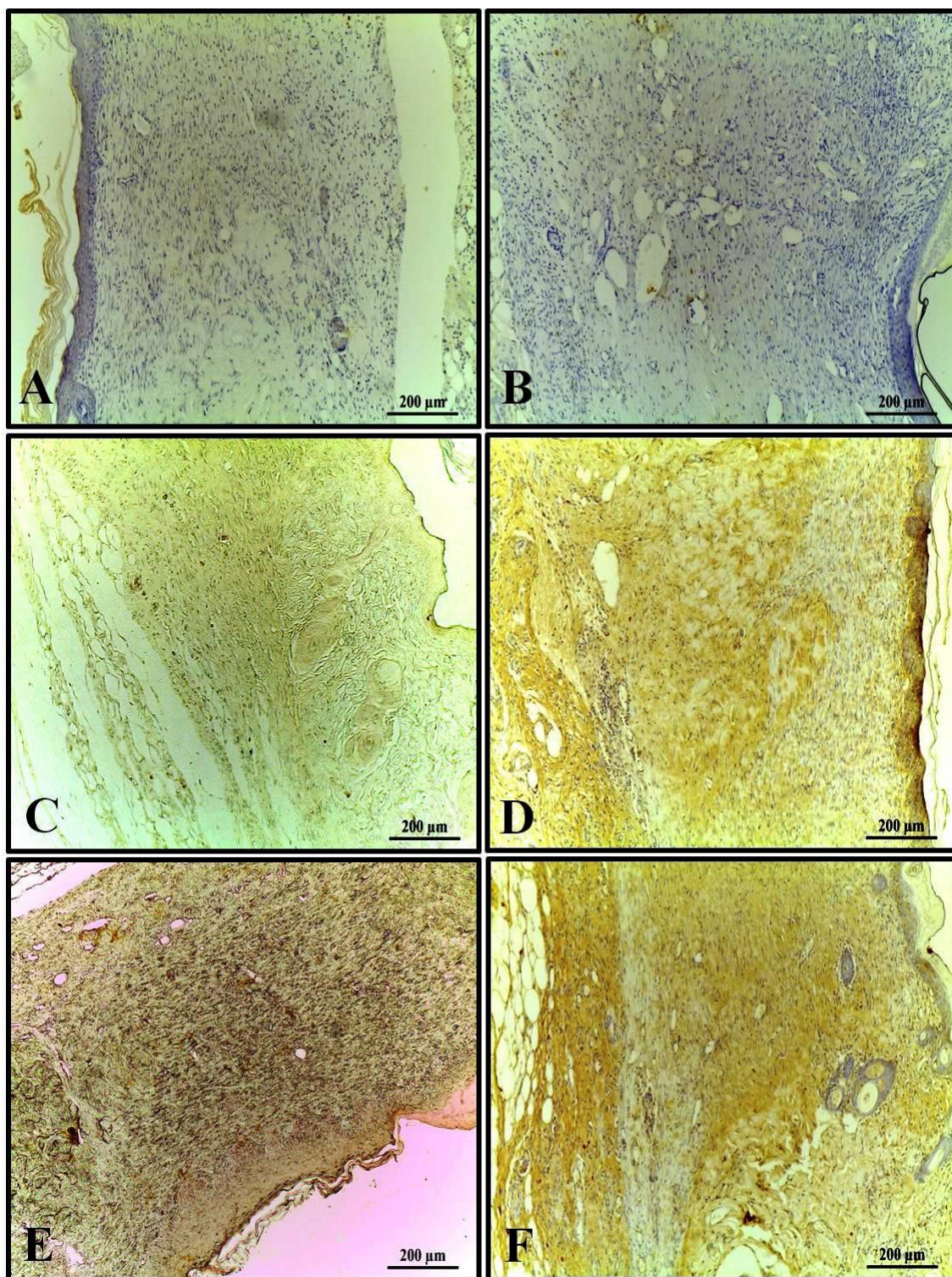


Figura 13: Imunohistoquímica para o colágeno I nas feridas cutâneas nos animais SHR: 9 dias - (A) Controle, (B) Kollagenase® e (C) Cramoll; 14 dias - (D) Controle, (E) Kollagenase® e (F) Cramoll. Notar marcação apenas no tratamento Cramoll aos 9 e em todos os tratamentos aos 14 dias.

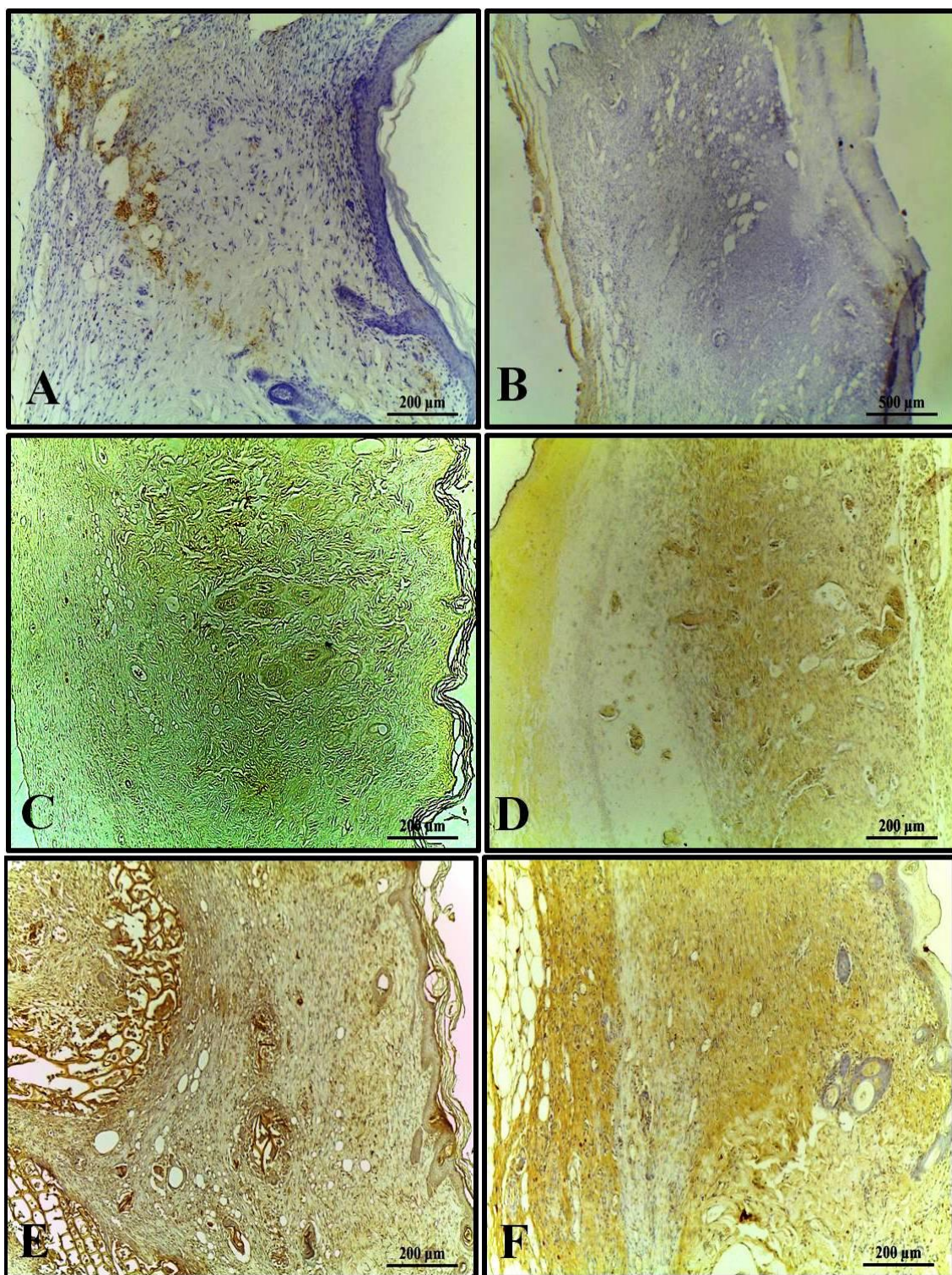


Figura 14: Imunohistoquímica para o colágeno I nas feridas cutâneas nos animais SHR + Diabetes: 9 dias - (A) Controle, (B) Kollagenase® e (C) Cramoll; 14 dias - (D) Controle, (E) Kollagenase® e (F) Cramoll. Notar marcação apenas no tratamento Cramoll aos 9 e em todos os tratamentos aos 14 dias, sendo mais forte no Cramoll.

ARTIGO III

Atividade cicatrizante de lectinas em feridas cutâneas de animais normais,
diabéticos e hipertensos: uma revisão de literatura

Fernanda M. de Andrade¹, Welma E. da Silva², Jannyson J. Jandú¹, Luana C. B.
B. Coelho¹, Maria T. S. Correia^{1*}

¹Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901
Recife, PE, Brasil.

²Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de
Pernambuco, 52171-900 Recife, PE, Brasil.

*Autor correspondente. Tel.: +55 (81) 2126-8540. E-mail: mtscorreia@gmail.com
(Maria T. S. Correia). Endereço: Avenida Professor Moraes Rego, Universidade
Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Departamento de Bioquímica,
Laboratório de Glicoproteínas.

RESUMO

As lectinas são proteínas que se ligam reversivelmente a carboidratos específicos, e, devido a essa particularidade, apresentam várias atividades biológicas quando se encontram na superfície celular. Essas biomoléculas vêm sendo empregadas em várias pesquisas na área biotecnológica, entre elas se destaca a aplicação de lectinas na cicatrização de feridas cutâneas, onde alguns trabalhos demonstram que essas biomoléculas possuem atividades importantíssimas, capazes de acelerar o processo cicatricial. A cicatrização é um evento celular e bioquímico que ocorre com o objetivo de reestabelecer o tecido lesado e conseqüentemente a homeostasia, porém existem disfunções sistêmicas, como o diabetes e a hipertensão, que promovem uma ruptura nos eventos cicatriciais, interferindo negativamente na regeneração tecidual, e caracterizando uma ferida de difícil cura. O objetivo deste artigo de revisão foi analisar os efeitos do diabetes e da hipertensão arterial na cicatrização de feridas cutâneas, e fazer um levantamento bibliográfico sobre a utilização e os efeitos de lectinas na cicatrização de feridas cutâneas.

Palavras-chave: Feridas de difícil cura; Cicatrização. Diabetes mellitus. Hipertensão. Proteínas.

1. Introdução

A pele é um órgão que atua como primeira barreira física de defesa contra os mais variados tipos de agentes agressores, como microrganismos infecciosos e toxinas do meio externo (GÁL et al., 2011; BOTTING et al., 2017; TALAGAS et al., 2019) sendo fundamental para a manutenção da homeostase. Diversos estímulos podem quebrar a continuidade física da pele podendo levar a limitações funcionais, infecções, complicações sistêmicas e diminuição da qualidade de vida, fazendo com que um processo de cicatrização eficiente seja de grande importância (BAUM; ARPEY, 2005; SETH et al., 2012).

A cicatrização cutânea de feridas é um processo fisiológico que consiste em uma sequência de eventos moleculares e celulares que ocorrem após o início de uma lesão tecidual, com a finalidade de restaurar o tecido danificado (GONZALEZ et al., 2016). A cascata de reações bioquímicas e celulares desencadeadas nesse processo são agrupadas em quatro fases que são independentes, porém se sobrepõem: hemostasia, inflamação, proliferação e remodelação (MORTON; PHILLIPS, 2016).

A evolução temporal, organizada e sobreposta destas fases constitui o protótipo da cicatrização fisiológica de uma ferida aguda (LAUREANO; RODRIGUES, 2011). No entanto, fatores como idade, nutrição, disfunção endotelial e algumas doenças crônicas podem influenciar no processo de reparo tecidual (PINTO et al., 2009; KOLLURU; BIR; KEVIL, 2012). Estudos envolvendo humanos e modelos animais revelam que em indivíduos diabéticos e hipertensos essas fases podem sofrer alterações e o reparo tecidual é prejudicado ou retardado (BIONDO-SIMÕES et al., 2006; ANDRADE et al., 2013), fazendo com que feridas cutâneas nesses pacientes sejam de difícil tratamento e apresentem uma alta taxa de recorrência.

Atualmente, diversos estudos têm buscado alternativas terapêuticas não tóxicas e sustentáveis capazes de favorecer o processo cicatricial. Neste contexto, evidências científicas tem mostrado que lectinas têm se mostrado capazes de potencializar o processo de cicatrização cutânea experimental (PORTO et al., 2006). As lectinas são glicoproteínas de origem não imunológica, presentes em

todas as classes e famílias de organismos, que possuem a capacidade de se ligar a mono ou oligosacarídeos de forma reversível (SOUZA et al, 2001).

Segundo Spector (2001), biomateriais têm sido alvo de estudos a fim de atribuir efeitos terapêuticos, devido a sua disponibilidade na natureza, por sua biodegradabilidade e pela capacidade de interagir com sistemas biológicos sem induzirem uma resposta adversa ao hospedeiro, propriedades não atingidas pelos materiais convencionais. Assim, esta revisão destaca a ação de lectinas no processo de cicatrização de feridas cutâneas experimentais de ratos e camundongos, dando ênfase a sua possível aplicabilidade em portadores de diabetes mellitus e hipertensão arterial.

2. Cicatrização de feridas cutâneas

Feridas cutâneas são definidas como qualquer rompimento que leve a descontinuidade da pele. Elas podem surgir em decorrência de um trauma (mecânico, físico ou químico), procedimentos cirúrgicos, insuficiência vascular e também de condições médicas subjacentes, como diabetes, hipertensão, doenças reumatológicas e inflamatórias (MORTON; PHILLIPS, 2016).

Quando a pele é lesionada, ocorre uma cascata de reações celulares e bioquímicas, iniciando dessa forma o processo cicatricial (LIMA; ARAÚJO, 2013), que tem como objetivo evitar o extravasamento de sangue e reparar a ferida. Segundo Borges et al. (2010) a cicatrização pode ocorrer de três formas:

1. Primeira intenção: quando não há perda de tecido e as extremidades da pele ficam justapostas uma à outra, como ocorre, por exemplo, nas feridas decorrentes de procedimentos cirúrgicos;
2. Segunda intenção: quando há perda de tecido e as extremidades da pele ficam distantes uma da outra, sendo necessária a formação de tecido de granulação, contração e a reepitelização da ferida;
3. Terceira intenção: quando há fatores que interferem no processo, retardando a cicatrização, como infecção, isquemia (causando má nutrição e baixa perfusão de oxigênio nos tecidos), doenças endócrinas como diabetes e obesidade, terapia em curso com glicocorticoides, radioterapia e quimioterapia.

Após a ocorrência de uma ferida, inicia-se o extravasamento sanguíneo que preenche a área da ferida com plasma e elementos celulares, principalmente plaquetas (EMING; KRIEG; DAVIDSON, 2007). As plaquetas se ligam as fibras de fibrina para que ocorra a formação do coágulo, impedindo a hemorragia (NANDI et al., 2019), reestabelecendo a hemostasia e formando uma barreira contra a invasão de microrganismos. O coágulo se torna mais consistente conforme a fibrina vai se polimerizando pelas vias da coagulação (WERNER; GROSE, 2003).

O coágulo serve como alicerce para a migração de células (SUN; SIPRASHVILI; KHAVARI, 2014), pois a ativação plaquetária libera mediadores quimiotáticos que vão promover a migração de células inflamatórias para o local da ferida (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005) objetivando evitar infecções e iniciando a fase inflamatória. Induzidas pela trombina, as plaquetas sofrem degranulação, e liberam vários fatores de crescimento, como por exemplo: fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de crescimento transformante- α (TGF- α), fator de crescimento transformante- β (TGF- β), fator de crescimento epidérmico (EGF) e o fator de crescimento de células endoteliais (VEGF). Além disso, também são liberadas glicoproteínas adesivas como a fibronectina e trombospondina, que são importantes constituintes da matriz extracelular provisória (STREIT et al., 2000).

Neutrófilos e macrófagos também são atraídos ao leito da ferida em resposta aos agentes quimiotáticos das plaquetas (CLARK, 2002). Essas células são as predominantes da fase inflamatória (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005), fagocitando e digerindo bactérias e restos celulares. Além disso, os macrófagos secretam fatores quimiotáticos que atraem outras células inflamatórias e produzem prostaglandinas, que funcionam como potentes vasodilatadores, afetando a permeabilidade dos microvasos (ARNOLD; WEST, 1991; EMING et al., 2007).

Os macrófagos também produzem diversos fatores de crescimento, tais como PDGF, TGF- β , EGF, fator de crescimento de fibroblastos (FGF) e VEGF. Esses se destacam como as principais citocinas necessárias para estimular a formação do tecido de granulação (SINGER; CLARK, 1999), pois atraem para o

local da ferida fibroblastos e queratinócitos e os induzem a proliferação (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005; DICKINSON; GERECHT, 2016), iniciando assim, a fase proliferativa.

A fase proliferativa se caracteriza pela formação de um tecido de granulação contendo células inflamatórias, fibroblastos e vasos sanguíneos neoformados em uma matriz de colágeno frouxa. É responsável pelo fechamento da ferida e compreende reepitelização, fibroplasia e angiogênese (ISAAC et al., 2010). A proliferação epitelial inicia-se por estimulação mitogênica e quimiotática dos queratinócitos pelo TGF- α e EGF (DVORAK, 2002). Essas células migram das bordas da ferida e multiplicam-se, reestruturando as camadas da epiderme e promovendo a reepitelização tecidual (ISAAC et al., 2010).

A angiogênese ocorre a partir de vasos íntegros adjacentes à ferida, que são responsáveis por fornecer oxigênio e nutrientes para a cicatrização. Simultaneamente ocorre deposição e proliferação de fibroblastos sobre a rede de fibrina formando um tecido frouxo, denominado tecido de granulação. Os fibroblastos secretam elastina, fibronectina, glicosaminoglicanos, proteases e colágeno, principalmente colágeno tipo III, os quais são responsáveis pela regeneração tecidual (MANDELBAUM; DI SANTIS; MANDELBAUM, 2003; ISAAC et al., 2010).

A fase de remodelação envolve um minucioso e organizado equilíbrio entre degradação e formação de matriz (ACKERMANN, 2009), que, é marcada por maturação dos elementos e alterações na matriz extracelular (MEC), ocorrendo o depósito de proteoglicanos e colágeno (GABBIANI, et al., 1972). Influenciada por citocinas e fatores de crescimento, a matriz de colágeno é continuamente degradada, resintetizada, reorganizada e reestabilizada (KARUKONDA et al., 2000; ACKERMANN, 2009). Nessa fase, surgem as primeiras fibras de colágeno tipo I, o qual é mais resistente e espesso em substituição ao colágeno tipo III depositado durante a fase proliferativa (ACKERMANN, 2009; ISAAC et al., 2010).

O colágeno é uma proteína fibrosa insolúvel de função estrutural, que aumenta com uma taxa relativamente constante a partir do 3º dia de cicatrização (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017). Essa proteína é classificada em diferentes

grupos, conforme sua sequência de aminoácidos. Os colágenos presentes na derme são os tipos I e III. Em um tecido normal cerca de 90% é colágeno tipo I e 10% colágeno tipo III, mas quando o tecido é lesado, o tipo III predomina na fase proliferativa, porém na fase de remodelação é substituído ao longo do processo de reparo tecidual por fibras do tipo I (OLIVEIRA; DIAS, 2012; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017).

Na fase mais tardia, os fibroblastos do tecido de granulação transformam-se em miofibroblastos comportando-se como um tecido contrátil responsivo aos agonistas que estimulam o músculo liso. Ocorre, concomitantemente, reorganização da matriz extracelular, que se transforma de provisória em definitiva (GABBIANI et al., 1972). Assim que a demanda metabólica do processo de cicatrização diminui, a alta rede de capilares, fibroblastos e células inflamatórias desaparecem do local da ferida mediante processos de emigração e apoptose (ARNOLD; WEST, 1991; ACKERMANN, 2009). Esse fato leva à formação de cicatriz com reduzido número de células. Por outro lado, se persistir a celularidade no local, ocorrerá a formação de cicatrizes hipertróficas ou queloides. As principais citocinas envolvidas nessa fase são: fator de necrose tumoral (TNF- α), interleucina-1 (IL-1), PDGF e TGF- β produzidas pelos fibroblastos, além das produzidas pelas células epiteliais como EGF e TGF- β (KARUKONDA et al., 2000).

Fatores de crescimento, são essenciais para o processo de reparo tecidual, pois estes são proteínas que estimulam e ativam a proliferação celular mediante a ativação de reações (angiogênese, mielogênese e transcrição genética) que ativam e aceleram o processo de cicatrização (SENGUPTA et al., 2015; MASI et al., 2016). Eles agem de maneira a inibir ou estimular a expressão gênica das células-alvo na ferida, regulando os processos de proliferação, diferenciação, migração e aderência celular (DINH et al., 2015), além de estimular a angiogênese e a síntese da matriz extracelular (REINKE; SORG, 2012).

Eles estão envolvidos nas etapas supracitadas do processo de cicatrização e os mais importantes são: fator de crescimento epitelial (EGF), fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de crescimento vascular

endotelial (VEGF), fator de crescimento de fibroblastos (FGF) e fator de crescimento insulínico (IGF) (MASI et al., 2016). A deficiência desses fatores causam uma deficiência na cicatrização de feridas, seja pela síntese diminuída e/ou degradação excessiva, podendo acarretar ulcerações crônicas na pele (TRAVI-CARNEIRO et al., 2013; DINH et al., 2015), quadro clínico bastante comum em diabéticos e hipertensos.

3. Cicatrização em indivíduos diabéticos e hipertensos

O diabetes mellitus (DM) é um distúrbio metabólico crônico caracterizado pelo aumento da concentração de glicose no sangue (hiperglicemia) (OGURTSOVA, et al., 2017), devido a um defeito na secreção de insulina e/ou quando o corpo não pode usá-la de maneira efetiva (RADENKOVIĆ; STOJANOVIĆ; PROSTRAN, 2016).

Indivíduos diabéticos apresentam um risco maior de morbidade e mortalidade do que a população geral (OGURTSOVA, et al., 2017), pois o diabetes, mesmo quando tratado corretamente, pode levar a complicações, além de diminuir a qualidade de vida do indivíduo e aumentar os custos médicos devido a necessidade do paciente ficar hospitalizado (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2017). Um dado preocupante é que em 2017 existiam cerca de 425 milhões de diabéticos no mundo (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2017), e de acordo com Ogurtsova et al. (2017) esse número vai subir para 642 milhões até 2040.

Trata-se de uma das principais causas de cardiopatias, retinopatias, nefropatias e neuropatias, porque altos níveis de glicose no sangue aumenta o estresse oxidativo, devido à produção excessiva de radicais livres ou da redução das defesas antioxidantes, causando danos vasculares generalizados (GIACCO; BROWNLEE, 2010; DeFRONZO et al., 2015). Além disso, o diabetes também é apontado como principal condição que aumenta as possibilidades de amputação de membros inferiores devido à deficiência no processo cicatricial, e na gestação, quando mal controlado, está associado a complicações materno-fetais importantes (DeFRONZO et al., 2015; MIRANDA et al., 2017), como pré-eclâmpsia, distocia de

ombro, macrosomia e mortalidade perinatal (GRACIA; OLMEDO, 2017).

Nos indivíduos diabéticos, vários mecanismos são apontados como fatores que interferem na cicatrização, entre eles estão: a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROs), diminuição do óxido nítrico (NO) e diminuição da resposta aos fatores de crescimento (GFs) (BREM; TOMIC- CANIC, 2007; KOLLURU; BIR; KEVIL, 2012). O excesso de EROs é denominado estresse oxidativo, e pode causar danos celulares (ILANGO; CHITRA, 2010). O óxido nítrico é necessário na cicatrização porque contribui com os mecanismos de defesa do organismo, pois dilata os vasos sanguíneos permitindo um fluxo maior de células de defesa no local da ferida (FLORA FILHO; ZILBERSTEIN, 2000), dessa forma, sua redução deixa a ferida vulnerável a infecções. A diminuição da resposta celular e dos fatores de crescimento afeta a proliferação celular que é necessária para que ocorra a reepitelização (SANTORO; GAUDINO, 2005).

Além disso, diabéticos apresentam redução nos níveis plasmáticos de fibronectina, de linfócitos e imunoglobulinas, e diminuição da formação da matriz provisória (FEJFAROVA et al., 2016). Há uma resposta inflamatória *in situ* prolongada devido aos altos níveis de citocinas pró-inflamatórias, o que leva ao aumento de metaloproteinases, degradação marcante da matriz e apoptose (BLAKYTNY; JUDE, 2006). A angiogênese também pode ser retardada ou prejudicada, levando à privação de oxigênio e nutrientes, fibroblastos reduzidos, deficiência na migração de queratinócitos e início tardio do fenótipo de miofibroblastos com diminuição do depósito de colágeno tipo I (EBAID et al., 2013).

Fatores de crescimento (GFs), essenciais para o processo cicatricial, também estão deficientes em indivíduos diabéticos (MOURA et al., 2013). Em consonância com a hiperglicemia crônica, resultante de defeitos na secreção e/ou ação da insulina, alterações vasculares periféricas e formação de úlceras na pele são comuns nesses indivíduos (KOLLURU; BIR; KEVIL, 2011; TORRES-VALENZUELA et al., 2015). Essas feridas são decorrentes do processo ineficiente de cura das feridas em indivíduos diabéticos, já que tal processo é complexo e envolve várias etapas (coagulação, inflamação, proliferação, reepitelização e

remodelamento), que necessitam da participação de uma grande variedade de GFs e citocinas (MOURA et al., 2013).

Dessa forma, GFs são citados na literatura como importantes coadjuvantes no tratamento das úlceras diabéticas (TRAVI-CARNEIRO et al., 2013), feridas responsáveis por grande prevalência de amputações em pés de pacientes com DM (TORRES-VALENZUELA et al., 2015). A aplicação de géis ricos em fatores de crescimento e plasma rico em plaquetas vem demonstrando eficácia na cicatrização de feridas, uma vez que estimulam as diferentes fases do processo de cicatrização, diminuindo assim o tempo de fechamento da ferida e possíveis complicações dessas lesões (SZWED; SANTOS, 2015).

A Hipertensão arterial (HA) é a condição clínica multifatorial caracterizada por elevação sustentada dos níveis pressóricos ≥ 130 (pressão arterial sistólica) e/ou 80 (pressão arterial diastólica) mmHg (AMERICAN HEART ASSOCIATION, 2017), diferindo do padrão anterior de 140/90 (MALACHIAS et al., 2016). Frequentemente se associa a distúrbios metabólicos, alterações funcionais e/ou estruturais de órgãos-alvo, sendo agravada pela presença de outros fatores de risco, como dislipidemia, obesidade, intolerância à glicose e diabetes melitus (MENDIZÁBAL; LLORENS, NAVA, 2013; WEBER et al., 2014).

No Brasil, a HA atinge 36 milhões de indivíduos adultos, principalmente a população idosa (mais de 60%), sendo fator de risco para insuficiência cardíaca, doença arterial coronariana e acidente vascular cerebral, com altas taxas de morbidade e mortalidade (SCALA; MAGALHÃES; MACHADO, 2015; JAWORSHA et al., 2017). Além disso, estudos relatam que hipertensos têm o processo de cicatrização prejudicado (CLARK, 2002; BIONDO-SIMÕES et al., 2006; COELHO et al., 2010).

Fawcett et al. (1996) sugeriram que o déficit de cicatrização em hipertensos ocorre devido a alterações microvasculares, causada pela hipertensão arterial, levando a um fluxo sanguíneo reduzido no local da anastomose colônica. As alterações microvasculares da hipertensão arterial não se limitam apenas à microvasculatura colônica, mas também ocorrem na tela subcutânea. Nesta, provoca redução do lúmen das artérias devido ao aumento

da espessura da camada média da parede do vaso (KORSGARRD et al., 1993; ZANCHI; BRUNNER; HAYOZ, 1997; BIONDO-SIMÕES et al., 2006), gerando um estado de hipóxia tecidual (CLARK, 2002). É importante salientar que o aumento na espessura da camada media do vaso não ocorre devido a hipertrofia e hiperplasia dos miócitos, mas devido a um rearranjo das células musculares lisas na parede arterial (KORSGAARD et al., 1993).

A hipóxia tecidual é um fator sistêmico que interfere na cicatrização e que se constitui na privação dos nutrientes e do oxigênio necessários para as células, que são levados através do sistema microcirculatório. A hipóxia diminui a deposição de colágeno, inibe a atividade fagocitária e pode levar a proliferação de microorganismos pela diminuição da atividade leucocitária (CLARK, 2002).

Além de alterações microvasculares, a hipertensão reno-vascular promove alterações significativas no sistema renina-angiotensina- aldosterona (SRAA), um dos mais importantes sistemas reguladores para a homeostase cardiovascular (FERNANDES et al., 2016; LAUTNER et al., 2019) e, conseqüentemente, no processo de reparo tecidual de feridas. A angiotensina II é um importante peptídeo do SRAA, desempenha um papel na homeostase cutânea normal, assim como no reparo de ferida cutânea (STECKELINGS et al. 2004; TAKEDA et al., 2004; KAWAKUGHI et al., 2004; STECKELINGS et al., 2005).

A angiotensina II também é responsável por induzir fatores de crescimento, como o fator de crescimento dos fibroblastos (TGF), fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), fator de crescimento transformante de fibroblastos do tipo beta (TGF- β) e fator de crescimento do tecido conjuntivo (CTGF), essenciais para o processo de cicatrização (CHENG et al., 2005). Contudo, a sua atuação em condições anormais gera efeitos deletérios ao sistema cardiovascular, tais como: hipertrofia de miócitos, estímulo à produção de radicais livres e substâncias pró-inflamatórias (TRAPP et al., 2009). Ainda se sabe que quando em excesso, os efeitos da angiotensina II são predominantemente deletérios sobre o endotélio (SANTOS et al., 2000).

4. Lectinas

As lectinas são uma família de proteínas de origem não imunológica e de ocorrência natural, que estão envolvidas em eventos fisiológicos cruciais de interações proteínas-carboidrato, como adesão, migração e interação celular (LI et al, 2011; AHN et al, 2012). Embora tenham sido inicialmente encontradas em plantas, as lectinas estão amplamente distribuídas entre plantas, algas, vírus, microrganismos e animais (HUSKENS et al., 2010; NUNES et al., 2011; SOARES et al., 2011; CHEN; LI, 2013).

A origem não imune das lectinas permite distinguí-las dos anticorpos, que são estruturalmente similares. Diferentemente dos anticorpos, as lectinas apresentam uma grande diversidade estrutural, representada pela variedade de subunidades, peso molecular, composição peptídica e estrutura tridimensional (SOUZA et al., 2003). Desta forma, a caracterização molecular das lectinas envolve a utilização de técnicas bioquímicas e moleculares que permitem a identificação do peso molecular, número de subunidades, estabilidade térmica e especificidade glicídica (FERNANDES et al., 2012; MARTIN; CHANNE, 2020).

A lectina liga-se com o ligante através de seus sítios de ligação com o açúcar do ligante. Os sítios de ligação das lectinas normalmente se encontram na superfície da molécula e interage com a parte glicídica do ligante por meio de ligações químicas fracas (SOUZA et al., 2003). Estudos estruturais com lectinas têm sido conduzidos, como forma de aprofundar a compreensão das interações entre essas proteínas e seus ligantes com o objetivo de conhecer a atividade biológica dessas moléculas e para obter novas ferramentas biotecnológicas (NASCIMENTO et al., 2012).

A disponibilidade de uma grande variedade de lectinas na natureza e a capacidade em reconhecer e se ligar a carboidratos de forma específica e reversível (SILVA et al., 2019) tem tornado esta classe de proteínas alvo de diversos estudos biotecnológicos, tais como: tipagem de células sanguíneas (DAM et al., 2011); controle biológico (ALBUQUERQUE et al., 2012); antimicrobiano (CHARUNGCHITRAK et al., 2011), purificação de várias glicoproteínas (ARAÚJO

et al., 2012), como ferramentas para sistemas de liberação de drogas em mucosas (SINGH et al., 2011) e atividade antiviral (TAKEBE et al., 2013).

As lectinas também têm sido amplamente empregadas em glicoanálises, para elucidação de alterações em glicanos relacionadas à determinada condição fisiológica e patológicas (COELHO et al., 2010; WANG et al., 2012; SILVA et al., 2019). Kuno et al. (2011) utilizou uma lectina no monitoramento da fibrose em tecido hepático de pacientes cirróticos ou com hepatite crônica. Por haver expressão de monossacarídeos específicos em células tumorais e pela especificidade pelo qual as lectinas reconhecem glicanos, estudos têm mostrado que algumas lectinas, podem ser empregadas na identificação de alterações em diversas fases de transformação tumoral (ASHRA et al., 2015; DAN; LIU, 2016; SILVA et al., 2019), podendo ser utilizadas no desenvolvimento de diagnóstico e prognóstico do câncer (LAM; Ng, 2011; GHAZARIAN et al., 2011; SILVA et al., 2019). Além disso, ensaios clínicos tem mostrado que a utilização de lectinas podem resultar em morte programada de células cancerígenas por diferentes vias, indicando possíveis implicações terapêuticas anticancerígenas (FU et al., 2011).

Novas direções de pesquisa nos últimos anos levaram a grandes desenvolvimentos no uso de lectinas. Dessa forma, as lectinas representam uma classe de biomoléculas com grande perspectiva biotecnológica, não apenas como reagentes para diagnóstico, mas como uma nova classe de produtos biofarmacêuticos (NASCIMENTO et al., 2012).

5. Lectinas e cicatrização

Devido à complexidade patológica e fisiológica do processo de cicatrização, a perfeita regeneração dos tecidos é difícil de ser alcançada. Nos casos em que as feridas são de difícil cura, os métodos de tratamento convencionais incluem o uso de antibióticos, enxertos de tecidos e enzimas proteolíticas, com grandes desvantagens e efeitos colaterais indesejados (MONTES et al., 2009; MENDONÇA; COUTINHO-NETTO, 2009). Diante disto, o uso de bioprodutos tem sido sugerido como alternativa promissora devido a características como biocompatibilidade, biodegradabilidade, grande disponibilidade na natureza e pela

capacidade de interagir com sistemas biológicos sem induzirem uma resposta adversa ao hospedeiro (SPECTOR, 2001; NETA et al., 2019).

As lectinas são um grupo estruturalmente heterogêneo de proteínas que, devido à participação em processos biológicos importantes (MELO et al., 2010; GOMES et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2013; MUKHERJEE et al., 2014), têm sido sugeridas como um biomaterial com potencial efeito farmacológico no processo de reparo de feridas cutâneas (MELO et al., 2011; CORIOLANO et al., 2014). Neste contexto, diversos estudos vêm avaliando o efeito das lectinas no processo cicatricial de feridas cutâneas, induzidas experimentalmente (Tabela 1).

Tabela 1. Atuação de lectinas na cicatrização de feridas cutâneas.

Lectina	Origem; Apresentação; Administração	Atuação na cicatrização	Modelo experimental
Artin M (KIM et al., 2013)	Sementes de <i>Artocarpus heterophyllus</i> ; Livre; Tópica.	No 3º dia apresentou tecido de granulação associado a intenso infiltrado inflamatório, tecido necrótico, camada superficial que cobre a ferida e neovascularização e migração do epitélio na borda da lesão; no 5º dia observou-se uma fina camada epitelial e menor área de tecido de granulação; no 7º dia apresentou células inflamatórias, fibras colágenas organizadas, fibroplasia e remodelação tecidual.	Feridas na mucosa oral em ratos Wistar saudáveis
BSL (NASCIMENTO- NETO et al., 2012)	Alga <i>Bryothamnion seaforthii</i> ; Livre; Tópica.	Apresentou perfil pró-inflamatório, maior edema e hiperemia, maior retração da ferida nas fases inflamatória e proliferativa, promoveu uma efetiva remodelação das feridas apresentando densas fibras colágenas na derme e vasos sanguíneos.	Feridas cutâneas em camundongos Swiss albino saudáveis
Cramoll (MELO et al., 2011)	Sementes de <i>Cratylia mollis</i> ; Livre; Tópica.	Apresentou perfil pró-inflamatório, maior edema e maior recrutamento de células polimorfonucleares para o leito da ferida; maior deposição de tecido de granulação e de fibras colágenas; excelente reepitelização.	Feridas cutâneas em camundongos Swiss albino saudáveis e imunocomprometidos
Cramoll (PEREIRA et al., 2012)	Sementes de <i>Cratylia mollis</i> ; Imobilizada em hidrogel de carbopol; Tópica.	No 7º dia apresentou exsudato intenso, necrose e edema; no 14º dia, reepitelização tecidual e autólise moderada; no 21º dia, intensa proliferação fibroblástica, presença de colágeno denso e fibrose moderada; no 28º dia, epitelização tecidual completa; no 35º dia, apresentou colágeno denso modelado. Atuou promovendo a aceleração da retração da ferida a partir do dia 14.	Queimaduras de segundo grau em ratos Wistar saudáveis
Cramoll (ALBUQUERQUE et al. 2017)	Sementes de <i>Cratylia mollis</i> ; Imobilizada em membranas de galactomanana; Tópica.	Promoveu maior retração da ferida no 7º dia de tratamento; edema e hiperemia menos intensos e descolamento acelerado da crosta; atuou estimulando e acelerando a cicatrização, as feridas fecharam completamente aos 11 dias de tratamento.	Feridas cutâneas em ratos Wistar saudáveis

Cramoll (PEREIRA et al., 2019)	Sementes de <i>Cratylia mollis</i> ; Imobilizada em um hidrogel de carbopol; Tópica.	No 7º dia apresentou infiltrado inflamatório moderado e fibrose leve; no 14º dia, autólise intensa, neovascularização, proliferação leve de fibroblastos e intensa fibrose e reepitelização; no 21º dia, colágeno denso não modelado, fibrose moderada; e no 28º dia, epitelização tecidual completa.	Queimaduras de segundo grau em ratos Wistar imunocomprometidos
CrataBL (BATISTA et al., 2019)	Cascas de <i>Crataeva tapia</i> ; Livre; Intravenosa.	Promoveu maior porcentagem de retração da ferida no 4º dia após sua indução, maior número de folículos pilosos e maior densidade vascular.	Feridas cutâneas em camundongos C57BL/6
Emal (BRUSTEIN et al., 2012)	Sementes de <i>Eugenia malaccensis</i> ; Livre; Tópica.	Apresentou sinais inflamatórios (edema e hiperemia) menos intensos que o grupo controle; 33,3% dos animais tratados com Emal apresentaram crosta primária no primeiro dia após a indução da ferida; apresentou reepitelização parcial e completa após 12 dias de tratamento..	Feridas cutâneas em camundongos <i>Swiss albino</i> normais.
Frutalina (SOUSA et al., 2018)	Sementes de <i>Artocarpus incisa</i> ; Imobilizada em hidrogel de galactomanana; Tópica.	Apresentou edema e hiperemia discretos; Entre o 3º e 7º dias apresentou intenso infiltrado inflamatório; no 11º dia, proliferação de fibroblastos e queratinócitos e reepitelização total da área da ferida; 14º início da reorganização das fibras de colágeno.	Feridas cutâneas em camundongos <i>Swiss albino</i> normais
Frutalina (SOUSA et al., 2018)	Sementes de <i>Artocarpus incisa</i> ; Imobilizada em membranas de galactomanana	Promoveu maior retração em relação ao controle no 3º dia; ausência de edema; intensa angiogênese; no 11º dia, reorganização da matriz conjuntiva.	Feridas cutâneas em camundongos <i>Swiss albino</i> normais
PpeL (CORIOLANO et al., 2014)	Sementes de <i>Parkia pendula</i> ; Livre; Tópica.	Promoveu menos edema; e fechamento total da ferida no 11º dia de tratamento.	Feridas cutâneas de camundongos <i>Swiss albino</i> saudáveis e imunocomprometidos
nBVL (NETO et al, 2011)	Sementes de <i>Bauhinia variegata</i> ; Livre; Tópica.	Apresentou efeito pró-inflamatório; após 7 dias observou-se desenvolvimento de hiperplasia epidérmica para reparo epitelial, formação de tecido de granulação ativa com proliferação de tecido adiposo e aglomerados de células ativas; promoveu o fechamento completo das feridas, apresentando valores maiores de retração, porém não significativos, após 12 dias de tratamento.	Feridas cutâneas em camundongos <i>Swiss albino</i> normais
rBVL (NETO et al, 2011)	Isoforma recombinante da nBVL; Livre; Tópica.	Apresentou efeito anti-inflamatório; na fase inflamatória obteve maior retração; após 7 dias apresentou restauração do revestimento epitelial, deposição subepitelial de colágeno e espessamento das fibras colágenas na derme reticular com reestruturação do tecido adiposo.	Feridas cutâneas em camundongos <i>Swiss albino</i> normais

Coriolano et al. (2014) observaram que a lectina PpeL, derivada de sementes de *Parkia pendula* (Fabaceae), promoveu excelente fechamento e

reparo das feridas cutâneas em camundongos *Swiss albino* normais e imunocomprometidos. Estes resultados são consistente com os estudos realizados por Melo et al. (2011), que também descobriram a ação curativa da lectina Cramoll 1,4, (Cramoll) extraída de *Cratylia mollis* (Fabaceae), no reparo de feridas cutâneas em camundongos *Swiss albino* normais e imunossuprimidos. Os resultados de ambos os estudos também comprovaram que a utilização da lectina evitou contaminação das feridas por microrganismos.

As infecções secundárias da pele são frequentemente causadas pela flora transitória, composta principalmente por *Staphylococcus*. A infecção compromete a reepitelização e a deposição de colágeno (SINGER; MCCLAIN, 2002; INNGJERDINGER et al., 2004), retardando a cicatrização (PASTAR et al., 2013). Ao avaliar a atividade antimicrobiana de Emal, lectina extraída da *Eugenia malaccensis* L. (Mirtaceae), frente a bactérias gram positivas e gram negativas, Brustein et al. (2012) verificou que Emal foi muito eficaz na inibição do crescimento bacteriano, principalmente para *Staphylococcus aureus*.

O uso tópico de um hidrogel à base das isolectinas Cramoll 1,4 no tratamento de queimaduras de segundo grau em ratos *Wistar* mostrou a formação de exsudatos intensos, necrose e edema, reepitelização tecidual, autólise moderada e proliferação fibroblástica, resultando em uma maior retração da ferida (PEREIRA et al., 2012). Resultado semelhante foi averiguado em outro experimento realizado por Pereira et al. (2019), onde o efeito do tratamento de queimaduras de segundo grau em ratos *Wistar* imunocomprometidos, também utilizando hidrogel contendo lectina de *C. mollis*, foi avaliado. Neste estudo, houve excelente reparo do ferimento, em relação à deposição de colágeno, precoce reepitelização, neovascularização e ausência de infecção. Estes estudos reforçam o potencial de aplicação terapêutica da lectina em feridas cutâneas.

Neto et al. (2011) também investigou o potencial curativo da administração tópica da lectina de *Bauhinia variegata* (Caesalpinoideae) (nBVL) e sua isoforma recombinante (rBVL-1) em feridas cutâneas induzidas cirurgicamente em camundongos *Swiss albino*. De acordo com os achados deste estudo, o fechamento da ferida, a reconstituição das camadas da pele e deposição de

queratina ocorreu mais rápido nos animais tratados com a lectina recombinante. Estudos realizados por Nascimento-Neto et al. (2012) também mostraram lectinas isoladas da alga marinha *Bryothamnion seaforthii* apresentaram propriedades pró-cicatrizantes em feridas cutâneas de camundongos *Swiss albino*, se mostrando eficazes no tratamento de feridas agudas.

Além disso, a lectina CrataBL, extraída da casca de *Crataeva tapia* (Capparidaceae), demonstrou ter propriedades quimioatraentes para células endoteliais através da estimulação da migração e invasividade das células endoteliais da veia umbilical humana. Ao avaliar o efeito da CrataBL na cicatrização de feridas produzidas experimentalmente na região dorso-cervical de camundongos C57BL/6, notou-se que esta lectina também inibiu a atividade de metaloproteases tipo 2 (MMP-2) da matriz extracelular, melhorou a cicatrização e aumentou o número de estruturas foliculares nas áreas. Esses resultados indicam que a CrataBL é um agente pró-angiogênico e agente de cura em feridas epidérmicas (BATISTA et al., 2019).

A análise histopatológica realizada por Brustein et al. (2012) de feridas cutâneas, induzidas experimentalmente em camundongos *Swiss albino*, mostrou que o tratamento tópico diário com EmaL (lectina extraída de *Eugenia malaccensis* L.) levou a reepitelização (completa ou parcial) do tecido lesado e áreas de transição mais evidenciadas que os do grupo controle, principalmente devido ao padrão bem organizado de fibras colágenas apresentadas no tecido fibroso de granulação. Isto indica um efeito benéfico da lectina estudada no processo de reparação de feridas cutâneas.

Diante das evidências científicas supracitadas, fica evidente a ação pró-cicatrizante das lectinas em feridas cutâneas. Sendo assim, as lectinas são moléculas biologicamente eficazes e possíveis de serem empregadas no tratamento farmacológico de feridas cutâneas, tanto crônicas como agudas.

6. Perspectivas terapêuticas das lectinas na cicatrização de diabéticos e hipertensos

O mecanismo de cicatrização de feridas cutâneas em indivíduos com doenças crônicas, como o diabetes mellitus e hipertensão arterial, é lentificado devido a desestabilização de processos essenciais no processo de reparo tecidual (BIONDO-SIMÕES et al., 2006; LIMA; ARAUJO, 2013), que perturba a recuperação da integridade anatômica e funcional no intervalo de tempo normal (LAUREANO; RODRIGUES, 2011).

Vários mecanismos são apontados como fatores importantes na diminuição do processo de cicatrização (BREM; TOMIC-CANIC, 2007; KOLLURU; KEVIL, 2012). O conhecimento dos fatores que interferem neste processo permite identificar futuros alvos terapêuticos que poderão levar ao sucesso no tratamento de feridas de difícil cura. Neste contexto, as lectinas se destacam como moléculas capazes de serem empregadas no tratamento destas feridas, uma vez que evidências científicas atribuem a essas biomoléculas a capacidade de desempenhar atividades biológicas essenciais para o processo cicatricial (NETO et al., 2011; NASCIMENTO-NETO et al., 2012; CORIOLANO et al., 2014).

Um fator que interfere na cicatrização cutânea é a persistência da fase inflamatória, o que é muito comum em feridas crônicas devido a presença de tecido necrótico, corpos estranhos, contaminação bacteriana, com perturbação do equilíbrio entre fatores pró-inflamatórios e anti-inflamatórios (LAUREANO; RODRIGUES, 2011). A literatura tem mostrado a atuação de lectinas na modulação do sistema imunológico, promovendo efeitos tanto pró-inflamatórios (ALENCAR et al., 2005; NETO et al., 2011) como anti-inflamatórios (MELO et al., 2010).

A avaliação imunomodulatória de Cramoll 1,4 em linfócitos, induziu uma resposta anti-inflamatória por supressão de óxido nítrico, uma maior produção de IFN- γ e baixa produção de IL-10 (MELO et al., 2010). Já nos estudos de Alencar et al. (2005), que avaliaram o efeito de uma lectina isolada dos tubérculos da monocotiledônea *Arum maculatum* L. (Araceae) nas células do sistema imunológico, sugeriram que essa lectina apresenta atividade pró-inflamatória, induzindo a migração de neutrófilos tanto *in vitro* quanto *in vivo*.

Neto et al. (2011) ao realizar a administração tópica das isoformas da lectina de *Bauhinia variegata* mostrou que a nBVL teve um efeito pró-inflamatório e a isoforma recombinante rBVL anti-inflamatório. Os animais nBVL teve um efeito pró-inflamatório, com níveis mais altos de inchaço e vermelhidão no leito da ferida e os tratados com rBVL apresentaram níveis mais baixos de sinais inflamatórios típicos, indicando um possível efeito anti-inflamatório. A reparação tecidual foi mais rápida e eficaz em rBVL que nBVL, porém a cicatrização neste último foi mais eficaz que os animais controles. Estes resultados indicam que as diferenças na cicatrização de feridas observada entre os animais tratados com nBVL e rBVL-1 foi, provavelmente, devido a diferenças estruturais dos domínios de reconhecimento de carboidratos das lectinas. Ainda segundo estes autores, as propriedades pró-cicatrizantes das lectinas extraídas das sementes de *Bauhinia variegata* se deve a secreção de fatores de crescimento e consequente mudança fenotípica de fibroblastos em miofibroblastos, o que levou a contração mais rápida da ferida e aumento da deposição de colágeno pelos fibroblastos.

Os fatores de crescimento são substâncias biologicamente ativas que apresentam diversas atividades biológicas e regulam a atividade de diversas células (Figura 3), sobretudo nos fibroblastos e queratinócitos (VIEIRA et al.; 2011). O TGF- β é um fator de crescimento envolvido na regulação ou estimulação do reparo tecidual, angiogênese, formação do tecido de granulação, síntese de colágeno por fibroblastos e fibroplasia (RHETT et al., 2008; MURPHY et al., 2011). Os fatores de crescimento FGF2 e VEGF são responsáveis pelo desenvolvimento do tecido de granulação (WERNER; GROSE, 2003). A liberação destes fatores são essenciais para a proliferação de células epiteliais e queratinócitos, que são necessários para a o fechamento total da ferida (NETO et al., 2011).

Devido o tecido de granulação ter aparecido precocemente no pós-operatório Neto et al. (2011) sugerem que as lectinas nBVL e rBVL induzem a liberação de FGF2, VEGF e angiopoietinas por células endoteliais, moduladas por citocinas produzidas por mastócitos e macrófagos. Além disso, vários estudos (WERNER; GROOSE, 2003; ZIERIS et al., 2010) afirmam que os FGF e VEGF

possuem importante função no processo de reparo, principalmente estimulando a angiogênese. Sendo assim, as lectinas podem ser eficientes no processo cicatricial de diabéticos e hipertensos, uma vez que nesses indivíduos a diminuição da reposta aos fatores de crescimento é um fator importante para o retardo da cicatrização.

O rompimento do equilíbrio normal das metaloproteinases (MMPs) e dos inibidores teciduais da metaloproteinases (TIMPs) também contribui para o retardo da cicatrização em feridas crônicas (ARAÚJO et al, 2011; MARTINS; CALEY; O'TOOLE, 2013), muito comuns em diabéticos e hipertensos. As MMPs são imprescindíveis para a cicatrização de feridas, sendo expressas em todas as fases desse processo (ARAÚJO et al., 2011) e por diversas células, tais como fibroblastos, queratinócitos, macrófagos e neutrófilos (DIEGELMANN; EVANS, 2004; WANG et al., 2002; FUJIWARA et al., 2005). Neste sentido, um trabalho realizado por Silva et al. (2009) demonstrou que a lectina isolada das sementes da *Canavalia brasiliensis* influenciou a expressão de proteases com atividade colagenolítica, podendo, assim, interferir no processo cicatricial das feridas cutâneas em camundongos.

O Óxido Nítrico (NO) é outro fator importante para o processo cicatricial, uma vez que ele atua como vasodilatador, antimicrobiano e promovendo a permeabilidade vascular (SONEJA et al., 2005; SOUZA-JUNIOR, 2012). Possui também efeito pró-inflamatório, atuando como quimioatrativo para citocinas como a Interleucina-1, um potente modulador da proliferação, recrutamento e diferenciação de queratinócitos, monócitos e neutrófilos, favorecendo a angiogênese e auxiliando a ativação de fibroblastos (SONEJA et al., 2005). Estudos indicam que durante a fase inflamatória as lectinas induzem a produção de óxido nítrico *in vitro* e *in vivo* por macrófagos (ANDRADE et al., 1999). Na fase inflamatória, iniciada de 1 a 3 dias após a injúria, os monócitos se diferenciam em macrófagos, importante componente celular para o processo de fagocitose, por sua ação sobre bactérias, no debridamento de corpos estranhos e desenvolvimento do tecido de granulação (OLIVEIRA; DIAS, 2012). Desta forma, a

ativação do sistema imunológico pode induzir a produção de NO pelos macrófagos e, conseqüentemente, agir de forma benéfica sobre o processo cicatricial.

7. Conclusão

Diante dos achados científicos evidenciou-se os riscos inerentes de feridas em indivíduos diabéticos e hipertensos, devido a uma ruptura dos eventos do processo cicatricial normal, podendo evoluir para uma ferida crônica e recorrente. Além disso, se destaca também, o crescente número de indivíduos com essas disfunções sistêmicas, aumentando as possibilidades do aparecimento de feridas de difícil cura e de altos gastos clínicos e hospitalares. As lectinas surgem como biomoléculas promissoras na estimulação/aceleração do processo cicatricial, pois apresentam atividades, como imunomodulação, proliferativa, angiogênica e citoprotetora etc, que podem ser eficazes na aceleração da cicatrização em feridas de difícil cura. Porém, estudos utilizando lectinas como cicatrizantes ainda são escassos, principalmente no que se refere a feridas de difícil cura.

8. Referências

ACKERMANN, M. R. **Inflamação crônica e cicatrização de feridas**. In: Bases da patologia em veterinária. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier. 2009.

AHN, Y. H.; SHIN, P. M.; JI, E. S.; KIM, H.; YOO, J. S. A lectin-coupled, multiple reaction monitoring based quantitative analysis of human plasma glycoproteins by mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 402, p. 2101-2112, 2012.

ALBUQUERQUE, L. P.; SANTANA, J. M. S.; PONTUAL, E. V.; NAPOLEÃO, T. H.; COELHO, L. C. B. B.; PAIVA, P. M. G. Effect of *Microgramma vacciniifolia* rhizome lectin on survival and digestive enzymes of *Nasutitermes corniger* (Isoptera, Termitidae). **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 75, p. 158-166, 2012.

ALBUQUERQUE, P. B. S.; SOARES, P. A. G.; ARAGÃO-NETO, A. C.; ALBUQUERQUE, G. S.; SILVA, L. C. N.; LIMA-RIBEIRO, M. H. M.; SILVA NETO, J. C.; COELHO, L. C. B. B.; CORREIA, M. T. S.; TEIXEIRA, J. A. C.; CARNEIRO-DA-CUNHA, M. G. Healing activity evaluation of the galactomannan film obtained from *Cassia grandis* seeds with immobilized *Cratylia mollis* seed lectin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 102, p. 749-757, 2017.

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, H.; RIBEIRO, R. A.; CAVADA, B. S. Proinflammatory effect of Arum maculatum lectin and role of resident cells. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 37, p. 1805–1814, 2005.

AMERICAN HEART ASSOCIATION. Disponível em: <https://www.heart.org/en>
Acesso em 18 jun. 2019.

ARAÚJO, R. V. S.; SILVA, F. O.; MELO-JÚNIOR, M. R.; PORTO, A. L. F. Metaloproteinases: aspectos fisiopatológicos sistêmicos e sua importância na cicatrização. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v.10, n.1, p.82-88, 2011.

ANDRADE, J. L.; ARRUDA, S.; BARBOSA, T.; PAIM, L.; RAMOS, M. V.; CAVADA, B. S.; BARRAL-NETO, M. Lectin-induced NO production. **Cellular Immunology**, v.194, n. 1, p.98-102, 1999.

ANDRADE, M. G. L.; CAMELO, C. N.; CARNEIRO, J. A.; TERÊNCIO, K. P. Evidências de alterações do processo de cicatrização de queimaduras em indivíduos diabéticos: revisão bibliográfica. **Revista Brasileira de Queimaduras**, v. 12, n. 1, p. 42-48, 2013.

ARAÚJO, R. M. S.; FERREIRA, R. S.; NAPOLEÃO, T. H.; CARNEIRO-DA-CUNHA, M. G.; COELHO, L. C. B. B.; CORREIA, M. T. S.; OLIVA, M. L. V.; PAIVA, P. M. G. Crataeva tapia bark lectin is an affinity adsorbent and insecticidal agent. **Plant Science**, v. 183, p. 20-26, 2012.

ARNOLD, F.; WEST, D. C. Angiogenesis in wound healing. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 52, n. 3, p. 407-422, 1991.

ASHRAF, G. M.; PERVEEN, A.; TABREZ, S.; ZAIDI, S. K.; KAMAL, M. A.; BANU, N. Studies on the role of goat heart galectin-1 as a tool for detecting post-malignant changes in glycosylation pattern. **Saudi Journal of Biological Sciences**. v. 22. p. 85–89, 2015.

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

BATISTA, F. P.; AGUIAR, R. B.; SUMIKAWA, J. T.; LOBO, Y. A.; BONTURI, C. R.; FERREIRA, R. S.; ANDRADE, S. S.; PAIVA, P. M. G.; CORREIA, M. T. S.; VICENTE, C. M.; TOMA, L.; SAMPAIO, M. U.; PASCHOALIN, T.; GIRÃO, M. J. B. C.; MORAES, J. Z.; PAULA, C. A. A.; OLIVA, M. L. V. *Crataeva tapia* bark lectin (CrataBL) is a chemoattractant for endothelial cells that targets heparan sulfate and promotes in vitro angiogenesis. **Biochimie**, p. 173-183, 2019.

BAUM, C. L.; ARPEY, C. J. Normal cutaneous wound healing: clinical correlation with cellular and molecular events. **Dermatologic Surgery: Official Publication for American Society for Dermatology Surgery**, v. 31, n. 6, p. 674-686, 2005.

BIONDO-SIMÕES, M. L. P.; ALCANTARA, E. M.; DALLAGNOL, J. C.; YOSHIZUMI, K. O.; TORRES, L. F. B.; BORSATO, K. S. Wound healing: comparative study in hypertensive rats untreated and treated with na angiotensin converting enzyme inhibitor. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgias**, v. 33, n. 2, p. 74-78, 2006.

BLAKYTNY, R.; JUDE, E. The molecular biology of chronic wounds and delayed healing in diabetes. **Diabetic Medicine: a Journal of the British Diabetic Association**, 23, 594–608, 2006.

BORGES, E. L.; SAAR, S. R. C.; MAGALHÃES, M. B. B.; GOMES, F. S. L.; LIMA, V. L. A. N. **Feridas: como tratar**. 2. Ed. Coopmed, Belo Horizonte, 2010. 245 p.

BOTTING, R. A.; RANA, H.; BERTRAM, K. M.; RHODES, J. W.; BAHARLOU, H.; NASR, N.; CUNNINGHAM, A. L.; HARMAN, A. N. Langerhans cells and sexual transmission of HIV and HSV. **Reviews in Medical Virology**, v. 27, v. 2, 2017.

BREM, H.; TOMIC-CANIC, M. Cellular and molecular basis of wound healing in diabetes. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 117, n. 5, p. 1219-1222, 2007.

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

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.

CHEN, Z. J.; VAPAATALO, H.; MERVAALA, E. Angiotensin II and vascular inflammation. **Medical Science Monitor**. n. 11, (6):RA194-205, 2005.

CHEN, L.; LI, F. Structural analysis of evolutionary origins of influenza hemagglutinin and other viral lectins. **Journal of Virology**, v. 87, n. 7, p. 4118-4120, 2013.

CLARK, J. J. Wound repair and factors influencing healing. **Critical Care Nursing Quarterly**, v. 25, n. 1, p. 1-12, 2002.

COELHO, J. M.; ANTONIOLLI, A. B.; SILVA, D. N.; CARVALHO, T. M. M. B.; PONTES, E. R. J. C.; ODASHIRO, A. N. O efeito da sulfadiazina de prata, extrato

de ipê-roxo e extrato de barbatimão na cicatrização de feridas cutâneas em ratos. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 37, n. 1, p. 45-51, 2010.

CORIOLOANO, M. C.; DE MELO, C. M.; SILVA, F. D. E. O.; SCHIRATO, G. V.; PORTO, C. S.; DOS SANTOS, P. J.; CORREIA, M. T.; PORTO, A. L.; CARNEIRO-LEÃO, A. M.; COELHO, L. C. Parkia pendula seed lectin: potential use to treat cutaneous wounds in healthy and immunocompromised mice. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 172, n. 5, p. 2682-2693, 2014.

DAM, T. K.; CAVADA, B. S.; NAGANO, C. S.; ROCHA, B. A.; BENEVIDES, R. G.; NASCIMENTO, K. S.; SOUSA, L. A.; OSCARSON, S.; BREWER, C. F. Fine specificities of two lectins from Cymbosema roseum seeds: a lectin specific for high-mannose oligosaccharides and a lectin specific for blood group H type II trisaccharide. **Glycobiology**, v. 21, n. 7, p. 925–933, 2011.

DAN, X.; LIU, W.; NG, T.B. Development and applications of lectins as biological tools in biomedical research. **Medicinal Research Reviews**, v. 36, n. 2, p. 221-247, 2016.

DeFRONZO R. A.; FERRANNINI, E.; ZIMMET, P.; ALBERTI, G. **International Textbook of Diabetes Mellitus**, 2 Volume Set, 4 Ed. Wiley-Blackwell, 2015. 1228 p.

DICKINSON, L. E.; GERECHT, S. Engineered Biopolymeric Scaffolds for Chronic Wound Healing. **Frontiers in Physiology**, v. 7, p. 341, 2016.

DIEGELMANN, R. F.; EVANS, M. C. wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. **Frontiers in Bioscience**, v. 9, n. 1, p. 283-289, 2004.

DINH, T.; BRAUNAGEL, S.; ROSENBLUM, B. I. Growth factors in wound healing: the present and the future? **Clinics in Podiatric Medicine and Surgery**, v. 32, n. 1, p. 109-119, 2015.

DVORAK, H. F. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: a critical cytokine in tumor angiogenesis and a potential target for diagnosis and therapy. **Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology**, v. 20, n. 21, p. 4368-4380, 2002.

EBAID, H.; AHMED, O. M.; MAHMOUD, A. M.; AHMED, R. R. Limiting prolonged inflammation during proliferation and remodeling phases of wound healing in streptozotocin-induced diabetic rats supplemented with camel undenatured whey protein. **BMC Immunology**, 14: 31, 2013.

EMING, S. A.; KRIEG, T.; DAVIDSON, J. M. Inflammation in wound repair: molecular and cellular mechanisms. **The Journal of Investigative Dermatology**, v. 127, n. 3, p. 514-525, 2007.

FAWCETT, A.; SHEMBEKAR, M.; CHURCH, J. S.; VASHISHT, R.; SPRINGALL, R. G.; NOTT, D. M. Smoking, hipertension, and colonic anastomotic healing; a combined clinical and histopathological study. **Gut.**, v. 38, n. 5, p. 714-718, 1996.

FEJFAROVA, V.; JIRKOVSKÁ, A.; DUBSKÝ, M.; GAME, F.; VYDLÁKOVÁ, J.; SEKERKOVÁ, A.; FRANEKOVÁ, J.; KUČEROVÁ, M.; STRÍŽ, I.; PETKOV, V.; BÉM, R.; WOSKOVÁ, V.; NĚMCOVÁ, A.; SKIBOVÁ, J. An alteration of lymphocytes subpopulations and immunoglobulins levels in patients with diabetic foot ulcers infected particularly by resistant pathogens. **Journal of Diabetes Research**, 2356870, 2016.

FERNANDES, A. V.; RAMOS, M. V.; VASCONCELOS, I. M.; MOREIRA, A. C. O. M.; MORENO, F. B.; PEREIRA, J. O.; GONÇALVES, J. F. C. Purification and Characterization of a Lectin of the Swartzia Legume Taxa. **Protein and peptide letters**, v. 19, n. 10, p. 1082- 1088, 2012.

FERNANDES, D. R.; CAVALCANTE FILHO, R. D.; SILVA, J. N.; GERON, V. L. M.; TERRA JÚNIOR, A. T. Aspectos funcionais e fisiológicos do sistema renina-angiotensina aldosterona. **Revista Científica da Faculdade de Educação e Meio Ambiente**, v. 7, n. 1, p. 1-15, 2016.

FLORA FILHO, R.; ZILBERSTEIN, B. Óxido nítrico: o simples mensageiro percorrendo a complexidade. Metabolismo, síntese e funções. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 46, n. 3, p. 265-271, 2000.

FU, L.; ZHOU, C.; YAO, S.; YU, J.; LIU, B.; BAO, J. Plant lectins: Targeting programmed cell death pathways as antitumor agents. **The international journal of biochemistry & cell biology**, v. 43, n. 10, p. 1442-1449, 2011.

FUJIWARA, N. H.; KALLMES, D. F.; LI, S. T.; LIN, H. B.; HAGSPIEL, K. D. Type 1 Collagen as an Endovascular Stent-Graft Material for Small-diameter Vessels: A Biocompatibility Study. **Journal of Vascular and Interventional Radiology**, v. 16, n. 9, p. 1229-1236, 2005.

GABBIANI, G.; HIRSCHL, B. J.; RYAN, G. B.; STATKOV, P. R.; MAJNO, G. Granulation tissue as a contractile organ. A study of structure and function. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 135, n. 4, p. 719-734, 1972.

GÁL, O.; VASILENKO, T.; KOSTELNÍKOVÁ, M.; JAKUBCO, J.; KOVÁČ, I.; SABOL, F.; ANDRÉ, S.; KALTNER, H.; GABIUS, H. J.; SMETANA, K. J. R. Open wound healing in vivo: monitoring binding and presence of adhesion/growth-regulatory galectins in rat skin during the course of complete re-epithelialization. **Acta Histochemica Cytochemica**, v. 44, n. 5, p. 191-199, 2011.

GHAZARIAN, H.; IDONI, B.; OPPENHEIMER, S. B. A glycobiology review: carbohydrates, lectins and implications in cancer therapeutics. **Acta Histochemica**, v. 113, n. 3, p. 236-247, 2011.

GIACCO F, BROWNLEE, M. Oxidative stress and diabetic complications. **Circulation Research**, v. 107, n. 9, p. 1058-1070, 2010.

GOMES, B. S.; SIQUEIRA, A. B. S.; MAIA, R. C. C.; GIAMPAOLI, V.; TEIXEIRA, E. H.; ARRUDA, F. V. S.; NASCIMENTO, K. S.; LIMA, A. N.; SOUZA-MOTTA, . M.; CAVADA, B. S.; PORTO, A. L. F. Antifungal activity of lectins against yeast of vaginal secretion. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 43, n. 2, p. 770-778, 2012.

GONZALEZ, A. C. O.; COSTA, T. F.; ANDRADE, Z. A.; MEDRADO, A. R. A. P. Wound healing - A literature review. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 91, n. 5, p. 614-20, 2016.

GRACIA, P. V.; OLMEDO, J. Diabetes gestacional: conceptos actuales. **Ginecología y Obstetricia de México**, v. 85, n. 6, p. 380-390, 2017.

HUSKENS, D.; FÉRIR, G.; VERMEIRE, K.; KEHR, J.; BALZARINI, J.; DITTMANN, E.; SCHOLS, D. Microvirin, a novel $\alpha(1,2)$ -mannose-specific lectin isolated from *Microcystis aeruginosa*, has anti-HIV-1 activity comparable with that of cyanovirin-N but a much higher safety profile. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 285, n. 32, p. 24845– 24854, 2010.

ILANGO, K.; CHITRA, V. Wound Healing and Anti-oxidant Activities of the Fruit Pulp of *Limonia Acidissima* Linn (Rutaceae) in Rats. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 9, n. 3, p. 223-230, 2010.

ISAAC, C.; LADEIRA, P. R. S.; RÊGO, F. M. P.; ALDUNATE, J. C. B.; FERREIRA, M. C. Physiological wound healing. **Revista de Medicina**, v. 89, p. 125-131, 2010.

INNGJERDINGEN, K.; NERGARD, C. S.; DIALLO, D.; MOUNKORO, P. P.; PAULSEN, B. S. An ethnopharmacological survey of plants used for wound healing in Dogonland, Mali, West Africa. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 92, n. 2-3, p. 233-244, 2004.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. IDF Diabetes Atlas, 8º ed. Bruxelas, Bélgica: International Diabetes Federation, 2017. Disponível em: <http://www.diabetesatlas.org/across-the-globe.html>
Acesso em 22 jul. 2019.

JAWORSKA, K.; HUC, T.; SAMBOROWSKA, E.; DOBROWOLSKI, L.; BIELINSKA, K.; GAWLAK, M.; UFNAL, M. Hypertension in rats is associated with an increased permeability of the colon to TMA, a gut bacteria metabolite. **PLoS One**, v. 12, n. 12, e0189310, 2017.

JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J. **Histologia básica: texto e atlas**. 13 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. 554 p.

KARUKONDA, S. R. K.; FLYNN, T. C.; BOH, E. E.; MCBURNEY, E. I.; RUSSO, G. G.; MILLIKAN, L. E. The effects of drugs on wound healing. **International Journal of Dermatology**, v.39, p. 250-257, 2000.

KAWAGUCHI, Y.; TAKAGI, K.; HARA, M.; FUKASAWA, C.; SUGIURA, T.; NISHIMAGI, E.; HARIGAI, M.; KAMATANI, N. Angiotensin II in the lesional skin of systemic sclerosis patients contributes to tissue fibrosis via angiotensin II type 1 receptors. **Arthritis & Rheumatology**, v. 50, n. 1, p. 216-226, 2004.

KIM, Y. J.; CARVALHO, F. C.; SOUZA, J. A. C.; GONÇALVES, P. C. G.; NOGUEIRA, A. V. B.; SPOLIDÓRIO, L. C.; ROQUE-BARREIRA, M. C.; CIRELLI, J. A. 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, n. 3, p. 456-463, 2013.

KOLLURU, G. K.; BIR, S. C.; KEVIL, C. G. Endothelial dysfunction and diabetes: effects on angiogenesis, vascular remodeling, and wound healing. **International Journal of Vascular Medicine**, 918267, 2012.

KORSGARRD, N.; AALKJAER, C.; HEAGERTY, A. M.; IZZARD, A. S.; MULVANY, M. J. Histology, of subcutaneous small arteries from patients with essential hypertension. **Hypertension**, v. 22, n. 4, p. 523-526, 1993.

KUNO, A.; IKEHARA, Y.; TANAKA, Y.; ANGATA, T.; UNNO, S.; SOGABE, M.; OZAKI, H.; ITO, K.; HIRABAYASHI, J.; MIZOKAMI, M.; NARIMATSU, H. Multilectin assay for detecting fibrosis-specific glyco-alteration by means of lectin microarray. **Clinical Chemistry**, v. 57, n. 1, p. 48–56, 2011.

LAM, S. K.; NG, T. B. Lectins: production and practical applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, vol. 89, n.1, p.45–55, 2011.

LAUREANO, A.; RODRIGUES, A. M. Cicatrização de Feridas. **Revista da SPDV**, v. 69, n. 3, p. 355-365, 2011.

LAUTNER, R. Q.; DORNELAS, H. G. P.; SILVA, J. G. B. P. C. P.; ARAÚJO, G. H. S.; SILVA, I. M. Novas angiotensinas e suas implicações fisiológicas. **HU Revista**, v. 45, n. 2, p. 212-221, 2019.

LI, C.; ZOLOTAREVSKY, E.; THOMPSON, I.; ANDERSON, M. A.; SIMEONE, D. M.; CASPER, J. M.; MULLENIX, M. C.; LUBMAN, D. M. A multiplexed bead assay for profiling glycosylation patterns on serum protein biomarkers of pancreatic cancer. **Electrophoresis**, v. 32, n. 15, p. 2028–2035, 2011.

LIMA, M. H. M.; ARAÚJO, E. P. Diabetes mellitus e o processo de cicatrização cutânea. **Cogitare Enfermagem**, v. 18, n. 1, p. 170-172, 2013.

MALACHIAS, M. V. B.; PLAVNIK, F. L.; MACHADO, C. A.; MALTA, D.; SCALA, L. C, N.; FUCHS, S. 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial: Capítulo 1 - Conceituação, Epidemiologia e Prevenção Primária. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.107, n. 3, 2016.

MANDELBAUM, S. H.; DI SANTIS, E. P.; MANDELBAUM, M. H. S. Cicatrization: current concepts and auxiliary resources – Part I. **Anais Brasileiro de Dermatologia**, v. 78, n. 4, p. 393-410, 2003.

MARTIN, R. E.; CHANNE, Y. R. Partial purification and characterization of lectin from serum of American cockroach, *Periplaneta Americana*. **Journal of Applied Biology & Biotechnology**, v. 8, n. 1, p. 59-63, 2020.

MARTINS, V. L.; CALEY, M.; O'TOOLE, E. A. Matrix metalloproteinases and epidermal wound repair. **Cell and Tissue Research**, v. 351, n. 2, 2013.

MASI, E. C. D. J.; CAMPOS, A. C. L.; MASI, F. D. J.; RATTI, M. A. S.; IKE, I. S.; MASI, R. D. J. A influência de fatores de crescimento na cicatrização de feridas cutâneas de ratas. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, v. 82, n. 5, p. 512-521, 2016.

MELO, C. M.; DE CASTRO, M. C.; DE OLIVEIRA, A. P.; GOMES, F. O.; PEREIRA, V. R.; CORREIA, M. T.; COELHO, L. C.; PAIVA, P. M. Immunomodulatory response of Cramoll 1,4 lectin on experimental lymphocytes. **Phytotherapy Research**, v. 24, p. 1631-1636, 2010.

MELO, C. M.; PORTO, C. S.; MELO-JÚNIOR, M. R.; MENDES, C. M.; CAVALCANTI, C. C. B.; COELHO, L. C. B. B.; PORTO, A. L. F.; CARNEIRO-LEÃO, A. M. A.; CORREIA, M. T. S. Healing activity induced by Cramoll 1,4 lectin in healthy and immunocompromised mice. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 408, n. 1-2, p. 113-119, 2011.

MENDIZÁBAL, Y.; LLORENS, S.; NAVA, E. Hypertension in metabolic syndrome: vascular pathophysiology. **International Journal of Hypertension**, 230868, 2013.

MENDONCA, R. J., COUTINHO-NETTO, J. Cellular aspects of wound healing. **Anais da Academia Brasileira de Dermatologia**, v.84, n.3, p.257-62, 2009.

MIRANDA, A.; FERNANDES, V.; MARQUES, M.; CASTRO, L.; FERNANDES, O.; PEREIRA, M. L. Diabetes gestacional: avaliação dos desfechos maternos, fetais e neonatais. **Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo**, v. 12, n. 1, p. 36-44, 2017.

MONTES, L. V.; BROSEGHINI, L. P.; ANDREATTA, F. S.; SANT'ANNA, M. E. S.; NEVES, V. M.; SILVA, A. G. Evidências para o uso da oleo-resina de copaiba na cicatrização de ferida – uma revisão sistemática. **Natureza online**, v. 7, n. 2, p. 61-67, 2009.

MORTON, L. M.; PHILLIPS, T. J. Wound healing and treating wounds: Differential diagnosis and evaluation of chronic wounds. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 74, n. 4, p. 589-605, 2016.

MOURA, L. I.; DIAS, A. M.; CARVALHO, E.; SOUSA, H. C. Recent advances on the development of wound dressings for diabetic foot ulcer treatment-A review. **Acta Biomaterialia**, v. 9, n. 7, p. 7093-7114, 2013.

MUKHERJEE, S.; ZHENG, H.; DEREBE, M.; CALLENBERG, K.; 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. 505, p. 103-107, 2014.

MURPHY, K. E.; HALL, C. L.; MCCUE, S. W.; SEAN MCELWAIN, D. L. A two-compartment mechanochemical model of the roles of transforming growth factor β and tissue tension in dermal wound healing. **Journal of Theoretical Biolpgy**, v. 272, p. 145-159, 2011.

NANDI, S.; SPROUL, E. P.; NELLENBACH, K.; ERB, M.; GAFFNEY, L.; FREYTES, D. O.; BROWN, A. C. Platelet-like particles dynamically fibrin matrices and improve wound healing outcomes. **Biomaterials Science**, v. 7, n. 2, p. 669-682, 2019.

NASCIMENTO-NETO, L. G.; CARNEIRO, R. F.; SILVA, S. R.; SILVA, B. R.; ARRUDA, F. V. S.; CARNEIRO, V. A.; NASCIMENTO, K. S.; SAKER-SAMPAIO, S.; SILVA-JUNIOR, V. A.; PORTO, A. L. F.; CAVADA, B. S.; SAMPAIO, A. H.; TEIXEIRA, E. H.; NAGANO, C. S. Characterization of isoforms of the lectin isolated from the red algae *Bryothamnion seaforthii* and its pro-healing effect. **Marine Drugs**, v. 10, p. 1936-1954, 2012.

NETA, N. B. D.; CARVALHO, A. F. M.; FIGUEIREDO, A. K. F. B.; CERQUEIRA, R. G. M.; SOUSA, M. A. A.; SANTANA, M.A. A.; SANTOS, Y. D. Biomembranas à base de quitosana e aplicação na cicatrização de úlceras cutâneas. **Revista da FAESF**, v. 3, n. 4, p. 4-10, 2019.

NETO, L. G. N.; PINTO, L. S.; BASTOS, R. M.; EVARISTO, F. F. V.; VASCONCELOS, M. A.; CARNEIRO, V. A.; ARRUDA, F. V. S.; PORTO, A. L. F.; LEAL, R. B.; SILVA-JÚNIOR, V. A.; CAVADA, B. S.; TEIXEIRA, E. H. Effect of the lectin of *Bauhinia variegata* and its recombinant isoform on surgically induced skin wounds in a murine model. **Molecules**, v. 16, 9298-9315, 2011.

NUNES, E.; SOUZA, M. A. A.; VAZ, A. F. M.; SANTANA, G. M. S.; GOMES, F. S.; COELHO, L. C. B. B.; PAIVA, P. M. G.; SILVA, R. M. L.; SILVA-LUCCA, R. A.; OLIVA, M. L. V.; GUARNIERI, M. C.; CORREIA, M. T. S. Purification of a lectin with antibacterial activity from Bothrops leucurus snake venom. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 159, p. 57-63, 2011.

OGURTSOVA, K.; DA ROCHA FERNANDES, J. D.; HUANG, Y.; LINNENKAMP, U.; GUARIGUATA, L.; CHO, N. H.; CAVAN, D.; SHAW, J. E.; MAKAROFF, L. E. IDF Diabetes Atlas: Global estimates for the prevalence of diabetes for 2015 and 2040. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 128, p. 40-50, 2017.

OLIVEIRA, I. V. P. M.; DIAS, R. V. C. Cicatrização de feridas: fases e fatores de influencia. **Acta Veterinária Brasilica**, v. 6, n. 4, p. 267-271, 2012.

OLIVEIRA, P. S. S.; RÊGO, M. J. B. M.; SILVA, R. R.; CAVALCANTI, M. B.; GALDINO, S. L.; CORREIA, M. T. S.; COELHO, L. C. B. B.; PITTA, M. G. R. *Cratylia mollis* 1, 4 Lectin: A New Biotechnological Tool in IL-6, IL-17A, IL-22, and IL-23 Induction and Generation of Immunological Memory. **BioMed Research International**, 263968, 2013.

PASTAR, I.; NUSBAUM, A. G.; GIL, J.; PATEL, S. B.; CHEN, J.; VALDES, J.; STOJADINOVIC, O.; PLANO, L. R.; TOMIC-CANIC, M.; DAVIS, S. Interactions of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* USA300 and *Pseudomonas aeruginosa* in polymicrobial wound infection. **PLoS One**, v. 8, n. 8, e56846, 2013.

PEREIRA, D. S. T.; LIMA-RIBEIRO, M. H. M.; SANTOS-OLIVEIRA, R.; CAVALCANTI, C. L. B.; PONTES-FILHO, N. T.; COELHO, L. C. B. B.; CARNEIRO-LEÃO, A. M. A.; CORREIA, M. T. S. Topical application effect of the isolectin hydrogel (Cramoll 1,4) on second-degree burns: experimental model. **Journal of Biomedicine & biotechnology**, 184538, 2012.

PEREIRA, D. S. T.; LIMA-RIBEIRO, M. H. M.; SANTOS-OLIVEIRA, R.; CAVALCANTI, C. L. B.; PONTES-FILHO, N. T.; ALVES, A. M. S.; CARNEIRO-LEÃO, A. M. A.; COELHO, L. C. B. B.; CORREIA, M. T. S. The use of lectin gel in the treatment of thermal burns in rats immunocompromised. **International Journal of Advanced Engineering Research and Science**, v. 6, 2019.

PINTO, M.V.M; ANJOS, C.B.; LOPES, D.V.; SANTOS, H.R.; SILVA, A.L.S.; BARBOSA, L.G.; GONÇALVES, R.V.; COSTA, D.A.; SILVA, C.M.; XAVIER, J.B.; JUSTINO, G.C.M.; MEYER, P.F.; SCAGLIONE, G.M.; AGUIAR, J.L.N. Influência da laserterapia de 632,8 nm por 150 mw na cicatrização de úlcera diabética. Relato de caso. **Revista Dor**, v.10, n.2, p.194-199, 2009.

PORTO, C. S.; MELO, C. M. L.; CORIOLANO, M.; LIMA-FILHO, J. L.; COELHO, L. C. B. B.; CORREIA, M. T. S.; PORTO, A. F. F.; CARNEIRO-LEÃO, A. M. A. Avaliação da atividade cicatrizante de *Parkia pendula* em feridas isquêmicas experimentais. In: caminho das ciências. **Editora Universitária da UFRPE**, v. 1, p. 133, 2006.

RADENKOVIĆ, M.; STOJANOVIĆ, M.; PROSTRAN, M. Experimental diabetes induced by alloxan and streptozotocin: The current state of the art. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 78, p. 13-31, 2016.

REINKE, J. M.; SORG, H. Wound repair and regeneration. **European Surgical Research**, n. 49, p. 35-43, 2012.

RHETT, J. M.; GHATNEKAR, G. S.; PALATINUS, J. A.; O'QUINN, M.; YOST, M. J.; GOURDIE, R. G. Novel therapies for scar reduction and regenerative healing of skin wounds. **Trends Biotechnology**, v. 26, p. 173-180, 2008.

SANTORO, M. M.; GAUDINO, G. Cellular and molecular facets of keratinocyte reepithelization during wound healing. **Experimental Cell Research**, v.304, n.1, p. 274-86, 2005.

SANTOS, R. A. S.; FAGUNDES-MOURA, C. R.; SILVA, A. C. S. Efeitos cardiovasculares e renais do sistema renina-angiotensina. **Revista Brasileira Hipertensão**, v. 7, n. 3, p. 227-236, 2000.

SCALA, L. C.; MAGALHÃES, L. B.; MACHADO, A. **Epidemiologia da hipertensão arterial sistêmica**. In: Moreira SM, Paola AV; Sociedade Brasileira de Cardiologia. Livro Texto da Sociedade Brasileira de Cardiologia. 2ª. ed. São Paulo: Manole; 2015. p. 780-785.

SENGUPTA, M.; BANERJEE, P.; PAUL S.; SENGUPTA, J.; GHOSH, M. Healing effect of phenytoin on excisional wound in experimental albino rats. **Muller Journal of Medical Sciences and Research**, n. 6, p. 27-30, 2015.

SETH, A. K.; GERINGER, M. R.; HONG, S. J.; LEUNG, K. P.; MUSTOE, T. A.; GALIANO, R. D. In vivo modeling of biofilm-infected wounds: a review. **Journal of surgical research**, v. 178, n. 1, p. 330-338, 2012.

SILVA, F. O.; SCHIRATO, G.; MELO JÚNIOR, M. R.; LIMA FILHO, J. L.; PORTO, A.; TEIXEIRA, E. H.; CAVADA, B. S.; CARNEIRO-LEÃO, A. M. A. Proteases profile of skin wounds treated with lectin from Canavalia brasiliensis seeds. **Ciência Rural**, v. 39, n. 6, p. 1808-1814, 2009.

SILVA, D. P.; MATWICHUK, M. L.; TOWNSEND, D. O.; REICHHARDT, C.; LAMBA, D.; WOZNIAK, D. J.; PARSEK, M. R. The Pseudomonas aeruginosa lectin LecB binds to the exopolysaccharide Psl and stabilizes the biofilm matrix. **Nature Communication**, v. 10, n. 2183, p. 1-11, 2019.

SINGER, A. J.; CLARK, R. A. Cutaneous wound healing. **The New England Journal of Medicine**, v. 321, n. 10, p. 738-746, 1999.

SINGER, A. J.; McCLAIN. Persistent wound infection delays epidermal maturation and increases scarring in thermal burns. **Wound Repair and Regeneration**, v. 10, n. 6, p. 372-377, 2002.

SINGH, A.; DILNAWAZ, F.; SAHOO, S. K. Long circulating lectin conjugated paclitaxel loaded magnetic nanoparticles: a new theranostic avenue for leukemia therapy. **PLoS ONE**, v. 6, n. 11, e26803, 2011.

SOARES, P. A.; NASCIMENTO, C. O.; PORTO, T. S.; CORREIA, M. T.; PORTO, A. L.; CARNEIRO-DA-CUNHA, M. G. Purification of a lectin from *Canavalia ensiformis* using PEG–citrate aqueous two-phase system. **Journal of Chromatography**, v. 879, p. 457–460, 2011.

SONEJA, A.; MALINSKI, T.; DREWS, M. Role of nitric oxide, nitroxidative and oxidative stress in wound healing. **Pharmacological Reports**, v.57, p.108-119, 2005.

SOUSA, F. D.; VASCONSELOS, P. D.; SILVA, A. F. B.; MOTA, F. M.; TOMÉ, A. R.; MENDES, F. R. S.; GOMES, A. M. M.; ABRAHAM, D. J.; SHIWEN, X.; OWEN, J. S.; LOURENZONI, M. R.; CAMPOS, A. R.; MOREIRA, R. A.; MONTEIRO-MOREIRA, A. C. O. Hydrogel and membrane scaffold formulations of Frutalin (breadfruit lectin) within a polysaccharide galactomannan matrix have potential for wound healing. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 121, p. 429-442, 2018.

SOUZA-JUNIOR, T. P.; ASANO, R. Y.; PRESTES, J.; SALES, M. P. M.; COELHO, J. M. O.; SIMÕES, H. G. Óxido nítrico e exercício: uma revisão. **Journal of Physical Education**, v. 23, n. 3, p. 469-481, 2012.

SOUZA, S. R.; CORREIA, M. T. S.; PESSOA, M. A. M.; KENNEDY, J. F.; LIMA, J. L.; COELHO, L. C. B. B. **Carbohydrate Polymers**, v. 46, p. 191-193, 2001.

SOUZA, G. A.; OLIVEIRA, P. S.; TRAPANI, S.; SANTOS, A. C.; ROSA, J. C.; LAURE, H. J.; FAÇA, V. M.; CORREIA, M. T.; TAVARES, G. A.; OLIVA, G.; COELHO, L. C.; GREENE, L. J. Amino acid sequence and tertiary structure of *Cratylia mollis* seed lectin. **Glycobiology**, v. 13, n. 12, p. 961–972, 2003.

SPECTOR, M. Biomaterials. In: Achauer B., Eriksson E., Guyuron B. Plastic Surgery, Indications, Operations, Outcomes. Mosby Year Book; 2001, p. 239-259.

STECKELINGS, U. M.; WOLLSCHLAGER, T.; PETERS, J.; HENZ, B. M.; HERMES, B.; ARTUC, M. Human skin: source of and target organ for angiotensin II. **Experimental Dermatology**, v. 13, n. 3, p. 148-54, 2004.

STECKELINGS UM, HENZ BM, WIEHSTUTZ S, UNGER T, ARTUC M. Differential expression of angiotensin receptors in human cutaneous wound healing. **British Journal of Dermatology**, v. 153, n. 5, p. 887-893, 2005.

STREIT, M.; VELASCO, P.; RICCARDI, L.; SPENCER, L.; BROWN, L. F.; JANES, L.; LANGE-ASSCHENFELDT, B.; YANO, K.; HAWIGHORST, T.; IRUELA-ARISPE, L.; DETMAR, M. Thrombospondin-1 suppresses wound healing and

granulation tissue formation in the skin of transgenic mice. **The EMBO Journal**, v. 19, n. 13, p. 3272-3282, 2000.

SUN, B. K.; SIPRASHVILI, Z.; KHAVARI, P. A. Advances in skin grafting and treatment of cutaneous wounds. **Science.**, v. 346, n. 6212, p. 941- 5, 2014.

SZWED, D. N.; SANTOS, V. L. P. Fatores de crescimento envolvidos na cicatrização de pele. **Cadernos da Escola de Saúde**, v.1, n.15, p. 7-17, 2015.

TAKEBE, Y.; SAUCEDO, C. J.; LUND, G.; UENISHI, R.; HASE, S.; TSUCHIURA, T.; KNETEMAN, N.; RAMESSAR, K.; TYRREL, D. L. J.; SHIRAKURA, M. WAKITA, T.; McMAHON, J. B.; O'KEEFE, B. R. Antiviral lectins from red and blue-green algae show potent in vitro and in vivo activity against hepatitis C virus. **PLoS ONE**. v. 8, n. 5, e64449, 2013

TAKEDA, H.; KATAGATA, Y.; HOZUMI, Y.; KONDO, S. Effects of angiotensin II receptor signaling during skin wound healing. **American Journal Pathology**, v. 165, n. 5 ,p. 1653-1662, 2004.

TALAGAS, M.; LEBONVALLET, N.; BERTHOD, F.; MISERY, L. Cutaneous nociception: role of keratinocytes. **Experimental Dermatology**, v. 28, n. 12, p. 1466-1469, 2019.

TORRES-VALENZUELA, A.; RODRÍGUEZ-GIL, A.; VALLES-ARAIZA, D. A.; VÁSQUEZ-GARCÍA, R.; LERMA-BURCIAGA, C. G. Perfiles clínico y epidemiológico de los pacientes con pie diabético. **Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas**, v. 20, n. 3, p. 294-301, 2015.

TRAPP, S. M.; VAILATI, M. C. F.; MATSUBARA, B. B.; SCHWARTZ, D. S. Efeitos da angiotensina II no sistema cardiovascular. **Archives of Veterinary Science**, v. 14, n. 4, p. 233-243, 2009.

TRAVI-CARNEIRO, M. C.; CARNEIRO-TRAVI, M. I.; BOCK, P. M. Fatores de crescimento na cicatrização de úlceras diabéticas. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, ano 11, nº 38, 2013.

VIEIRA, A. C. Q. M.; MEDEIROS, L. A.; PALÁCIO, S. B.; LYRA, M. A. M.; ALVES, L. D. S. ROLIM, L. A.; ROLIM-NETO, P. J. Fatores de crescimento: uma nova abordagem cosmeceutica para o cuidado antienvhecimento. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 92, n. 3, p. 80-89, 2011.

WANG, W.; SCHULZE, C. J.; SUAREZ-PINZON, W. L.; DYCK, J. R. B.; SAWICKI, G.; SCHULZ, R. Intracellular action of matrix metalloproteinase-2 accounts for acute myocardial ischemia and reperfusion injury. **Circulation**, v. 106, n. 12, p. 1543-1549, 2002.

WANG, Y.; JOBE, S. M.; DING, X.; CHOO, H.; ARCHER, D. R.; MI, R.; JU, T.; CUMMINGS, R. D. Platelet biogenesis and functions require correct protein O-glycosylation. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 100, n. 40, p. 16143-16148, 2012.

WEBER, M. A.; SCHIFFRIN, E. L.; WHITE, W. B.; MANN, S.; LINDBOLM, L. H.; KENERSON, J. G.; FLACK, J. M.; CARTER, B. L.; MATERSON, B. J.; RAM, C. V. S.; COHEN, D. L.; CADET, J. C.; JEAN-CHARLES, R. R.; TALER, S.; KOUNTZ, D.; TOWNSEND, R. R.; CHALMERS, J.; RAMIREZ, A. J.; BAKRIS, G. L.; WANG, J.; SCHUTTE, A. E.; BISOGNANO, J. D.; TOUYZ, R. M.; SICA, D.; HARRAP, S. B. Clinical practice guidelines for the management of hypertension in the community: a statement by the American Society of Hypertension and the International Society of Hypertension. **Journal of Clinical Hypertension**, v. 16, n. 1, p. 14-26, 2014.

WERNER, S.; GROSE, R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. **Physiological Reviews**, v. 83, n. 3, p. 835-870, 2003.

ZANCHI, A.; BRUNNER, H. B.; HAYOZ, D. Age-related changes of the mechanical properties of the carotid artery in spontaneously hypertensive rats. **Journal of Hypertension**, v. 15, p. 1415-1422, 1997.

ZIERIS, A.; PROKOPH, S.; LEVENTAL, K. R.; WELZE, P. B.; GRIMMER, M.; FREUDENBERG, U. WERNER, C. FGF-2 and VEGF functionalization of starPEG-heparin hydrogels to modulate biomolecular and physical cues of angiogenesis. **Biomaterials**, v. 31, n. 32, p. 7985-7994, 2010.

6. CONCLUSÕES

- Cramoll e HcXM aceleraram a cicatrização de feridas cutâneas em camundongos diabéticos tratados durante 12 dias, estimulando a síntese de colágeno tipo I na fase de remodelação;
- Cramoll-HcXM funcionou como curativo tópico eficiente até o 7º dia de tratamento (fases inflamatória e proliferativa) de feridas cutâneas em camundongos diabéticos;
- Cramoll atuou na imunomodulação (fase inflamatória) de feridas cutâneas em ratos espontaneamente hipertensos (SRH) e em SRH diabéticos, evitando edema e hiperemia exacerbados observados nos demais grupos;
- Cramoll acelerou a cicatrização de feridas cutâneas em ratos espontaneamente hipertensos (SHR) durante 14 dias;
- Nos animais SHR diabéticos, no entanto, Cramoll mesmo não regenerando totalmente as feridas cutâneas aos 14 dias de tratamento promoveu reepitelização e queratinização, características não observadas nos demais grupos.

REFERÊNCIAS

ACKERMANN, M. R. **Inflamação crônica e cicatrização de feridas**. In: Bases da patologia em veterinária. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier. 2009.

AJIBOYE, B. O.; OJO, A. O.; AKUBOH, O. S.; ABIOLA, O. M.; IDOWU, O.; AMUZAT, A. O. Anti-hyperglycemic and anti-inflammatory activities of polyphenolic-rich extract of *Syzygium cumini* linn leaves in alloxan-induced diabetic rats. **Journal of Evidence-Based Integrative Medicine**, v. 23, 2515690X18770630, 2018.

AHN, Y. H.; SHIN, P. M.; JI, E. S.; KIM, H.; YOO, J. S. A lectin-coupled, multiple reaction monitoring based quantitative analysis of human plasma glycoproteins by mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 402, p. 2101-2112, 2012.

ALBUQUERQUE, L. P.; SANTANA, J. M. S.; PONTUAL, E. V.; NAPOLEÃO, T. H.; COELHO, L. C. B. B.; PAIVA, P. M. G. Effect of *Microgramma vacciniifolia* rhizome lectin on survival and digestive enzymes of *Nasutitermes corniger* (Isoptera, Termitidae). **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 75, p. 158-166, 2012.

ALBUQUERQUE, P. B. S.; SOARES, P. A. G.; ARAGÃO-NETO, A. C.; ALBUQUERQUE, G. S.; SILVA, L. C. N.; LIMA-RIBEIRO, M. H. M.; SILVA NETO, J. C.; COELHO, L. C. B. B.; CORREIA, M. T. S.; TEIXEIRA, J. A. C.; CARNEIRO-DA-CUNHA, M. G. Healing activity evaluation of the galactomannan film obtained from *Cassia grandis* seeds with immobilized *Cratylia mollis* seed lectin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 102, p. 749-757, 2017.

ALMEIDA, P. C. C. **Estudo da transição dermoepidérmica dos enxertos de pele e sua relação como surgimento de vesículas**. São Paulo. Tese, Faculdade de Medicina de São Paulo, pp. 113, 2009.

AMERICAN HEART ASSOCIATION. Disponível em: <https://www.heart.org/en> Acesso em 18 jun. 2019.

ANDRADE, J. L.; ARRUDA, S.; BARBOSA, T.; PAIM, L.; RAMOS, M. V.; CAVADA, B. S.; BARRAL-NETO, M. Lectin-induced NO production. **Cellular Immunology**, v.194, n. 1, p.98-102, 1999.

ANDRADE, C. A. S.; CORREIA, M. T.; COELHO, L. C.; NASCIMENTO, S. C.; SANTOS-MAGALHÃES, N. S. Antitumor activity of *Cratylia mollis* lectin encapsulated into liposomes. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 278, p. 435-445, 2004.

ANDRADE, M. G. L.; CAMELO, C. N.; CARNEIRO, J. A.; TERÊNCIO, K. P. Evidências de alterações do processo de cicatrização de queimaduras em indivíduos diabéticos: revisão bibliográfica. **Revista Brasileira de Queimaduras**, v. 12, n. 1, p. 42-48, 2013.

ANTÓNIO S.; FERREIRA, P.; ESTEVES, M. C.; CABANELAS, N. Terapêutica anti-hipertensiva em doentes diabéticos. **Revista portuguesa de medicina geral e familiar**, v. 24, n. 3, p. 403-409, 2008.

ARIOTTI, S.; VELDHOEN, M. Immunology: Skin T Cells Switch Identity to Protect and Heal. **Current Biology**, v. 29, n. 6, p. 220-223, 2019.

ARAÚJO, R. M. S.; FERREIRA, R. S.; NAPOLEÃO, T. H.; CARNEIRO-DA-CUNHA, M. G.; COELHO, L. C. B. B.; CORREIA, M. T. S.; OLIVA, M. L. V.; PAIVA, P. M. G. *Crataeva tapia* bark lectin is an affinity adsorbent and insecticidal agent. **Plant Science**, v. 183, p. 20-26, 2012.

ARNOLD, F.; WEST, D. C. Angiogenesis in wound healing. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 52, n. 3, p. 407-422, 1991.

ARRUDA, I. R.; ALBUQUERQUE, P. B.; SANTOS, G. R.; SILVA, A. G.; MOURÃO, P. A.; CORREIA, M. T.; VICENTE, A. A.; CARNEIRO-DA-CUNHA, M. G. Structure and rheological properties of a xyloglucan extracted from *Hymenaea coubaril* var. *coubaril* seeds. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 73, p. 31-38, 2015.

ASHRAF, G. M.; PERVEEN, A.; TABREZ, S.; ZAIDI, S. K.; KAMAL, M. A.; BANU, N. Studies on the role of goat heart galectin-1 as a tool for detecting post-malignant changes in glycosylation pattern. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 22, p. 85–89, 2015.

ATHUKORALA, C.; CROWTHER, C. A.; WILLSON, K. Australian Carbohydrate Intolerance Study in Pregnant Women (ACHOIS) trial group. Women with gestational diabetes mellitus in the ACHOIS trial: Risk factors for shoulder dystocia. The **Australian & New Zealand Journal of Obstetrics & Gynaecology**, n. 47, p. 37-41, 2007.

BAKAY, M.; PANDEY, R.; HAKONARSON, H. Genes involved in type 1 diabetes: na update. **Genes (Basel)**, v. 4, n. 3, p. 499-521, 2013.

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

BATISTA, F. P.; AGUIAR, R. B.; SUMIKAWA, J. T.; LOBO, Y. A.; BONTURI, C. R.; FERREIRA, R. S.; ANDRADE, S. S.; PAIVA, P. M. G.; CORREIA, M. T. S.; VICENTE, C. M.; TOMA, L.; SAMPAIO, M. U.; PASCHOALIN, T.; GIRÃO, M. J. B. C.; MORAES, J. Z.; PAULA, C. A. A.; OLIVA, M. L. V. *Crataeva tapia* bark lectin (CrataBL) is a chemoattractant for endothelial cells that targets heparan sulfate and promotes in vitro angiogenesis. **Biochimie**, p. 173-183, 2019.

BAUM, C. L.; ARPEY, C. J. Normal cutaneous wound healing: clinical correlation with cellular and molecular events. **Dermatologic Surgery: Official Publication for American Society for Dermatology Surgery**, v. 31, n. 6, p. 674-686, 2005.

BELTRÃO, E. I. C.; CORREIA, M. T.; FIGUEREDO-SILVA, J.; COELHO, L. C. Binding evaluation of isoform 1 from *Cratylia mollis* lectin to human mammary tissues. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 74, p. 125-134, 1998.

BEYAZ, S.; GÜLER, Ü. Ö.; BAĞIR, G. S. Factors affecting lifespan following below-knee amputation in diabetic patients. **Acta Orthopaedica et Traumatologica Turcica**, v. 51, n. 5, p. 393-397, 2017.

BIELEFELD, K. A.; AMINI-NIK, S.; ALMAN, B. A. Cutaneous wound healing: recruiting developmental pathways for regeneration. **Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS**, v. 70, p. 2059-2081, 2013.

BIONDO-SIMÕES, M. L. P.; ALCANTARA, E. M.; DALLAGNOL, J. C.; YOSHIZUMI, K. O.; TORRES, L. F. B.; BORSATO, K. S. Wound healing: comparative study in hypertensive rats untreated and treated with na angiotensin converting enzyme inhibitor. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 33, n. 2, p. 74-78, 2006.

BIR, S. C.; XIONG, Y.; KEVIL, C. G.; LUO, J. Emerging role of PKA/eNOS pathway in therapeutic angiogenesis for ischaemic tissue diseases. **Cardiovascular Research**, 95, 7-18, 2012.

BLAKYTNY, R.; JUDE, E. The molecular biology of chronic wounds and delayed healing in diabetes. **Diabetic Medicine: a Journal of the British Diabetic Association**, 23, 594–608, 2006.

BORGES, E. L.; SAAR, S. R. C.; MAGALHÃES, M. B. B.; GOMES, F. S. L.; LIMA, V. L. A. N. **Feridas: como tratar**. 2. Ed. Coopmed, Belo Horizonte, 2010. 245 p.

BORGES, F. S. **Dermato-funcional: modalidades terapêuticas na disfunções estéticas**. 2 ed. São Paulo: Phorte, 2010. 672 p.

BOTTING, R. A.; RANA, H.; BERTRAM, K. M.; RHODES, J. W.; BAHARLOU, H.; NASR, N.; CUNNINGHAM, A. L.; HARMAN, A. N. Langerhans cells and sexual transmission of HIV and HSV. **Reviews in Medical Virology**, v. 27, v. 2, 2017.

BREM, H.; TOMIC-CANIC, M. Cellular and molecular basis of wound healing in diabetes. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 117, n. 5, p. 1219-1222, 2007.

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

BUCKERIDGE, M. S. Seed cell wall storage polysaccharides: models to understand cell wall biosynthesis and degradation. **Plant Physiology**, v. 154, p.

1017-1023, 2010.

BULA DA POMADA KOLLAGENASE® CRISTÁLIA - Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda. Disponível em: https://www.cristalia.com.br/arquivos_medicamentos/113/KOLLAGENASE.pdf Acesso em: 20 jul. 2019.

CARNEIRO-DA-CUNHA, M. G.; SOUZA, B. . S.; TEIXEIRA, J. A.; CERQUEIRA, M.; SOUZA, M. P.; VICENTE, A. Physical properties of edible coatings and films made with a polysaccharide from *Anacardium occidentale* L. **Journal of Food Engineering**, p. 379-385, 2009.

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.

CHEN, Z. J.; VAPAATALO, H.; MERVAALA, E. Angiotensin II and vascular inflammation. **Medical Science Monitor**. n. 11, (6):RA194-205, 2005.

CHEN, L.; LI, F. Structural analysis of evolutionary origins of influenza hemagglutinin and other viral lectins. **Journal of Virology**, v. 87, n. 7, p. 4118-4120, 2013.

CHEN, L.; SCHREMENTI, M. E.; RANZER, M. J.; WILGUS, T.; DIPIETRO, L. A. Blockade of mast cell activation reduces cutaneous scar formation. **PloS One**, v. 9, n. 1, e85226. 2014.

CIERPKA-KMIEC, K.; WRONSKA, A.; KMIEC, Z. In vitro generation of pancreatic β -cells for diabetes treatment. I. β -like celss derived from human pluripotent stem cells. **Folia Histochemica et Cytobiologica**, v. 57, n. 1, p. 1-14, 2019.

CLARK, J. J. Wound repair and factors influencing healing. **Critical Care Nursing Quarterly**, v. 25, n. 1, p. 1-12, 2002.

COELHO, J. M.; ANTONIOLLI, A. B.; SILVA, D. N.; CARVALHO, T. M. M. B.; PONTES, E. R. J. C.; ODASHIRO, A. N. O efeito da sulfadiazina de prata, extrato de ipê-roxo e extrato de barbatimão na cicatrização de feridas cutâneas em ratos. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgias**, v. 37, n. 1, p. 45-51, 2010.

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**, 1594074, 2017.

COLEMAN, R. Picrosirius red staining revisited. **Acta Histochemica**, v. 113, p. 231-233, 2011.

CORIOLOANO, M. C.; DE MELO, C. M.; SILVA, F. D. E. O.; SCHIRATO, G.

V.; PORTO, C. S.; DOS SANTOS, P. J.; CORREIA, M. T.; PORTO, A. L.; CARNEIRO-LEÃO, A. M.; COELHO, L. C. Parkia pendula seed lectin: potential use to treat cutaneous wounds in healthy and immunocompromised mice. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 172, n. 5, p. 2682-2693, 2014.

CORREIA, M. T. S.; COELHO, L. C. B. Purification of a glucose/manose specific lectin isoform 1, from seeds of Cratylia mollis Mart (Camaratu bean). **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 55, n. 3, p. 261-273, 1995.

CSOBONYEIOVA, M.; POLAK, S.; DANISOVIC, L. Generation of Pancreatic β -cells From iPSCs and their Potential for Type 1 Diabetes Mellitus Replacement Therapy and Modelling. **Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes: Official Journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association**, 2018.

CUNHA, C. R. A.; ANDRADE, C. G.; PEREIRA, M. I. A.; CABRAL FILHO, P. E.; CARVALHO, L. B. J. R.; COELHO, L. C. B. B.; SANTOS, B. S.; FONTES, A.; CORREIA, M. T. S. Quantum dot-Cramoll lectin as novel conjugates to glycobiology. **Journal of Photochemistry and Photobiology Biology**, n. 178, p. 85-91, 2018.

CUNHA, C. R.; DA SILVA, L. C. N.; ALMEIDA, F. J. F.; FERRAZ, M. S.; VAREJÃO, N.; CARTAXO, M. F. S.; MIRANDA, R. C. M.; AGUIAR JR., F. C. A.; SANTOS, N. P. S.; COELHO, L. C. B. B.; SANTOS-MAGALHÃES, N. S.; CORREIA, M. T. S. Encapsulation into stealth liposomes enhances the antitumor action of recombinant Cratylia mollis lectin expressed in Escherichia coli. **Frontiers in Microbiology**, 7:1355, 2016.

DALL'AGO, P.; SILVA, V. O. K.; ANGELIS, K. L. D.; IRIGOYEN, M. C.; FAZAN JR, R.; SALGADO, H. C. Reflex control of arterial pressure and heart rate in short-term streptozotocin diabetic rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 35, n. 7, p. 843-849, 2002.

DAM, T. K.; CAVADA, B. S.; NAGANO, C. S.; ROCHA, B. A.; BENEVIDES, R. G.; NASCIMENTO, K. S.; SOUSA, L. A.; OSCARSON, S.; BREWER, C. F. Fine specificities of two lectins from Cymbosema roseum seeds: a lectin specific for high-mannose oligosaccharides and a lectin specific for blood group H type II trisaccharide. **Glycobiology**, v. 21, n. 7, p. 925–933, 2011.

DAN, X.; LIU, W.; NG, T.B. Development and applications of lectins as biological tools in biomedical research. **Medicinal Research Reviews**, v. 36, n. 2, p. 221-247, 2016.

DARBY, I. A.; LAVERDET, B.; BONTÉ, F.; DESMOULIÈRE, A. Fibroblasts and myofibroblasts in wound healing. **Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology**, v. 7, p. 301–311, 2014.

DeFRONZO R. A.; FERRANNINI, E.; ZIMMET, P.; ALBERTI, G. **International Textbook of Diabetes Mellitus**, 2 Volume Set, 4 Ed. Wiley-Blackwell, 2015. 1228 p.

DEREKE, J.; NILSSON, J.; NILSSON, C.; STREVESEN, H.; LANDIN-OLSSON, M.; HILLMAN, M. Soluble CD163 and TWEAK in early pregnancy gestational diabetes and later glucose intolerance. **PloS One.**, v. 14, n. 5, e0216728, 2019.

DICKINSON, L. E.; GERECHT, S. Engineered Biopolymeric Scaffolds for Chronic Wound Healing. **Frontiers in Physiology**, v. 7, p. 341, 2016.

DIEGELMANN, R. F.; EVANS, M. C. wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. **Frontiers in Bioscience**, v. 9, n. 1, p. 283-289, 2004.

DINH, T.; BRAUNAGEL, S.; ROSENBLUM, B. I. Growth factors in wound healing: the present and the future? **Clinics in Podiatric Medicine and Surgery**, v. 32, n. 1, p. 109-119, 2015.

ĐURAŠEVIĆ, S.; JASNIĆ, N.; PROKIĆ, M.; GRIGOROV, I.; MARTINOVIĆ, V.; ĐORĐEVIĆ, J.; PAVLOVIĆ, S. The protective role of virgin coconut oil on the alloxan- induced oxidative stress in the liver, kidneys and heart of diabetic rats. **Food & Function**, v. 10, n. 4, p. 2114-2124, 2019.

DVORAK, H. F. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: a critical cytokine in tumor angiogenesis and a potential target for diagnosis and therapy. **Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology**, v. 20, n. 21, p. 4368-4380, 2002.

EBAID, H.; AHMED, O. M.; MAHMOUD, A. M.; AHMED, R. R. Limiting prolonged inflammation during proliferation and remodeling phases of wound healing in streptozotocin-induced diabetic rats supplemented with camel undenatured whey protein. **BMC Immunology**, 14: 31, 2013.

EHRENREICH, M.; RUSZCZAK, Z. Update on tissue-engineered biological dressings. **Tissue Engineering**, v. 12, n. 9, p. 2407-2424, 2006.

EMING, S. A.; KRIEG, T.; DAVIDSON, J. M. Inflammation in wound repair: molecular and cellular mechanisms. **The Journal of Investigative Dermatology**, v. 127, n. 3, p. 514-525, 2007.

FAAL, S.; ABEDI, P.; JAHANFAR, S.; NDEKE, J. M.; MOHAGHEGH, Z.; SHARIFIPOUR, F.; ZAHEDIAN, M. Sex hormone binding globulin for prediction of gestational diabetes mellitus in pre-conception and pregnancy: A systematic review. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 52, p. 39-52, 2019.

FARRAR, D. **Advanced Wound Repair Therapies**. In: Andrew, J. R. (Ed), Biomimetic biomaterials: Structure and applications, Woodhead Publishing, Cambridge. 2011. 672 p.

FAWCETT, A.; SHEMBEKAR, M.; CHURCH, J. S.; VASHISHT, R.; SPRINGALL, R. G.; NOTT, D. M. Smoking, hypertension, and colonic anastomotic healing; a combined clinical and histopathological study. **Gut.**, v.

38, n. 5, p. 714-718, 1996.

FEDERIUK, I. F.; CASEY, H. M.; QUINN, M. J.; WOOD, M. D.; WARD, W. K. Induction of type-1 diabetes mellitus in laboratory rats by use of alloxan: route of administration, pitfalls, and insulin treatment. **Comparative Medicine**, v. 54, n. 3, p. 252-257, 2004.

FEJFAROVA, V.; JIRKOVSKÁ, A.; DUBSKÝ, M.; GAME, F.; VYDLÁKOVÁ, J.; SEKERKOVÁ, A.; FRANEKOVÁ, J.; KUČEROVÁ, M.; STŘÍŽ, I.; PETKOV, V.; BÉM, R.; WOSKOVÁ, V.; NĚMCOVÁ, A.; SKIBOVÁ, J. An alteration of lymphocytes subpopulations and immunoglobulins levels in patients with diabetic foot ulcers infected particularly by resistant pathogens. **Journal of Diabetes Research**, 2356870, 2016.

FERNANDES, M. P.; INADA, N. M.; CHIARATTI, M. R.; ARAÚJO, F. F.; MEIRELLES, F. V.; CORREIA, M. T.; COELHO, L. C.; ALVES, M. J.; GADELHA, F. R.; VERCESI, A. E. Mechanism of Trypanosoma cruzi death induced by Cratylia mollis seed lectin. **Journal of Bioenergetics and biomembranes**, v. 42, n. 1, p. 69-78, 2010.

FERNANDES, A. V.; RAMOS, M. V.; VASCONCELOS, I. M.; MOREIRA, A. C. O. M.; MORENO, F. B.; PEREIRA, J. O.; GONÇALVES, J. F. C. Purification and Characterization of a Lectin of the Swartzia Legume Taxa. **Protein and peptide letters**, v. 19, n. 10, p. 1082- 1088, 2012.

FERNANDES, D. R.; CAVALCANTE FILHO, R. D.; SILVA, J. N.; GERON, V. L. M.; TERRA JÚNIOR, A. T. Aspectos funcionais e fisiológicos do sistema renina-angiotensina aldosterona. **Revista Científica da Faculdade de Educação e Meio Ambiente**, v. 7, n. 1, p. 1-15, 2016.

FERRARA, A.; WEISS, N. S.; HEDDERSON, M. M.; QUESENBERRY, C. P. J. R.; SELBY, J. V.; ERGAS, I. J.; PENG, T.; ESCOBAR, G. J.; PETTITT, D. J.; SACKS, D. A. Pregnancy plasma glucose levels exceeding the American Diabetes Association thresholds, but below the National Diabetes Data Group thresholds for gestational diabetes mellitus, are related to the risk of neonatal macrosomia, hypoglycemia and hyperbilirubinaemia. **Diabetologia**, v. 50, n. 2, p. 298-306, 2007.

FIGUEIRÔA, E. O.; ARANDA-SOUZA, M. Â.; VAREJÃO N.; ROSSATO, F. A.; COSTA, R. A. P.; FIGUEIRA, T. R.; SILVA, L. C. N.; CASTILHO, T. F.; VERCESI, A. E.; CORREIA, M. T. S. pCramoll and rCramoll lectins induce cell death in human prostate adenocarcinoma (PC-3) cells by impairment of mitochondrial homeostasis. **Toxicology in Vitro: an international Journal Published in association with BIBRA**, v. 43, p. 40-46, 2017.

FLORA FILHO, R.; ZILBERSTEIN, B. Óxido nítrico: o simples mensageiro percorrendo a complexidade. Metabolismo, síntese e funções. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 46, n. 3, p. 265-271, 2000.

FU, L.; ZHOU, C.; YAO, S.; YU, J.; LIU, B.; BAO, J. Plant lectins: Targeting programmed cell death pathways as antitumor agents. **The international journal of biochemistry & cell biology**, v. 43, n. 10, p. 1442-1449, 2011.

FUJIWARA, N. H.; KALLMES, D. F.; LI, S. T.; LIN, H. B.; HAGSPIEL, K. D. Type 1 Collagen as an Endovascular Stent-Graft Material for Small-diameter Vessels: A Biocompatibility Study. **Journal of Vascular and Interventional Radiology**, v. 16, n. 9, p. 1229-1236, 2005.

GABBIANI, G.; HIRSCHL, B. J.; RYAN, G. B.; STATKOV, P. R.; MAJNO, G. Granulation tissue as a contractile organ. A study of structure and function. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 135, n. 4, p. 719-734, 1972.

GÁL, O.; VASILENKO, T.; KOSTELNÍKOVÁ, M.; JAKUBCO, J.; KOVÁČ, I.; SABOL, F.; ANDRÉ, S.; KALTNER, H.; GABIUS, H. J.; SMETANA, K. J. R. Open wound healing in vivo: monitoring binding and presence of adhesion/growth-regulatory galectins in rat skin during the course of complete re-epithelialization. **Acta Histochemica Cytochemica**, v. 44, n. 5, p. 191-199, 2011.

GHAZARIAN, H.; IDONI, B.; OPPENHEIMER, S. B. A glycobiology review: carbohydrates, lectins and implications in cancer therapeutics. **Acta Histochemica**, v. 113, n. 3, p. 236-247, 2011.

GIACCO F, BROWNLEE, M. Oxidative stress and diabetic complications. **Circulation Research**, v. 107, n. 9, p. 1058-1070, 2010.

GOMES, B. S.; SIQUEIRA, A. B. S.; MAIA, R. C. C.; GIAMPAOLI, V.; TEIXEIRA, E. H.; ARRUDA, F. V. S.; NASCIMENTO, K. S.; LIMA, A. N.; SOUZA-MOTTA, . M.; CAVADA, B. S.; PORTO, A. L. F. Antifungal activity of lectins against yeast of vaginal secretion. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 43, n. 2, p. 770-778, 2012.

GONZALEZ, A. C. O.; COSTA, T. F.; ANDRADE, Z. A.; MEDRADO, A. R. A. P. Wound healing - A literature review. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 91, n. 5, p. 614-20, 2016.

GRACIA, P. V.; OLMEDO, J. Diabetes gestacional: conceptos actuales. **Ginecología y Obstetricia de México**, v. 85, n. 6, p. 380-390, 2017.

HAYASHI, T. Xyloglucans in the primary cell wall. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.40, p. 139-168, 1989.

HEAGERTY, A. M.; AALKJAER, C.; BUND, S. J.; KORSGAARD, N.; MULVANY, M. J. Small artery structure in hypertension. Dual processes of remodeling and growth. **Hypertension**, v. 21, p. 391–397, 1993.

HE, J.; BAZAN, H. E. Neuroanatomy and neurochemistry of mouse cornea. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 57, p. 664-674, 2016.

HUETT, E.; BARTLEY, W.; MORRIS, D.; REASBECK, D.; MCKITRICK-BANDY, B.; YATES, C. Collagenase for wound debridement in the neonatal intensive care unit: a retrospective case series. **Pediatric Dermatology**, v. 34, n. 3, p. 277-281, 2017.

HUSKENS, D.; FÉRIR, G.; VERMEIRE, K.; KEHR, J.; BALZARINI, J.; DITTMANN, E.; SCHOLS, D. Microvirin, a novel $\alpha(1,2)$ -mannose-specific lectin isolated from *Microcystis aeruginosa*, has anti-HIV-1 activity comparable with that of cyanovirin-N but a much higher safety profile. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 285, n. 32, p. 24845– 24854, 2010.

ILANGO, K.; CHITRA, V. Wound Healing and Anti-oxidant Activities of the Fruit Pulp of *Limonia Acidissima* Linn (Rutaceae) in Rats. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 9, n. 3, p. 223-230, 2010.

ISAAC, C.; LADEIRA, P. R. S.; RÊGO, F. M. P.; ALDUNATE, J. C. B.; FERREIRA, M. C. Physiological wound healing. **Revista de Medicina**, v. 89, p. 125-131, 2010.

INNGJERDINGEN, K.; NERGARD, C. S.; DIALLO, D.; MOUNKORO, P. P.; PAULSEN, B. S. An ethnopharmacological survey of plants used for wound healing in Dogonland, Mali, West Africa. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 92, n. 2-3, p. 233-244, 2004.

INTENGAN, H. D.; SCHIFFRIN, E. L. Vascular remodeling in hypertension: roles of apoptosis, inflammation, and fibrosis. **Hypertension**, v. 38, p. 581–587, 2001.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. IDF Diabetes Atlas, 8^o ed. Bruxelas, Bélgica: International Diabetes Federation, 2017. Disponível em: <http://www.diabetesatlas.org/across-the-globe.html> Acesso em 22 jul. 2019.

JANDÚ, J. J.; COSTA, M. C.; SANTOS, J. R. A.; ANDRADE, F. M.; MAGALHÃES, T. F.; SILVA, M. V.; CASTRO, M. C. A. B.; COELHO, L. C. B. B.; GOMES, A. G.; PAIXÃO, T. A.; SANTOS, D. A.; CORREIA, M. T. S. Treatment with pCramoll alone and in combination with fluconazole provides therapeutic benefits in *C. gattii* infected mice. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, 7:211, 2017.

JAWORSKA, K.; HUC, T.; SAMBOROWSKA, E.; DOBROWOLSKI, L.; BIELINSKA, K.; GAWLAK, M.; UFNAL, M. Hypertension in rats is associated with an increased permeability of the colon to TMA, a gut bacteria metabolite. **PLoS One**. v. 12, n. 12, e0189310, 2017.

JOFFE, G. M.; ESTERLITZ, J. R.; LEVINE, R. J.; CLEMENS, J. D.; EWELL, M. G.; SIBAI, B. M.; CATALANO, P. M. The relationship between abnormal glucose tolerance and hypertensive disorders of pregnancy in healthy nulliparous women. Calcium for preeclampsia prevention (CPEP) study group. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 179, n. 4, p. 1032-

1037, 1998.

JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J. **Histologia básica: texto e atlas**. 13 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. 554 p.

KARUKONDA, S. R. K.; FLYNN, T. C.; BOH, E. E.; MCBURNEY, E. I.; RUSSO, G. G.; MILLIKAN, L. E. The effects of drugs on wound healing. **International Journal of Dermatology**, v.39, p. 250-257, 2000.

KAWAGUCHI, Y.; TAKAGI, K.; HARA, M.; FUKASAWA, C.; SUGIURA, T.; NISHIMAGI, E.; HARIGAI, M.; KAMATANI, N. Angiotensin II in the lesional skin of systemic sclerosis patients contributes to tissue fibrosis via angiotensin II type 1 receptors. **Arthritis & Rheumatology**, v. 50, n. 1, p. 216-226, 2004.

KAWSER HOSSAIN, M.; ABDAL DAYEM, A.; HAN, J.; KUMAR SAHA, S.; YANG, G. M.; CHOI, H. Y.; CHO, S. G. Recent advances in disease modeling and drug Discovery for diabetes mellitus using induced pluripotent stem cells. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 2, p. 256, 2016.

KIM, J.; YUN, H.; CHO, Y. Analysis of ceramide metabolites in differentiating epidermal keratinocytes treated with calcium or vitamin C. **Nutrition Research and Practice**, v. 5, n. 5, p. 396-403, 2011.

KIM, Y. J.; CARVALHO, F. C.; SOUZA, J. A. C.; GONÇALVES, P. C. G.; NOGUEIRA, A. V. B.; SPOLIDÓRIO, L. C.; ROQUE-BARREIRA, M. C.; CIRELLI, J. A. 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, n. 3, p. 456-463, 2013.

KIM, H. S.; SUN, X.; LEE, J. H.; KIM, H. W.; FU, X.; LEONG, K. W. Advanced drug delivery systems and artificial skin grafts for skin wound healing. **Advanced Drug Delivery Reviews**, S0169-409X (18), 30318-1, 2018.

KOLLURU, G. K.; BIR, S. C.; KEVIL, C. G. Endothelial dysfunction and diabetes: effects on angiogenesis, vascular remodeling, and wound healing. **International Journal of Vascular Medicine**, 918267, 2012.

KORSGARRD, N.; AALKJAER, C.; HEAGERTY, A. M.; IZZARD, A. S.; MULVANY, M. J. Histology, of subcutaneous small arteries from patients with essential hypertension. **Hypertension**, v. 22, n. 4, p. 523-526, 1993.

KUMAR, S.; SINGH, R.; VASUDEVA, N.; SHARMA, S. Acute and chronic animal models for the evaluation of anti-diabetic agents. **Cardiovascular Diabetology**, v. 11, n. 9, p. 1-13, 2012.

KUNO, A.; IKEHARA, Y.; TANAKA, Y.; ANGATA, T.; UNNO, S.; SOGABE, M.; OZAKI, H.; ITO, K.; HIRABAYASHI, J.; MIZOKAMI, M.; NARIMATSU, H. Multilectin assay for detecting fibrosis-specific glyco-alteration by means of lectin microarray. **Clinical Chemistry**, v. 57, n. 1, p. 48-56, 2011.

LAM, S. K.; NG, T. B. Lectins: production and practical applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, vol. 89, n.1, p.45–55, 2011.

LAUREANO, A.; RODRIGUES, A. M. Cicatrização de Feridas. **Revista da SPDV**, v. 69, n. 3, p. 355-365, 2011.

LAUTNER, R. Q.; DORNELAS, H. G. P.; SILVA, J. G. B. P. C. P.; ARAÚJO, G. H. S.; SILVA, I. M. Novas angiotensinas e suas implicações fisiológicas. **HU Revista**, v. 45, n. 2, p. 212-221, 2019.

LEE, Y. T.; LANGENHEIM, J. H. Systematics of the genus *Hymenaea* L. (Leguminosae, Caesalpinioideae, Detarieae). **University of California Publications in Botany**, v. 69, p. 1-109, 1975.

LI, C.; ZOLOTAREVSKY, E.; THOMPSON, I.; ANDERSON, M. A.; SIMEONE, D. M.; CASPER, J. M.; MULLENIX, M. C.; LUBMAN, D. M. A multiplexed bead assay for profiling glycosylation patterns on serum protein biomarkers of pancreatic cancer. **Electrophoresis**, v. 32, n. 15, p. 2028–2035, 2011.

LIMA, A. L. R.; CAVALCANTI, C. C. B.; SILVA, M. C. C.; PAIVA, P. M. G.; COELHO, L. C. B. B.; BELTRÃO, E. I. C.; CORREIA, M. T. S. Histochemical evaluation of human prostatic tissues with *Cratylia mollis* seed lectin. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, p. 6, 2010.

LIMA, M. H. M.; ARAUJO, E. P. Diabetes mellitus e o processo de cicatrização cutânea. **Cogitare Enfermagem**, v. 18, n. 1, p. 170-172, 2013.

LOSSIO, C. F.; MOREIRA, C. G.; AMORIM, R. M. F.; NOBRE, C. S.; SILVA, M. T. L.; NETO, C. C.; PINTO-JUNIOR, V. R.; SILVA, I. B.; CAMPOS, J.; ASSREUY, A. M. S.; CAVADA, B. S.; NASCIMENTO, K. S. Lectin from *Canavalia villosa* seeds: a glucose/mannose-specific protein and a new tool for inflammation studies. **International Journal of Biological Macromolecules**, 272-280, 2017.

LUCYSZYN, N.; LUBAMBO, A. F.; ONO, L.; JÓ, T. A.; SOUZA, C. F.; SIERAKOWSKI, M. R. Chemical, physico-chemical and cytotoxicity characterisation of xyloglucan from *Guibourtia hymenifolia* (Moric.) J. Leonard seeds. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 1242-1250, 2011.

MAAHS, D. M.; WEST, N. A.; LAWRENCE, J. M.; MAYER-DAVIS, E. J. Epidemiology of Type 1 Diabetes. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**, v. 39, n. 3, p. 481-497, 2010.

MACIEL, E. V.; ARAÚJO-FILHO, V. S.; NAKAZAWA, M.; GOMES, Y. M.; COELHO, L. C.; CORREIA, M. T. Mitogenic activity of *Cratylia mollis* lectin on human lymphocytes. **Biologicals**, v. 32, p. 57-60, 2004.

MALACHIAS, M. V. B.; PLAVNIK, F. L.; MACHADO, C. A.; MALTA, D.; SCALA, L. C. N.; FUCHS, S. 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial: Capítulo 1 - Conceituação, Epidemiologia e Prevenção Primária. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.107, n. 3, 2016.

MANDELBAUM, S. H.; DI SANTIS, E. P.; MANDELBAUM, M. H. S. Cicatrization: current concepts and auxiliary resources – Part I. **Anais Brasileiro de Dermatologia**, v. 78, n. 4, p. 393-410, 2003.

MANTOVANI, A.; BISWAS, S. K.; GALDIERO, M. R.; SICA, A.; LOCATI, M. Macrophage plasticity and polarization in tissue repair and remodelling. **The Journal of Pathology**, v. 229, n. 2, p. 176-185, 2013.

MARTIN, R. E.; CHANNE, Y. R. Partial purification and characterization of lectin from serum of American cockroach, *Periplaneta Americana*. **Journal of Applied Biology & Biotechnology**, v. 8, n. 1, p. 59-63, 2020.

MARTINS, V. L.; CALEY, M.; O'TOOLE, E. A. Matrix metalloproteinases and epidermal wound repair. **Cell and Tissue Research**, v. 351, n. 2, 2013.

MASI, E. C. D. J.; CAMPOS, A. C. L.; MASI, F. D. J.; RATTI, M. A. S.; IKE, I. S.; MASI, R. D. J. A influência de fatores de crescimento na cicatrização de feridas cutâneas de ratas. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, v. 82, n. 5, p. 512-521, 2016.

MASOOD, N.; AHMED, R.; TARIQ, M.; AHMED, Z.; MASOUD, M. S.; ALI, I.; ASGHAR, R.; ANDLEEB, A.; HASAN, A. Silver nanoparticle impregnated chitosan-PEG hydrogel enhances wound healing in diabetes induced rabbits. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 556, p. 23-36, 2019.

MELO, C. M.; DE CASTRO, M. C.; DE OLIVEIRA, A. P.; GOMES, F. O.; PEREIRA, V. R.; CORREIA, M. T.; COELHO, L. C.; PAIVA, P. M. Immunomodulatory response of Cramoll 1,4 lectin on experimental lymphocytes. **Phytotherapy Research**, v. 24, p. 1631-1636, 2010.

MELO, C. M.; DE LIMA, A. L.; BELTRÃO, E. I.; CAVALCANTI, C. C.; DE MELO-JÚNIOR, M. R.; MONTENEGRO, S. M.; COELHO, L. C.; CORREIA, M. T.; CARNEIRO-LEÃO, A. M. Potential effects of Cramoll 1,4 lectin on murine Schistosomiasis mansonii. **Acta Tropica**, v. 118, n. 2, p. 152-158, 2011.

MELO, C. M.; PORTO, C. S.; MELO-JÚNIOR, M. R.; MENDES, C. M.; CAVALCANTI, C. C. B.; COELHO, L. C. B. B.; PORTO, A. L. F.; CARNEIRO-LEÃO, A. M. A.; CORREIA, M. T. S. Healing activity induced by Cramoll 1,4 lectin in healthy and immunocompromised mice. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 408, n. 1-2, p. 113-119, 2011.

MELO, C. M. L.; MELO, H.; CORREIA, M. T. S.; COELHO, L. C. B. B.; SILVA, M. B.; PEREIRA, V. R. A. Mitogenic response and cytokine production induced by Cramoll 1,4 lectin splenocytes of inoculated mice. **Scandinavian Journal of Immunology**, v. 73, n. 2, p. 112-121, 2011.

MENDIZÁBAL, Y.; LLORENS, S.; NAVA, E. Hypertension in metabolic syndrome: vascular pathophysiology. **International Journal of Hypertension**, 230868, 2013.

MENDONCA, R. J.; COUTINHO-NETTO, J. Cellular aspects of wound healing. **Anais da Academia Brasileira de Dermatologia**, v.84, n.3, p.257-62, 2009.

MILLMAN, J. R.; XIE, C.; VAN DERVORT, A.; GÜRTLER, M.; PAGLIUCA, F. W.; MELTON, D. A. Generation of stem cell-derived β -cells from patients with type 1 diabetes. **Nature Communications**, 7:11463, 2016.

MIRANDA, A.; FERNANDES, V.; MARQUES, M.; CASTRO, L.; FERNANDES, O.; PEREIRA, M. L. Diabetes gestacional: avaliação dos desfechos maternos, fetais e neonatais. **Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo**, v. 12, n. 1, p. 36-44, 2017.

MKEDDER, I.; TRAVELET, C.; DURAND-TERRASSON, A.; HALILA, S.; DUBREUIL, F.; BORSALI, R. Preparation and enzymatic hydrolysis of nanoparticles made from single xyloglucan polysaccharide chain. **Carbohydrate Polymers**, v. 94, p. 934-939, 2013.

MONTEIRO, F. M. F.; SILVA, J. B. R.; CARVALHO, L.; CARNEIRO-LEÃO, A. M. A.; PORTO, A.; SILVA, G. M.; PORTO, C. S.; FILHO, J. L. L.; CARNEIRO-DA-CUNHA, M. G. Immobilization of trypsin on polysaccharide film from *Anacardium occidentale* L. and its application as cutaneous dressing. **Process Biochemistry**, v. 42, n. 5, p. 884-888, 2007.

MONTES, L. V.; BROSEGHINI, L. P.; ANDREATTA, F. S.; SANT'ANNA, M. E. S.; NEVES, V. M.; SILVA, A. G. Evidências para o uso da oleo-resina de copaiba na cicatrização de ferida – uma revisão sistemática. **Natureza online**, v. 7, n. 2, p. 61-67, 2009

MORTON, L. M.; PHILLIPS, T. J. Wound healing and treating wounds: Differential diagnosis and evaluation of chronic wounds. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 74, n. 4, p. 589-605, 2016.

MOURA, L. I.; DIAS, A. M.; CARVALHO, E.; SOUSA, H. C. Recent advances on the development of wound dressings for diabetic foot ulcer treatment-A review. **Acta Biomaterialia**, v. 9, n. 7, p. 7093-7114, 2013.

MUKHERJEE, S.; ZHENG, H.; DEREBE, M.; CALLENBERG, K.; 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. 505, p. 103-107, 2014.

MURPHY, K. E.; HALL, C. L.; MCCUE, S. W.; SEAN MCELWAIN, D. L. A two-compartment mechanochemical model of the roles of transforming growth factor β and tissue tension in dermal wound healing. **Journal of Theoretical Biology**, v. 272, p. 145-159, 2011.

NAGARAJAN, N.; JALAL, D. Resistant Hypertension: Diagnosis and

Management. **Advances in Chronic Kidney Disease**, v. 26, n. 2, p. 99-109, 2019.

NANDI, S.; SPROUL, E. P.; NELLENBACH, K.; ERB, M.; GAFFNEY, L.; FREYTES, D. O.; BROWN, A. C. Platelet-like particles dynamically fibrin matrices and improve wound healing outcomes. **Biomaterials Science**, v. 7, n. 2, p. 669-682, 2019.

NASCIMENTO-NETO, L. G.; CARNEIRO, R. F.; SILVA, S. R.; SILVA, B. R.; ARRUDA, F. V. S.; CARNEIRO, V. A.; NASCIMENTO, K. S.; SAKER-SAMPAIO, S.; SILVA-JUNIOR, V. A.; PORTO, A. L. F.; CAVADA, B. S.; SAMPAIO, A. H.; TEIXEIRA, E. H.; NAGANO, C. S. Characterization of isoforms of the lectin isolated from the red algae *Bryothamnion seaforthii* and its pro-healing effect. **Marine Drugs**, v. 10, p. 1936-1954, 2012.

NCD Risk Factor Collaboration. Worldwide trends in blood pressure from 1975 to 2015: a pooled analysis of 1479 population-based measurement studies with 19.1 million participants. **Lancet**, v. 389, n. 10064, p. 37-55, 2017.

NETA, N. B. D.; CARVALHO, A. F. M.; FIGUEIREDO, A. K. F. B.; CERQUEIRA, R. G. M.; SOUSA, M. A. A.; SANTANA, M. A. A.; SANTOS, Y. D. Biomembranas à base de quitosana e aplicação na cicatrização de úlceras cutâneas. **Revista da FAESF**, v. 3, n. 4, p. 4-10, 2019.

NETO, L. G. N.; PINTO, L. S.; BASTOS, R. M.; EVARISTO, F. F. V.; VASCONCELOS, M. A.; CARNEIRO, V. A.; ARRUDA, F. V. S.; PORTO, A. L. F.; LEAL, R. B.; SILVA-JÚNIOR, V. A.; CAVADA, B. S.; TEIXEIRA, E. H. Effect of the lectin of *Bauhinia variegata* and its recombinant isoform on surgically induced skin wounds in a murine model. **Molecules**, v. 16, 9298-9315, 2011.

NIE, W.; DETERS, A. M. Tamarind seed xyloglucans promote proliferation and migration of human skin cells through internalization via stimulation of proliferative signal transduction pathways. **Dermatology Research and Practice**, 359756, 2013.

NUNES, E.; SOUZA, M. A. A.; VAZ, A. F. M.; SANTANA, G. M. S.; GOMES, F. S.; COELHO, L. C. B. B.; PAIVA, P. M. G.; SILVA, R. M. L.; SILVA-LUCCA, R. A.; OLIVA, M. L. V.; GUARNIERI, M. C.; CORREIA, M. T. S. Purification of a lectin with antibacterial activity from *Bothrops leucurus* snake venom. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 159, p. 57-63, 2011.

OGURTSOVA, K.; DA ROCHA FERNANDES, J. D.; HUANG, Y.; LINNENKAMP, U.; GUARIGUATA, L.; CHO, N. H.; CAVAN, D.; SHAW, J. E.; MAKAROFF, L. E. IDF Diabetes Atlas: Global estimates for the prevalence of diabetes for 2015 and 2040. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 128, p. 40-50, 2017.

OKAMOTO, K.; AOKI, K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. **Japanese Circulation Journal**, v. 27, p. 282-293, 1963.

OLIVEIRA, I. V. P. M.; DIAS, R. V. C. Cicatrização de feridas: fases e fatores de influencia. **Acta Veterinária Brasilica**, v. 6, n. 4, p. 267-271, 2012.

OLIVEIRA FIGUEIRÔA, E.; ARANDA-SOUZA, M. Â.; VAREJÃO, N.; ROSSATO, F. A.; COSTA, R. A. P.; FIGUEIRA, T. R.; SILVA, L. C. N.; CASTILHO, R. F.; VERCESI, A. E.; SANTOS CORREIA, M. T. pCramoll and rCramoll lectins induce cell death in human prostate adenocarcinoma (PC-3) cells by impairment of mitochondrial homeostasis. **Toxicology In Vitro: an International Journal Published in Association With BIBRA**, v. 43, p. 40-46, 2017.

OLIVEIRA, P. S. S.; RÊGO, M. J. B. M.; SILVA, R. R.; CAVALCANTI, M. B.; GALDINO, S. L.; CORREIA, M. T. S.; COELHO, L. C. B. B.; PITTA, M. G. R. *Cratylia mollis* 1, 4 Lectin: A New Biotechnological Tool in IL-6, IL-17A, IL-22, and IL-23 Induction and Generation of Immunological Memory. **BioMed Research International**, 263968, 2013.

OLIVEIRA, W. F.; SILVA, G. M. M.; CABRAL FILHO, P. E.; FONTES, A.; OLIVEIRA, M. D. L.; ANDRADE, C. A. S.; SILVA, M. V.; COELHO, L. C. B. B.; MACHADO, G.; CORREIA, M. T. S. Titanium dioxide nanotubes functionalized with *Cratylia mollis* seed lectin, Cramoll, enhanced osteoblast-like cells adhesion and proliferation. **Materials Science and Engineering C: Materials for Biological Applications**, v. 90, p. 664-672, 2018.

ONENGUT-GUMUSCU, S.; CHEN, W. M.; BURREN, O.; COOPER, N. J.; QUINLAN, A. R.; MYCHALECKYJ, J. C.; FARBER, E.; BONNIE, J. K.; SZPAK, M.; SCHOFIELD, E.; ACHUTHAN, P.; GUO, H.; FORTUNE, M. D.; STEVENS, H.; WALKER, N. M.; WARD, L. D.; KUNDAJE, A.; KELLIS, M.; DALY, M. J.; BARRETT, J. C.; COOPER, J. D.; DELOUKAS, P.; TYPE 1 DIABETES GENETICS CONSORTIUM; TODD, J. A.; WALLACE, C.; CONCANNON, P.; RICH, S. S. Fine mapping of type 1 diabetes susceptibility loci and evidence for colocalization of causal variants with lymphoid gene enhancers. **Nature Genetics**, v. 47, n. 4, p. 381–386, 2015.

PAIVA, P. M. G.; NAPOLEÃO, T. H.; SÁ, R. A.; COELHO, L. C. B. B. Insecticide activity of lectins and secondary metabolites. In: Farzana Perveen. (Org.). **Insecticides - Advances in Integrated Pest Management**. Rijeka: InTech, p. 579-598, 2011.

PASTAR, I.; NUSBAUM, A. G.; GIL, J.; PATEL, S. B.; CHEN, J.; VALDES, J.; STOJADINOVIC, O.; PLANO, L. R.; TOMIC-CANIC, M.; DAVIS, S. Interactions of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* USA300 and *Pseudomonas aeruginosa* in polymicrobial wound infection. **PLoS One**, v. 8, n. 8, e56846, 2013.

PATRY, J. BLANCHETTE, V. Enzymatic debridement with collagenase in wounds and ulcers: a systematic review and metanalysis. **International Wound Journal**, v. 14, n. 6, p. 1055-1065, 2017.

PEREIRA, D. S. T.; LIMA-RIBEIRO, M. H. M.; SANTOS-OLIVEIRA, R.; CAVALCANTI, C. L. B.; PONTES-FILHO, N. T.; COELHO, L. C. B. B.; CARNEIRO-LEÃO, A. M. A.; CORREIA, M. T. S. Topical application effect of the isolectin hydrogel (Cramoll 1,4) on second-degree burns: experimental model. **Journal of Biomedicine & biotechnology**, 184538, 2012.

PEREIRA, D. S. T.; LIMA-RIBEIRO, M. H. M.; SANTOS-OLIVEIRA, R.; CAVALCANTI, C. L. B.; PONTES-FILHO, N. T.; ALVES, A. M. S.; CARNEIRO-LEÃO, A. M. A.; COELHO, L. C. B. B.; CORREIA, M. T. S. The use of lectin gel in the treatment of thermal burns in rats immunocompromised. **International Journal of Advanced Engineering Research and Science**, v. 6, 2019.

PINTO, M.V.M; ANJOS, C.B.; LOPES, D.V.; SANTOS, H.R.; SILVA, A.L.S.; BARBOSA, L.G.; GONÇALVES, R.V.; COSTA, D.A.; SILVA, C.M.; XAVIER, J.B.; JUSTINO, G.C.M.; MEYER, P.F.; SCAGLIONE, G.M.; AGUIAR, J.L.N. Influência da laserterapia de 632,8 nm por 150 mw na cicatrização de úlcera diabética. Relato de caso. **Revista Dor**, v.10, n.2, p.194-199, 2009.

PLOWS, J. F.; STANLEY, J. L.; BAKER, P. N.; REYNOLDS, C. M.; VICKERS, M. H. The pathophysiology of gestational diabetes mellitus. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 11, 2018.

POLHILL, R. M.; RAVEN, P. H.; STIRTON, C. H. Evolution and systematics of the Leguminosae. Pp. 1-26. In: R.M. Polhill & P.H. Raven (eds.). **Advances in Legume Systematics part I**. Kew, Royal Botanic Gardens, 1981.

PORTO, C. S.; MELO, C. M. L.; CORIOLANO, M.; LIMA-FILHO, J. L.; COELHO, L. C. B. B.; CORREIA, M. T. S.; PORTO, A. F. F.; CARNEIRO-LEÃO, A. M. A. Avaliação da atividade cicatrizante de *Parkia pendula* em feridas isquêmicas experimentais. In: caminho das ciências. **Editora Universitária da UFRPE**, v. 1, p. 133, 2006.

RADENKOVIĆ, M.; STOJANOVIĆ, M.; PROSTRAN, M. Experimental diabetes induced by alloxan and streptozotocin: The current state of the art. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 78, p. 13-31, 2016.

RANADE, S. S.; WOO, S. H.; DUBIN, A. E.; MOSHOURAB, R. A.; WETZEL, C.; PETRUS, M.; MATHUR, J.; BÉGAY, V.; COSTE, B.; MAINQUIST, J.; WILSON, A. J.; FRANCISCO, A. G.; REDDY, K.; QIU, Z.; WOOD, J. N.; LEWIN, G. R.; PATAPOUTIAN, A. Piezo2 is the major transducer of mechanical forces for touch sensation in mice. **Nature**, v. 516, n. 7529, p. 121-125, 2014.

REESE, S.; BUDRAS, K. D.; MULLING, CHR.; BRAGULLA, H.; KONIG, H. E. **Tegumento comum. In: Anatomia dos animais domésticos**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2016. 824 p.

REINKE, J. M.; SORG, H. Wound repair and regeneration. **European Surgical Research**, n. 49, p. 35-43, 2012.

RHETT, J. M.; GHATNEKAR, G. S.; PALATINUS, J. A.; O'QUINN, M.; YOST, M. J.; GOURDIE, R. G. Novel therapies for scar reduction and regenerative healing of skin wounds. **Trends Biotechnology**, v. 26, p. 173-180, 2008.

RIZZONI, D.; PORTERI, E.; GUEFI, D.; PICCOLI, A.; CASTELLANO, M.; PASINI, G.; MUIESAN, M. L.; MULVANY, M. J.; ROSEI, E. A. Cellular hypertrophy in subcutaneous small arteries of patients with renovascular Hypertension. **Hypertension**, v. 35, n. 4, p. 931- 935, 2000.

RODGERS, K.; VERCO, S.; BOLTON, L.; DIZEREGA, G. Accelerated healing of diabetic wounds by NorLeu(3)-angiotensin(1-7). **Expert Opinion on Investigational Drugs**, 20, 1575-1581, 2011.

ROSÁRIO, M. M.; NOLETO, G. R.; BENTO, J. F.; REICHER, F.; OLIVEIRA, M. B. M.; PETKOWICZ, C. L. O. Effect of storage xyloglucans on peritoneal macrophages. **Phytochemistry**, 69 (2), 464-472, 2008.

ROSS, M. H. **Histologia: texto e atlas**. 7 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016. 1000 p.

ROTHER, K. I. Diabetes treatment—bridging the divide. **The New England Journal of Medicine**, v. 356, n. 15, p. 1499, 2007.

SANTISTEBAN, M. M.; QI, Y.; ZUBCEVIC, J.; KIM, S.; YANG, T.; SHENOY, V.; COLE-JEFFREY, C. T.; LOBATON, G. O.; STEWART, D. C.; RUBIANO, A.; SIMMONS, C. S.; GARCIA-PEREIRA, F.; JOHNSON, R. D.; PEPINE, C. J.; RAIZADA, M. K. Hypertension-linked pathophysiological alterations in the gut. **Circulation Research**, v. 120, n. 2, p. 312-323, 2017.

SANTORO, M. M.; GAUDINO, G. Cellular and molecular facets of keratinocyte reepithelization during wound healing. **Experimental Cell Research**, v.304, n.1, p. 274-86, 2005.

SANTOS-OLIVEIRA, R.; LIMA-RIBEIRO, M. H. M.; CARNEIRO-LEÃO, A. M. A.; CRUZ, A. F.; SANTANA, M. F.; CAVALCANTI, C. L. B.; FILHO, N. T. P.; COELHO, L. C. B. B.; CORREIA, M. T. S. Evaluating the effective ness of gel formulation of irradiated seed lectin *Cratylia mollis* during bone repair in rats. **International Journal of Applied Basic Medical Research**, v. 3, n. 2, p. 88-92, 2013.

SANTOS, R. A. S.; FAGUNDES-MOURA, C. R.; SILVA, A. C. S. Efeitos cardiovasculares e renais do sistema renina-angiotensina. **Revista Brasileira Hipertensão**, v. 7, n. 3, p. 227-236, 2000.

SANTOS, V. N. S.; FERREIRA, L. M.; HORIBE, E. K.; DUARTE, I. S. Electric microcurrent in the restoration of the skin undergone a trichloroacetic acid peeling in rats. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 19, p. 466-469, 2004.

SANTOS SILVA, P. M.; OLIVEIRA, W. F.; ALBUQUERQUE, P. B. S.; CORREIA, M. T. S.; COELHO, L. C. B. B. Insights into anti-pathogenic activities

of mannose lectins. **International Journal of Biological Macromolecules**, n. 140, p. 234-244, 2019.

SCALA, L. C.; MAGALHÃES, L. B.; MACHADO, A. **Epidemiologia da hipertensão arterial sistêmica**. In: Moreira SM, Paola AV; Sociedade Brasileira de Cardiologia. Livro Texto da Sociedade Brasileira de Cardiologia. 2ª. ed. São Paulo: Manole; 2015. p. 780-785.

SCHMIEDER, R. E. End organ damage in hypertension. **Deutsches Arzteblatt international**, v. 107, n. 49, p. 866–873, 2010.

SENNETT, R.; RENDL, M. Mesenchymal-epithelial interactions during hair follicle morphogenesis and cycling. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, v. 23, n. 8, p. 917–927, 2012.

SENGUPTA, M.; BANERJEE, P.; PAUL S.; SENGUPTA, J.; GHOSH, M. Healing effect of phenytoin on excisional wound in experimental albino rats. **Muller Journal of Medical Sciences and Research**, n. 6, p. 27-30, 2015.

SETH, A. K.; GERINGER, M. R.; HONG, S. J.; LEUNG, K. P.; MUSTOE, T. A.; GALIANO, R. D. In vivo modeling of biofilm-infected wounds: a review. **Journal of surgical research**, v. 178, n. 1, p. 330-338, 2012.

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

SIBBALD, R. G.; GOODMAN, L.; WOO, K. Y.; KRASNER, D. L.; SMART, H.; TARIQ, G.; AYELLO, E. A.; BURRELL, R. E.; KEAST, D. H.; MAYER, D.; NORTON, L.; SALCIDO, R. S. Special considerations in wound bed preparation 2011: an update©. **Advances in Skin & Wound Care**, v. 24, n. 9, p. 415-136, 2011.

SIERSMA, V.; THORSEN, H.; HOLSTEIN, P. E.; KARS, M.; APELQVIST, J.; JUDE, E. B.; PIAGGESI, A.; BAKKER, K.; EDMONDS, M.; JIRKAVSKÁ, A.; MAURICIO, D.; TENNVALL, G. R.; REIKE, H.; SPRAUL, M.; UCCIOLI, L.; URBANCIC, V.; ACKER, K. V.; BAAL, J. V.; SCHAPER, N. C. Health-related quality of life predicts major amputation and death, but not healing, in people with diabetes presenting with foot ulcers: the Eurodiale study. **Diabetes Care**, v. 37, n. 3, p. 694-700, 2014.

SILVA, F. O.; SCHIRATO, G.; MELO JÚNIOR, M. R.; LIMA FILHO, J. L.; PORTO, A.; TEIXEIRA, E. H.; CAVADA, B. S.; CARNEIRO-LEÃO, A. M. A. Proteases profile of skin wounds treated with lectin from *Canavalia brasiliensis* seeds. **Ciência Rural**, v. 39, n. 6, p. 1808-1814, 2009.

SILVA, D. P.; MATWICHUK, M. L.; TOWNSEND, D. O.; REICHHARDT, C.; LAMBA, D.; WOZNIAK, D. J.; PARSEK, M. R. The *Pseudomonas aeruginosa* lectin LecB binds to the exopolysaccharide Psl and stabilizes the biofilm matrix. **Nature Communication**, v. 10, n. 2183, p. 1-11, 2019.

SILVA, L. C. N.; ALVES, N. M. P.; CASTRO, M. C. A. B.; PEREIRA, V. R. A.; PAZ, N. V. N.; COELHO, L. C. B. B.; FIGUEIREDO, R. C. B. Q.; CORREIA, M. T. S. Immunomodulatory effects of pCramoll and rCramoll on peritoneal exudate cells (PECs) infected and non-infected with *Staphylococcus aureus*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 72, p. 848-854, 2015.

SILVA, L. C.; ALVES, N. M. P.; CASTRO, M. C. A. B.; HIGINO, T. M. M.; CUNHA, C. R. A.; PEREIRA, V. R. A.; PAZ, N. V. N.; COELHO, L. C. B. B.; CORREIA, M. T. S.; FIGUEIREDO, R. C. B. Q. pCramoll and rCramoll as new preventive agents against the oxidative dysfunction induced by hydrogen peroxide. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 520872, 2015.

SINGER, A. J.; CLARK, R. A. Cutaneous wound healing. **The New England Journal of Medicine**, v. 321, n. 10, p. 738-746, 1999.

SINGER, A. J.; McCLAIN. Persistent wound infection delays epidermal maturation and increases scarring in thermal burns. **Wound Repair and Regeneration**, v. 10, n. 6, p. 372-377, 2002.

SINGH, A.; DILNAWAZ, F.; SAHOO, S. K. Long circulating lectin conjugated paclitaxel loaded magnetic nanoparticles: a new theranostic avenue for leukemia therapy. **PLoS ONE**, v. 6, n. 11, e26803, 2011.

SINGH, N.; ARMSTRONG, D. G.; LISY, B. A. Preventing foot ulcers in patients with diabetes. **JAMA**, 293 (2), 217-228, 2005.

SOARES, P. A.; NASCIMENTO, C. O.; PORTO, T. S.; CORREIA, M. T.; PORTO, A. L.; CARNEIRO-DA-CUNHA, M. G. Purification of a lectin from *Canavalia ensiformis* using PEG–citrate aqueous two-phase system. **Journal of Chromatography**, v. 879, p. 457–460, 2011.

SOL, F. G. D.; CAVADA, B. S.; CALVETE, J. J. Crystal structures of *Bauhinia floribunda* seed lectin at acidic and basic pHs. Insights into the structural basis of the pH-dependent dimer-tetramer transition. **Journal of Structural Biology**, v. 158, p. 1-9, 2007.

SONEJA, A.; MALINSKI, T.; DREWS, M. Role of nitric oxide, nitroxidative and oxidative stress in wound healing. **Pharmacological Reports**, v.57, p.108-119, 2005.

SOUZA, F. D.; VASCONCELOS, P. D.; SILVA, A. F. B.; MOTA, E. F.; TOMÉ, A. R.; MENDES, F. R. S.; GOMES, A. M. M.; ABRAHAM, D. J.; SHIWEN, X.; OWEN, J. S.; LOURENZONI, M. R.; CAMPOS, A. R.; MOREIRA, R. A.; MONTEIRO-MOREIRA, A. C. O. Hydrogel and membrane scaffold formulations of Frutalin (breadfruit lectin) within a polysaccharide galactomannan matrix have potential for wound healing. **International Journal of Biological Macromolecules**, 121, 429-442, 2019.

SOUZA-JUNIOR, T. P.; ASANO, R. Y.; PRESTES, J.; SALES, M. P. M.; COELHO, J. M. O.; SIMÕES, H. G. Óxido nítrico e exercício: uma revisão. **Journal of Physical Education**, v. 23, n. 3, p. 469-481, 2012.

SOUZA, S. R.; CORREIA, M. T. S.; PESSOA, M. A. M.; KENNEDY, J. F.; LIMA, J. L.; COELHO, L. C. B. B. **Carbohydrate Polymers**, v. 46, p. 191-193, 2001.

SOUZA, G. A.; OLIVEIRA, P. S.; TRAPANI, S.; SANTOS, A. C.; ROSA, J. C.; LAURE, H. J.; FAÇA, V. M.; CORREIA, M. T.; TAVARES, G. A.; OLIVA, G.; COELHO, L. C.; GREENE, L. J. Amino acid sequence and tertiary structure of *Cratylia mollis* seed lectin. **Glycobiology**, v. 13, n. 12, p. 961-972, 2003.

SPECTOR, M. Biomaterials. In: Achauer B., Eriksson E., Guyuron B. Plastic Surgery, Indications, Operations, Outcomes. Mosby Year Book; 2001, p. 239-259.

STECKELINGS, U. M.; WOLLSCHLAGER, T.; PETERS, J.; HENZ, B. M.; HERMES, B.; ARTUC, M. Human skin: source of and target organ for angiotensin II. **Experimental Dermatology**, v. 13, n. 3, p. 148-54, 2004.

STECKELINGS UM, HENZ BM, WIEHSTUTZ S, UNGER T, ARTUC M. Differential expression of angiotensin receptors in human cutaneous wound healing. **British Journal of Dermatology**, v. 153, n. 5, p. 887-893, 2005.

STREIT, M.; VELASCO, P.; RICCARDI, L.; SPENCER, L.; BROWN, L. F.; JAMES, L.; LANGE-ASSCHENFELDT, B.; YANO, K.; HAWIGHORST, T.; IRUELA-ARISPE, L.; DETMAR, M. Thrombospondin-1 suppresses wound healing and granulation tissue formation in the skin of transgenic mice. **The EMBO Journal**, v. 19, n. 13, p. 3272-3282, 2000.

SUBRAMANIAN, M.; THOTAKURA, B.; CHANDRA SEKARAN, S. P.; JYOTHI, A. K.; SUNDARAMURTHI, I. Naringin Ameliorates Streptozotocin-Induced Diabetes through Forkhead Box M1-Mediated Beta Cell Proliferation. **Cells, Tissues, Organs**, v. 206, n. 4-5, p. 242-253, 2018.

SUN, J.; WANG, L.; WANG, B.; GUO, Z.; LIU, M.; JIANG, K.; LUO, Z. Purification and characterization of a natural lectin from the serum of the shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 23, n. 2, p. 292-299, 2007.

SUN, B. K.; SIPRASHVILI, Z.; KHAVARI, P. A. Advances in skin grafting and treatment of cutaneous wounds. **Science**, v. 346, n. 6212, p. 941-5, 2014.

SUN, G. Pro-regenerative hydrogel restores scarless skin during cutaneous wound healing. **Advanced Healthcare Materials**, v. 6, n. 23, 2017.

SZKUDELSKI, T.; KANDULSKA, K.; OKULICZ, M. Alloxan in vivo does not only exert deleterious effects on pancreatic B cells. **Physiological research**, v. 47, p. 343-346, 1998.

SZWED, D. N.; SANTOS, V. L. P. Fatores de crescimento envolvidos na cicatrização de pele. **Cadernos da Escola de Saúde**, v.1, n.15, p. 7-17, 2015.

TAKEBE, Y.; SAUCEDO, C. J.; LUND, G.; UENISHI, R.; HASE, S.; TSUCHIURA, T.; KNETEMAN, N.; RAMESSAR, K.; TYRREL, D. L. J.; SHIRAKURA, M. WAKITA, T.; McMAHON, J. B.; O'KEEFE, B. R. Antiviral lectins from red and blue-green algae show potent in vitro and in vivo activity against hepatitis C virus. **PLoS ONE**. v. 8, n. 5, e64449, 2013

TAKEDA, H.; KATAGATA, Y.; HOZUMI, Y.; KONDO, S. Effects of angiotensin II receptor signaling during skin wound healing. **American Journal Pathology**, v. 165, n. 5 ,p. 1653-1662, 2004.

TALAGAS, M.; LEBONVALLET, N.; BERTHOD, F.; MISERY, L. Cutaneous nociception: role of keratinocytes. **Experimental Dermatology**, v. 28, n. 12, p. 1466-1469, 2019.

TAM, J. C. W.; KO, C. H.; LAU, K. M.; TO, M. H.; KWOK, H. F.; CHAN, Y. W.; SIU, W. S.; ETIENNE-SELLOUM, N.; LAU, C. P.; CHAN, W. Y.; LEUNG, P. C.; FUNG, K. P.; SCHINI-KERTH, V. B.; LAU, C. B. S. A chinese 2-herb formula (NF3) promotes hindlimb ischemia-induced neovascularization and wound healing of diabetic rats. **Journal of Diabetes and its Complications**, 28, 436-447, 2014.

THEORET, C. Tissue engineering in wound repair: the three “R” s - - repair, replace, regenerate. **Veterinary Surgery**, v. 38, n. 8, p. 905-913, 2009.

TORRES-VALENZUELA, A.; RODRÍGUEZ-GIL, A.; VALLES-ARAIZA, D. A.; VÁSQUEZ-GARCÍA, R.; LERMA-BURCIAGA, C. G. Perfiles clínico y epidemiológico de los pacientes con pie diabético. **Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas**, v. 20, n. 3, p. 294-301, 2015.

TRAPP, S. M.; VAILATI, M. C. F.; MATSUBARA, B. B.; SCHWARTZ, D. S. Efeitos da angiotensina II no sistema cardiovascular. **Archives of Veterinary Science**, v. 14, n. 4, p. 233-243, 2009.

TRAVI-CARNEIRO, M. C.; CARNEIRO-TRAVI, M. I.; BOCK, P. M. Fatores de crescimento na cicatrização de úlceras diabéticas. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, ano 11, nº 38, 2013.

VIEIRA, A. C. Q. M.; MEDEIROS, L. A.; PALÁCIO, S. B.; LYRA, M. A. M.; ALVES, L. D. S. ROLIM, L. A.; ROLIM-NETO, P. J. Fatores de crescimento: uma nova abordagem cosmecêutica para o cuidado antienvhecimento. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 92, n. 3, p. 80-89, 2011.

WANG, W.; SCHULZE, C. J.; SUAREZ-PINZON, W. L.; DYCK, J. R. B.; SAWICKI, G.; SCHULZ, R. Intracellular action of matrix metalloproteinase-2 accounts for acute myocardial ischemia and reperfusion injury. **Circulation**, v. 106, n. 12, p. 1543-1549, 2002.

WANG, Y.; JOBE, S. M.; DING, X.; CHOO, H.; ARCHER, D. R.; MI, R.; JU, T.; CUMMINGS, R. D. Platelet biogenesis and functions require correct protein O-glycosylation. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 100, n. 40, p. 16143-16148, 2012.

WEBER, M. A.; SCHIFFRIN, E. L.; WHITE, W. B.; MANN, S.; LINDBOLM, L. H.; KENERSON, J. G.; FLACK, J. M.; CARTER, B. L.; MATERSON, B. J.; RAM, C. V. S.; COHEN, D. L.; CADET, J. C.; JEAN-CHARLES, R. R.; TALER, S.; KOUNTZ, D.; TOWNSEND, R. R.; CHALMERS, J.; RAMIREZ, A. J.; BAKRIS, G. L.; WANG, J.; SCHUTTE, A. E.; BISOGNANO, J. D.; TOUYZ, R. M.; SICA, D.; HARRAP, S. B. Clinical practice guidelines for the management of hypertension in the community: a statement by the American Society of Hypertension and the International Society of Hypertension. **Journal of Clinical Hypertension**, v. 16, n. 1, p. 14-26, 2014.

WERDIN, F.; TENNENHAUS, M.; SCHALLER, H. E.; RENNEKAMPFF, H. O. Evidence-based management strategies for treatment of chronic wounds. *Eplasty*, 2009.

WERNER, S.; GROSE, R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. **Physiological Reviews**, v. 83, n. 3, p. 835-870, 2003.

WIEGAND, C.; HIPLER, U. Polymer-based biomaterials as dressing for chronic stagnating wounds. **Macromolecular Symposia**, v. 294, n. 2, p. 1-13, 2010.

WITITSUWANNAKUL, R.; WITITSUWANNAKUL, D.; SAKULBORIRUG, C. A lectin from the bark of the rubber tree (*Hevea brasiliensis*). **Phytochemistry**, v. 47, n. 2, p. 183-187, 1998.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. (1). Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications : report of a WHO consultation. Part 1, Diagnosis and classification of diabetes mellitus. World Health Organization. 1999. Disponível em: <http://www.who.int/iris/handle/10665/66040>
Acesso em 22 jul. 2019.

YANG, T.; SANTISTEBAN, M. M.; RODRIGUEZ, V.; LI, E.; AHMARI, N.; CARVAJAL, J. M.; ZADEH, M.; GONG, M.; QI, Y.; ZUBCEVIC, J.; SAHAY, B.; PEPINE, C. J.; RAIZADA, M. K.; MOHAMADZADEH, M. Gut dysbiosis is linked to hypertension. **Hypertension**, v. 65, n. 6, p. 1331-1340, 2015.

XU, N.; WANG, L.; GUAN, J.; TANG, C.; H. E. N.; ZHANG, W.; FU, S. Wound healing effects of a *Curcuma zedoaria* polysaccharide with platelet-rich plasma exosomes assembled on chitosan/silk hydrogel sponge in a diabetic rat model. **International Journal of Biological Macromolecules**, 117, 102-107, 2018.

ZANCHI, A.; BRUNNER, H. B.; HAYOZ, D. Age-related changes of the mechanical properties of the carotid artery in spontaneously hypertensive rats. **Journal of Hypertension**, v. 15, p. 1415-1422, 1997.

ZIERIS, A.; PROKOPH, S.; LEVENTAL, K. R.; WELZE, P. B.; GRIMMER, M.; FREUDENBERG, U. WERNER, C. FGF-2 and VEGF functionalization of starPEG–heparin hydrogels to modulate biomolecular and physical cues of angiogenesis. **Biomaterials**, v. 31, n. 32, p. 7985-7994, 2010.



Treatment with pCramoll Alone and in Combination with Fluconazole Provides Therapeutic Benefits in *C. gattii* Infected Mice

Jannyson J. Jandú¹, Marliete C. Costa², Julliana R. A. Santos³, Fernanda M. Andrade¹, Thais F. Magalhães², Márcia V. Silva¹, Maria C. A. B. Castro^{4,5}, Luanna C. B. B. Coelho¹, Aline G. Gomes⁶, Tatiane A. Paixão⁶, Daniel A. Santos² and Maria T. S. Correia^{1*}

¹Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brazil, ²Departamento de Microbiologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil, ³Laboratório de Micologia, Universidade CEUMA, São Luís, Brazil, ⁴Núcleo de Enfermagem, Universidade Federal de Pernambuco, Vitória de Santo Antão, Brazil, ⁵Laboratório de Imunogenética, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Recife, Brazil, ⁶Departamento de Patologia Geral, Instituto Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil

OPEN ACCESS

Edited by:

Joao Santana Silva,
University of São Paulo, Brazil

Reviewed by:

Karen L. Wozniak,
University of Texas at San Antonio,
United States
Carlos Pelleschi Taborda,
University of São Paulo, Brazil

*Correspondence:

Maria T. S. Correia
mtscorreia@gmail.com

Received: 09 August 2016

Accepted: 09 May 2017

Published: 24 May 2017

Citation:

Jandú JJ, Costa MC, Santos JRA, Andrade FM, Magalhães TF, Silva MV, Castro MCAB, Coelho LCBB, Gomes AG, Paixão TA, Santos DA and Correia MTS (2017) Treatment with pCramoll Alone and in Combination with Fluconazole Provides Therapeutic Benefits in *C. gattii* Infected Mice. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 7:211. doi: 10.3389/fcimb.2017.00211

Cryptococcus gattii is one of the main causative agents of cryptococcosis in immunocompetent individuals. Treatment of the infection is based on the use of antimycotics, however, the toxicity of these drugs and the increase of drug-resistant strains have driven the search for more effective and less toxic therapies for cryptococcosis. pCramoll are isolectins purified from seeds of *Cratylia mollis*, a native forage plant from Brazil, which has become a versatile tool for biomedical application. We evaluated the effect of pCramoll alone and in combination with fluconazole for the treatment of mice infected with *C. gattii*. pCramoll alone or in combination with fluconazole increased the survival, reduced the morbidity and improved mice behavior i.e., neuropsychiatric state, motor behavior, autonomic function, muscle tone and strength and reflex/sensory function. These results were associated with (i) decreased pulmonary and cerebral fungal burden and (ii) increased inflammatory infiltrate and modulatory of IFN γ , IL-6, IL-10, and IL-17A cytokines in mice treated with pCramoll. Indeed, bone marrow-derived macrophages pulsed with pCramoll had increased ability to engulf *C. gattii*, with an enhanced production of reactive oxygen species and decrease of intracellular fungal proliferation. These findings point toward the use of pCramoll in combination with fluconazole as a viable, alternative therapy for cryptococcosis management.

Keywords: cryptococcosis, immunomodulation, lectins, *Cratylia mollis* lectin, fluconazole, survival

INTRODUCTION

Cryptococcus gattii is a pathogenic fungus that affects mainly immunocompetent individuals. The desiccated yeasts and spores are inhaled and enter the body via the respiratory system, finally infecting the central nervous system (CNS) and causing meningo-encephalitis (Thompson et al., 2012), which frequently has a poor prognosis. Meningitis and meningo-encephalitis are

typical in HIV/AIDS and transplant-recipient patients, but also in apparently healthy individuals (Sharon et al., 2012). The main therapies for cryptococcosis treatment caused by *C. gatti* are fluconazole (antifungal azole) and amphotericin B (antifungal polyene; Santos et al., 2012; Reichert-Lima et al., 2016). Fluconazole is used in cases of pulmonary diseases with mild to moderate symptoms. In severe infections, amphotericin B is recommended (associated or not with 5-Flucytosine) followed by a prolonged therapy with fluconazole. Itraconazole, voriconazole, and other azoles are recommended when the use of fluconazole is contraindicated or ineffective (Perfect et al., 2010). Resistance against antifungals (Zhai et al., 2013) enhances clinical failures and increases morbidity and mortality (Ghannoum and Rice, 1999). Furthermore, side effects due to the use of amphotericin B lead to dose-dependent nephrotoxicity frequently associated with increased mortality, requiring monitoring of the renal function of patients. Altogether, these findings increase the demand for new therapies against cryptococcosis.

Previous studies have shown that lectins from plants may have immunomodulatory effects: augmented recruitment and activation of mononuclear and polymorphonuclear leukocytes, development of Th1, Th2, and Th17 response and stimulation of phagocytosis (da Silva and Correia, 2014). *Cratylia mollis* is a native forage plant endemic to the Semiarid Region of Brazil (Caatinga biome), and popularly known as camaratu bean. Four isolectins (Cramoll 1, 2, 3, and 4) can be purified from seeds of the plant. pCramoll (preparation containing isolectins 1 and 4) has binding sites for the specific recognition of glucose/mannose receptors and presents anthelmintic, antiprotozoal, antitumoral, healing, and immunomodulatory effects (Maciel et al., 2004; Melo et al., 2011; da Silva et al., 2014). Focusing on immunoregulatory properties, the aim of this study was to evaluate the immunomodulatory effect of pCramoll in a murine model of infection by *C. gattii*. Our results revealed that this lectin is able to increase survival, decrease fungal burden in organs and reduce the morbidity of cryptococcosis.

MATERIALS AND METHODS

pCramoll

C. mollis seed extract (10% w/v prepared in 0.15 M NaCl) was fractionated using ammonium sulfate (40–60% w/v) and the fraction obtained was submitted to affinity chromatography in a Sephadex G-75. The pCramoll preparation was bioselectively eluted with 0.3 M of D-glucose in 0.15 M NaCl, dialyzed against 0.15 M NaCl for 24 h and subsequently lyophilized (Correia and Coelho, 1995) and diluted in PBS to analyze protein concentration, as determined by the BCA kit (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA).

Phagocytosis Assay, Intracellular Proliferation Rate (IPR), Measurement of ROS, and NO Production by Macrophages

Bone marrow cells were isolated as described previously (Weischenfeldt and Porse, 2008; de Souza et al., 2016). Femurs and tibias from mice were removed, disinfected by immersion

in 70% ethanol and the ends of each bone were cut. Both bones were flushed with 5 mL of cold RPMI 1640 (HyClone, LGC Biotecnologia) using a 5-mL syringe and a 25-gauge needle. The cell suspension was centrifuged for 5 min at 1,200 rpm at 4°C and washed once with cold RPMI. Then, bone marrow cells were counted using a hemocytometer and the concentration was adjusted to 2×10^6 cells/mL for plating on tissue culture-treated petri dishes in BMM medium (RPMI supplemented with 30% L929 growth conditioning media, 20% bovine fetal serum [Gibco], 2 mM glutamine [Sigma], 25 mM HEPES pH 7.2, 100 units/mL of penicillin-streptomycin [Life Technologies]). Fresh media were added every 48 h. Bone marrow-derived macrophages (BMDMs) were collected on day 7 and used for subsequent experiments. Under these conditions, macrophages/monocytes progenitors will proliferate and differentiate into a homogenous population of mature BMDMs, obtained >90% pure live macrophages (Zhang et al., 2008; Bouwman et al., 2014; Bhattacharya et al., 2015; Heung and Hohl, 2016). For all analyses, the cells were infected with L27/01 yeasts cells (growth on Sabouraud Dextrose Agar (SDA) medium, for 48 h at 35°C) opsonized with 10% murine serum in RPMI suspension (0.4×10^6 cells/mL), at the proportion of 5 macrophages: 1 *C. gattii*, under cell treatment with 1 or 5 μ M pCramoll and incubated for 3 or 24 h at 37°C under 5% CO₂.

The phagocytic index was performed using 24-well plates and a single coverslip 13 mm in diameter. After 3 h, these coverslips containing adherent cells were removed, stained with Giemsa and the index was calculated as the percentage of cells with internalized *C. gattii* 24 h post-infection (Santos et al., 2014). Images from the phagocytosis assay were obtained using a Nikon COOLPIX 4500 camera coupled to a Nikon ECLIPSE E200 microscope with 100x of magnification and analyzed using the ImageJ Protocol (<http://rsbweb.nih.gov/ij/>); the cell area (average of 100 cells per coverslip) was measuring as described by Baviskar (2011).

The intracellular proliferation rate (IPR) assay was performed as previously described (Ma et al., 2009) with modifications. Non-internalized yeast cells in the supernatant were taken from the wells and the adherent phagocytes were washed with 200 μ L PBS. These macrophages were lysed at 3 and 24 h with 200 μ L of cold, sterile, distilled water and incubated for 30 min, then 100 μ L was collected and plated on SDA medium, and the viable yeast cells were counted. The IPR was calculated as the quotient of the intracellular yeast cell numbers at 24 h (the point in time which featured the maximum intracellular yeast number) and 3 h.

The supernatant of phagocytosis assay was used for measurement of NO production using the Griess assay. The nitrite concentration was quantified by extrapolation from a sodium nitrite standard curve, determined at 540 nm with a microplate reader (Benchmark Plus, Bio-Rad, CA, US).

Macrophages/well in RPMI-1640 without phenol red (Sigma-Aldrich) were also infected with *C. gatti* (same conditions that phagocytosis assay), and the supernatant was used for ROS quantification using 2,2'-dichlorofluorescein diacetate (DCFH-DA; Invitrogen, Life Technologies, Carlsbad, CA, USA) was used and the fluorescence was measured with a fluorometer (Synergy 2

SL Luminescence Microplate Reader; Biotek) the positive control was hydrogen peroxide at 10 μ M (Ferreira et al., 2013).

Effect of pCramoll and Fluconazole in the *Cryptococcus gattii* Infection Model

The protocol of the animal studies was approved by the Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) at the Universidade Federal de Minas Gerais (Protocol 310/2014). All mice were housed in clean cages, with food and water *ad libitum*. The controlled environment was set to a 12 h light/dark cycle at 23°C. Mice C57BL/6, 5–6 weeks old ($n = 6$ /group) were anesthetized by intraperitoneal (i.p.) injection of ketamine hydrochloride (60 mg.kg⁻¹) and xylazine (10 mg.kg⁻¹) in PBS, and then inoculated by an intratracheal infection with 30 μ L of 10⁴ CFU/animal of *C. gattii*, L27/01 strain. Intratracheal infection with the *C. gattii* L27/01 strain (GVII molecular type) has been previously shown in other works (Santos et al., 2014; Ferreira et al., 2015).

Initially, infected mice were intraperitoneally (i.p.) treated every 10 days with 1, 250, or 500 μ g of lectin alone (the first dose was administered 1 day before intratracheal infection). For the group treated with the combination fluconazole (20 mg.kg⁻¹) and pCramoll at 1, 250, or 500 μ g (the fluconazole was daily administered and every 10 days the association was used), or the mice were treated daily with fluconazole alone (20 mg.kg⁻¹) for survival monitoring. The untreated group (NT), and not infected group (NI) were inoculated with PBS. All animals were monitored twice daily for survival and behavior parameter analysis (SHIRPA protocol). The SHIRPA protocol analyzes the behavioral and functional assessment of neurological diseases (Rogers et al., 1997). The tasks are grouped into five functional categories: neuropsychiatric state, motor behavior, autonomic function, muscle tone and strength, and reflex and sensory function (Santos et al., 2014; Costa et al., 2016). All mice were examined daily and the score for each functional category was calculated as the total of the evaluated parameters according to Lackner et al. (2006) and Pedroso et al. (2010) using the EpiData 3.1 software. The Table S1 describes all the parameters analyzed in the SHIRPA protocol.

Furthermore, other groups of mice were i.t. infected and treated with pCramoll at 1 μ g per mouse (the concentration that provided the best results in the survival curve), combined or not with fluconazole to obtain lungs and brain at 15 or 35 days post-infection (d.p.i). The animals were euthanized by cervical dislocation under anesthesia. The lungs and brain were removed for determining the colony-forming units (CFU) as described previously (Santos et al., 2014). For this, the organs were homogenized with sterile PBS and plated in SDA medium. Specifically, 100 or 50 mg of lung tissue was homogenized with 1 or 0.5 mL of extraction solution of protein, containing PBS (pH 7.0) and anti-proteases (0.1 mM PMSF, 0.1 mM benzethonium chloride, 10 mM EDTA, 20 Kallikrein inhibitor units of aprotinin A, all purchased from Sigma-Aldrich and 0.05% tween 20). The samples were centrifuged for 10 min at 3,000 $\times$ g, at 4°C and the supernatant was frozen at -20°C and utilized for cytokine analysis. The levels of IL-10 and IL-6 were determined using commercially available antibodies according

to the manufacturer's instructions (R&B Systems, Minneapolis, MN, USA) and the levels of IFN- γ and IL-17A were measured by cytometric bead array (BD Biosciences, San Jose, CA, USA). Also, the bronchoalveolar lavage fluid (BAL) was obtained and centrifuged at 1,200 rpm for 5 min at 4°C. The cell pellet was suspended in 3% albumin solution (100 μ l). A 10 μ l aliquot of albumin solution containing the cells washed was diluted in 10 μ L of Türck for cell count totals in a Neubauer chamber with an optical microscope at 40x magnification. For differential counts, smears were made in cellspin (CT-2000, CIENTEC), stained using the Giemsa method and cells were quantified by morphological criteria for the distinction of cellular types (mononuclear and polymorphonuclear) and the results were grouped according to the percent content of these two cells type (Maxeiner et al., 2007).

Myeloperoxidase (MPO) and N-Acetylglucosaminidase (NAG) Activities

The infiltration of neutrophil in the lungs was indirectly measured by the assay of myeloperoxidase activity (MPO) according to Costa et al. (2016), by measuring the change in optical density (OD) using 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine (TMB) (Sigma-Aldrich). The absorbance reading was taken at 450 nm in a spectrophotometer. For N-acetylglucosaminidase activity (NAG), 2,24mMp-nitrophenyl-N-acetyl- β -D-glicosaminide (Sigma-Aldrich) was used and absorbance was determined at 400 nm (Baltazar et al., 2014).

Histopathology

The lungs were removed during necropsy and immediately fixed in buffered 10% formalin (v/v). The tissue was embedded in paraffin, and the sections were stained with hematoxylin and eosin (Sigma) and examined under light microscopy.

Statistical Analysis

Statistical analysis of all data were performed using GraphPad Prism version 5.0 with $p < 0.05$ considered significant. The survival curve was plotted by Kaplan-Meier analysis and the results were analyzed using the log rank test, for behavior parameters the area under the curve was analyzed. Also, the results of the phagocytosis assay, IPR, measurement of ROS and NO production by macrophages, MPO and NAG activity, and quantification of cytokines were analyzed by analysis of variance (ANOVA) followed by Dunn's Multiple Comparison Test and the Student's *t*-test.

RESULTS

Preliminary Tests of Toxicity and Antifungal Activity of pCramoll

Previously, the pCramoll toxicity analysis in *Caenorhabditis elegans* model was performed complementarily. Non-toxicity was verified in these worms (data not shown) and confirms the non-cytotoxicity of the pCramoll concentration used in this study and published previously by da Silva et al. (2014). Subsequently, we investigated the antifungal activity of pCramoll against *C. gattii* by screening and determining the minimum inhibitory

concentration (MIC). Neither of the concentrations tested (0.93–120 $\mu\text{g/mL}$) were able to inhibit fungal growth (data not shown). Indeed, no interaction between pCramoll and fluconazole was obtained by the checkerboard test (data not shown).

pCramoll Increases Phagocytosis and Fungicidal Activity of Bone Marrow-Derived Macrophages (BMDM)

pCramoll at 1 μM increased the phagocytic index after 3 h of incubation (**Figure 1A**), compared with the untreated group. At the same time, the levels of ROS were increased in the presence of pCramoll at 1 and 5 μM , both for infected and uninfected macrophages (**Figure 1B**), especially with pCramoll at 1 μM with significant increase in the production of nitrosative species (**Figure 1C**). This increase in ROS levels was associated with a reduced IPR (**Figure 1D**). Another interesting observation was the presence of macrophage aggregates, vacuoles and increased expansion of the cells (area) in the presence of increasing concentration of pCramoll (**Figure 1E**). Bone marrow-derived macrophages stimulated with pCramoll at 1 and 5 μM showed, 3 h post-incubation, 0.080 and 0.197 μm^2 of area, respectively, while at 24 h: 0.214 and 0.483 μm^2 , respectively. There was an increase of up to 5 $\times$ in cell area compared with untreated macrophages infected with *C. gattii* after 3 h and to 7 $\times$ after 24 h of incubation (**Figure 1F**).

pCramoll and Fluconazole Increase the Survival and Improve the Behavior of Animals Infected with *C. gattii*

An increase in survival of animals treated with pCramoll was observed. The untreated group (NT) showed a median survival (MS) of 20 days (**Figure 2A**), while the MS for groups treated with the lectin at 500, 250, and 1 μg , were 30.5 ($p < 0.05$; data not shown), 30 ($p < 0.01$; data not shown) and 29.5 ($p < 0.01$) days (**Figure 2A**), respectively, an increase of 50% (approximately) for all doses tested, and an independent dose response. pCramoll at 500, 250, and 1 μg was also tested in uninfected animals and no change in the survival/behavior of animals compared to NI mice was found (data not shown). When combined with fluconazole, the influence of lectins on survival was dose dependent. The group treated with fluconazole alone showed an MS of 46 days, while the groups where pCramoll was combined with the antifungal demonstrated a MS of 51 days for 500 μg of pCramoll (data not shown), 58 days for 250 μg of pCramoll (data not shown) and 62 days for 1 μg of pCramoll ($p < 0.05$; **Figure 2A**). Based on these results, the dose of 1 μg of pCramoll combined or not with fluconazole was used in the further experiments. Indeed, the cellular polysaccharide extracted from strain L27/01 (PSC) of *C. gattii* was associated with pCramoll and fluconazole, and were tested in our model. The administration of PSC only hurried the death of infected animals (MS of 17 days), compared to the NT group (20 days). The same was observed where PSC was associated with pCramoll and fluconazole (MS of 43 days), compared to the FCZ-treated group (MS of 46 days), where the animals had previously succumbed (data not shown).

The behavior analysis of basic functions such as sensory-reflex (**Figure 2B**), muscle tone and strength (**Figure 2C**) demonstrated improved behavior by day 20 post-infection when animals were treated with pCramoll, fluconazole and the combination compared to the untreated group (NT). Moreover, the combination is significantly more efficient than fluconazole alone ($p < 0.05$). A similar behavioral profile was observed for parameters involved in the neuropsychiatric state (**Figure 2D**) and body weight (**Figure 2E**), which improved by day 22 post-infection ($p < 0.05$) for all the treated groups, but with better performance for groups treated with the combination ($p < 0.05$). There was no difference between the treated and untreated groups for motor behavior (**Figure 2F**). Finally, as shown in **Figure 2G**, autonomic function was only improved when the combination was used ($p < 0.05$).

The Combination pCramoll + Fluconazole Reduces Fungal Burden and Increases Inflammatory Response

All the treatments reduced the fungal burden in the lungs after 15 dpi. At 35 days post infection, fluconazole combined with pCramoll was better than fluconazole alone in reducing pulmonary fungal burden ($p < 0.05$; **Figure 3A**). In brain tissue, only the use of fluconazole reduced the fungal burden after 15 dpi (**Figure 3B**), however, the combination (fluconazole + pCramoll) was able to reduce cerebral fungal burden significantly when compared with fluconazole alone after 35 dpi ($p < 0.05$). Histological analysis of lung tissue from untreated infected mice at 15 dpi showed numerous yeasts in the pulmonary parenchyma, mild perivascular infiltrate and alveolar thickening. Moderate to intense perivascular inflammation was observed in lung tissue from pCramoll, and pCramoll + fluconazole groups. Lungs from treated groups showed less yeast in alveolar space than the untreated group (**Figure 3C**).

Regarding the inflammatory infiltrate in the bronchoalveolar lavage fluid (**Figure 4A**), we verified a predominance of mononuclear cells for all groups except the one treated with the combination, for which there was a balance between mononuclear and polymorphonuclear cells, at both 15 and 35 dpi (**Figure 4B**). Additionally, MPO (**Figure 4C**) and NAG (**Figure 4D**) activities were performed in order to confirm the presence of neutrophils and macrophages, respectively, where the combination demonstrated higher activities of both enzymes at 15 dpi.

The levels of IFN- γ (**Figure 4E**) were higher for the group treated with the combination at 35 dpi. The levels of IL-6 (**Figure 4F**) and IL-10 (**Figure 4G**) were augmented in the NT group. An increase in IL-17A (**Figure 4H**) was verified for the combination and for fluconazole alone at 15 dpi.

DISCUSSION

We observed complementarily that pCramoll did not show toxicity in the *C. elegans* model, corroborating previously published *in vitro* cytotoxicity data in mammalian cells (Melo et al., 2010, 2011; da Silva et al., 2015). In addition, pCramoll

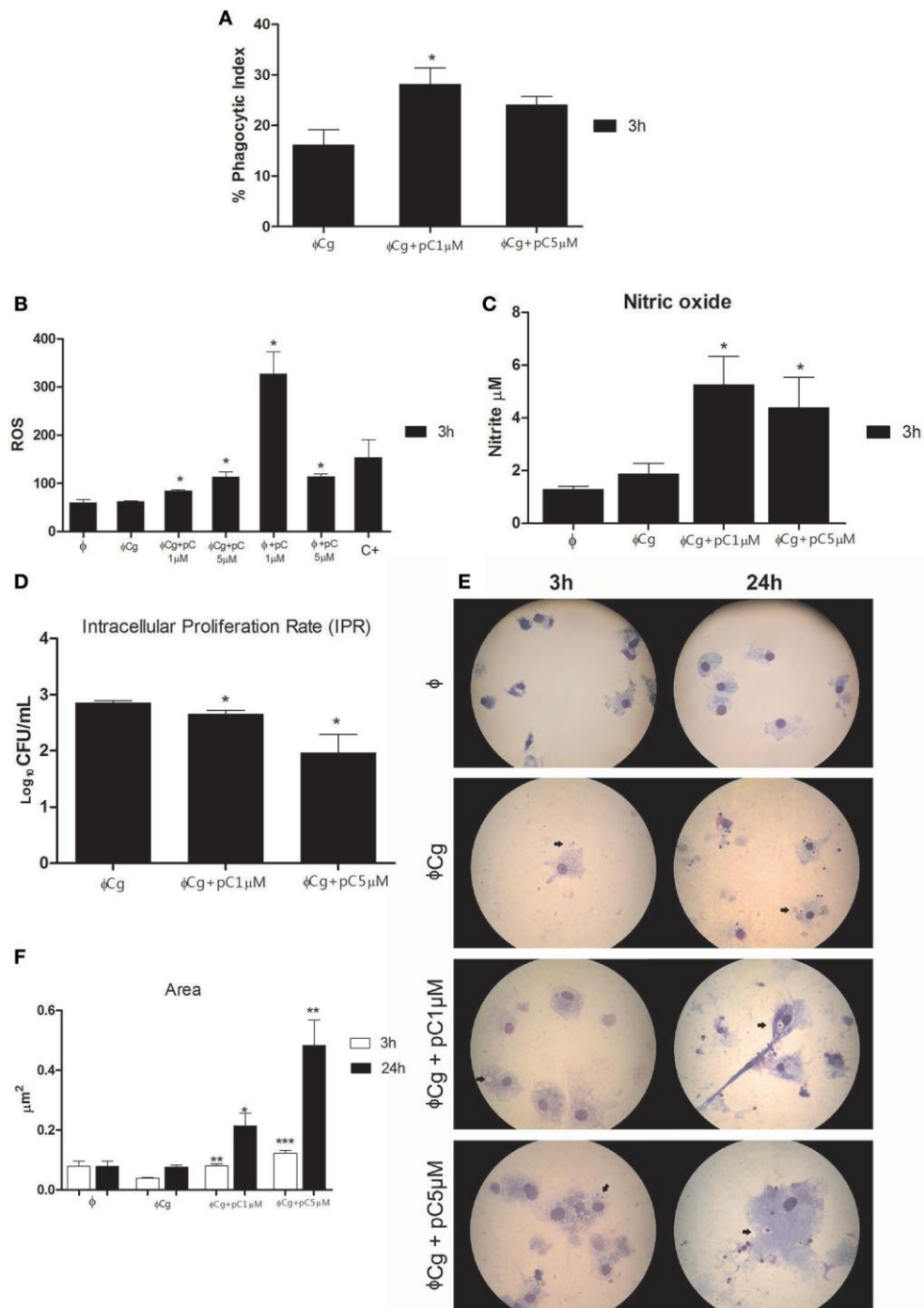


FIGURE 1 | Immunomodulatory and fungicidal effect of pCramoll in murine bone marrow macrophages infected with *Cryptococcus gattii*. (A) After 3 h of incubation, the phagocytic index increased under pCramoll treatment to 1 μ M; (B) After 3 h of incubation, treatment with pCramoll enhances ROS production in macrophages infected with *C. gattii*, in a concentration-dependent manner. (C) Oxide Nitric production after 3 h after incubation; (D) Intracellular Proliferation Rate after 24 h of incubation; (E) Macrophage morphology after 24 h of incubation with *C. gattii*, showing *C. gattii* phagocytosis (arrows). Cell cultures were observed under 100 $\times$ optical zoom and 10 fields per coverslip. (F) Area of macrophages stimulated with lectins and subsequently infected with *C. gattii*. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.005$ (Difference between treatment groups and infected control); ϕ , Uninfected macrophages; ϕ Cg, *C. gattii*-infected macrophages; ϕ pC, Uninfected macrophages treated with pCramoll; C+ 10 μ M Hydrogen peroxide. Data represent the means $\pm$ SE from two independent experiments consisting of ten replicate assays.

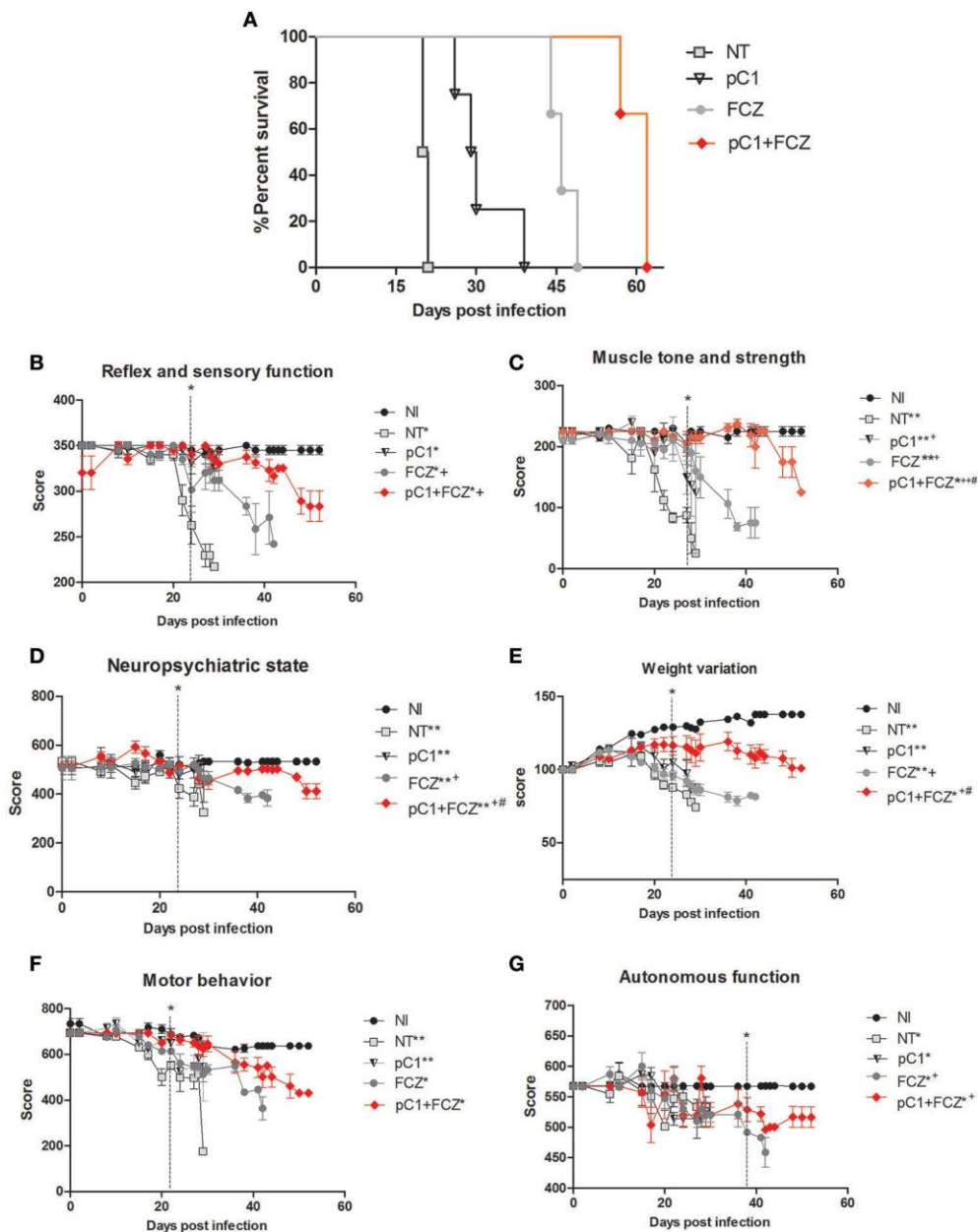


FIGURE 2 | Survival curve and behavioral profile evaluation of mice infected with *Cryptococcus gattii* and subjected to different treatments. (A) Six mice per group were inoculated with 10^4 cells of L27/01 strain by intratracheal line inoculation and treated with fluconazole at $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (FCZ), pCramoll at 1 ug (pC1), or the combination (pC1 + FCZ). Animals treated by pC1 + FCZ had an average increase of over 34.8% in survival compared to those treated with FCZ alone $*p < 0.05$. (B–G) Five animals per group were submitted to the SHIRPA Protocol. There was no behavioral difference between uninfected mice (NI) and those treated with pC1 alone, which did also not influence the survival of mice. Untreated mice (NT); $*p < 0.05$; $**p < 0.001$ (difference when compared to NI); $+p < 0.5$; $++p < 0.001$ (difference when compared to NT); $\#p < 0.05$ (difference between FCZ and combination). Data represent the means $\pm$ SE from three independent experiments.

did not present antimicrobial action against *C. gatti*, an activity rarely found in the legume lectin domain (Dias et al., 2015). However, a few studies have shown the immunomodulatory potential of plant lectins to combat bacterial and fungal infections (Alegre-Maller et al., 2014), in this context pCramoll influences the inflammatory responses against *C. gatti*.

pCramoll increased the phagocytosis of *C. gatti* and the production of ROS and NO, augmenting the fungicidal activity of macrophages. Furthermore, this effect was observed in the cellular morphology of infected macrophages. Previously, the immunoregulatory influence of pCramoll has been portrayed, showing increased phagocytosis of *S. aureus*, as well as enhancement of NO, ROS, and pro-inflammatory cytokines

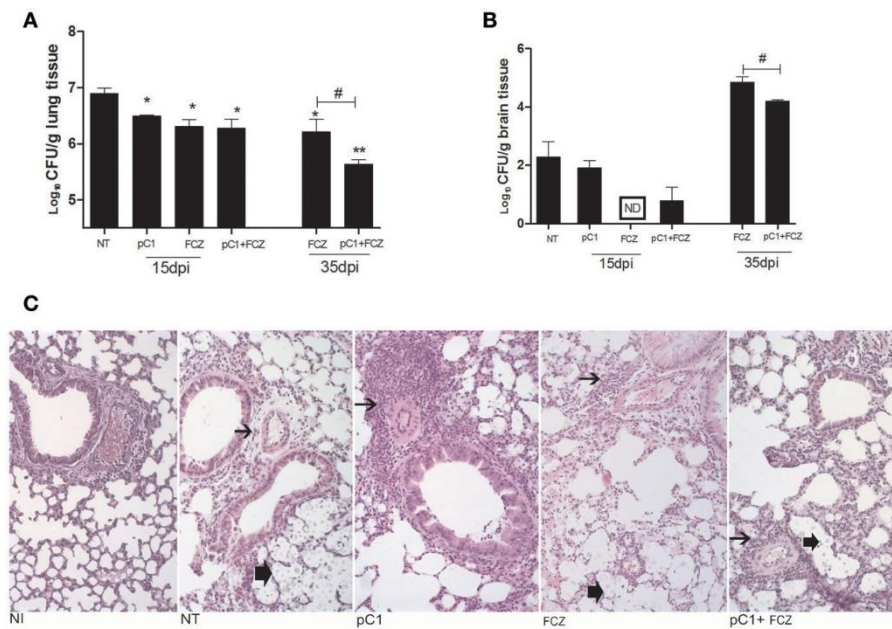


FIGURE 3 | pCramoll in combination with fluconazole shows increased survival and reduced fungal burden in the lungs and brain of *Cryptococcus gattii*-infected mice. Six mice per group were inoculated with 10^4 cells of the L27/01 strain by intratracheal line inoculation and given the combination treatment, analyzed at 15 and 35 dpi: (A,B) Colony-forming Units (CFU) recovered from brain and lungs, respectively, at 15 and 35 days post infection; (C) Histological sections of lung tissue stained with H&E at $200\times$, 15 days post inoculation. Non-infected mice showed normal histology. Mice treated with pC1 showed more prominent perivascular inflammatory infiltrate (thin arrow) and less yeasts (thick arrow) in alveolar space than untreated, infected mice. Mice from FLZ or pC1 + FLZ showed moderate inflammation. Uninfected animals (NI), infected untreated control (NT), groups treated with pCramoll at $1\mu\text{g}$ (pC1), Fluconazole (FCZ), ND (not recovered CFU). * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ (difference between treated groups and NT); # $p < 0.05$ (difference between FCZ alone and combination, at 35 dpi). Data represent the means $\pm$ SE from three independent experiments consisting of triplicate assays.

(da Silva et al., 2014). Phagocytosis is the main mechanism for fungal elimination (Leopold et al., 2016), and is associated with increased survival of infected animals. Artin M (another mannose-specific lectin, like pCramoll) demonstrated that phagocytosis was also the mechanism responsible for *Candida albicans* elimination, reducing the fungal burden in target organs and increasing animal survival (Loyola et al., 2012).

The murine model used in this study mimics the natural route of infection by *C. gattii*, as confirmed by the results of fungal burden and alterations in histopathology and behavior. pCramoll alone, as well as when combined with fluconazole, enhanced the survival of animals and improved the behavioral alterations caused by neuro-cryptococcosis. pCramoll in association with fluconazole decreased distinct alterations in related parameters, such as sensory-reflex function, the neuropsychiatric state, muscle tone, and strength, as well as body weight. In the course of the disease, these clinical manifestations are determinants for neurological sequelae and death (Chen et al., 2012).

The pCramoll and fluconazole treatments decreased CFU in the lungs, at 15 dpi. Not only does this association enable a significant reduction in CFU, it is also more effective than the use of fluconazole alone in treating pulmonary cryptococcosis. Although yeasts were recovered from the brain of animals treated with the combination, they were not found in animals treated only with fluconazole. This may be due to pCramoll not crossing

the blood-brain barrier (Patricio et al., 2011) and not directly acting on the CNS. Meanwhile, fluconazole was present at higher concentration in the CNS after 14 days of use, reducing CFU in the brain (Mendes et al., 2010). Furthermore, pCramoll also stimulates *C. gattii* phagocytosis, increasing the early combat of the pathogen in the lungs. However, some yeasts have the capacity to survive in phagolysosomes, enabling transmigration of the fungus (Charlier et al., 2009). This phenomenon reduces fungal permanence in lung tissue, inhibiting strategies of fungal adaptation, avoiding cellular modification which inhibit the phagocytosis, and more virulent growth, like giant, fluconazole-resistant cells (Kronstad et al., 2011).

Interestingly, 35 days post-infection, there was a significant decrease in CFU in the lungs and brain in animals treated with the combination compared to the use of fluconazole alone. Ongoing use of the combination resulted in better neurological and behavioral conditions. This therapeutic characteristic is very important because previous studies have demonstrated that most patients infected with *C. gattii* presented CNS cryptococcosis, especially with meningitis 64–76% (Chen et al., 2000, 2012). The reduced number of yeasts in the brain improves the general conditions of mice, as confirmed by the results shown in the survival curve.

Infections with *C. gattii* leads to suppression of the host's immune responses, including decreased leukocyte recruitment

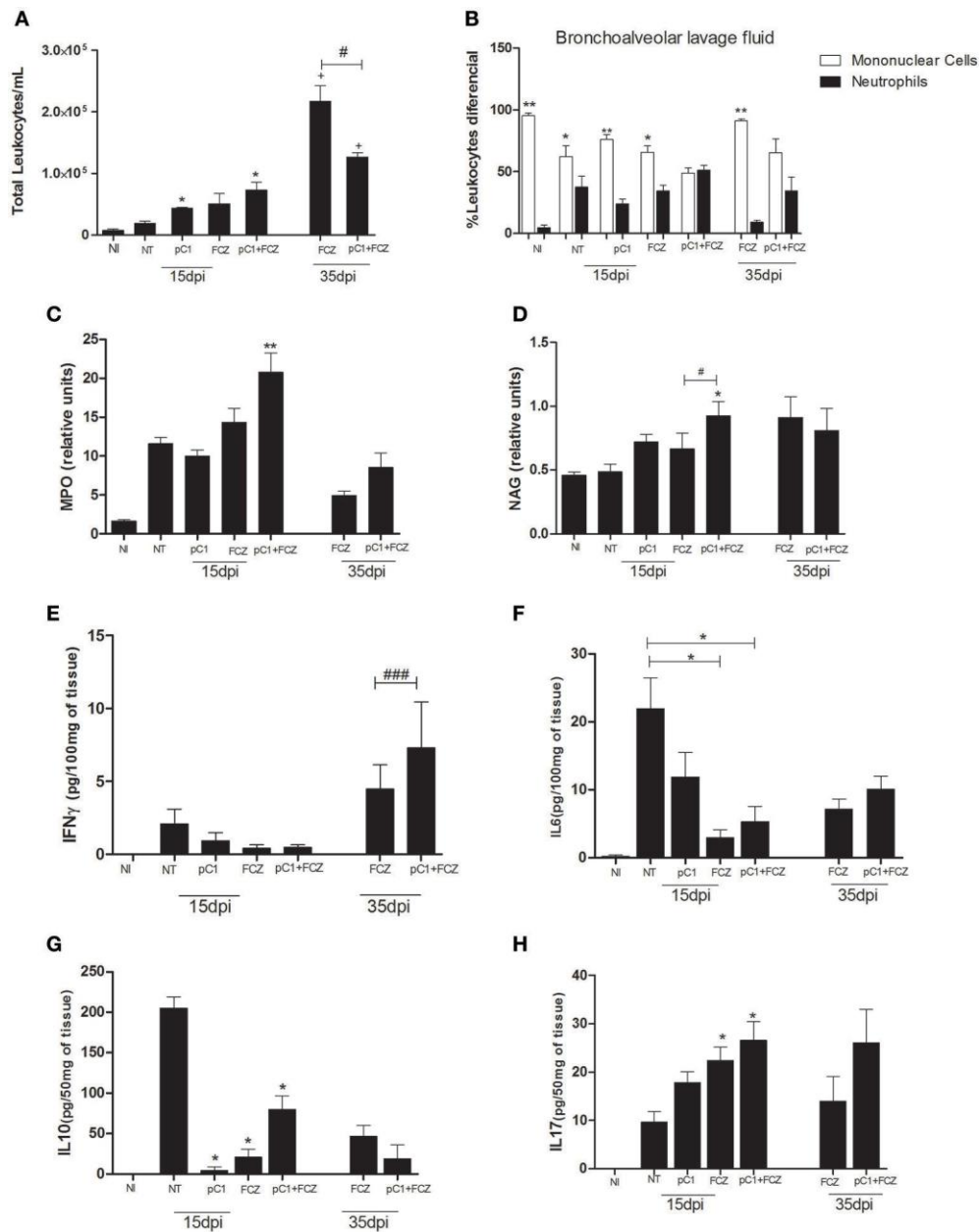


FIGURE 4 | Inflammatory response of pCramoll in combination with fluconazole in *Cryptococcus gattii*-infected mice, analyzed at 15 and 35 dpi: (A,B) Total and differential count of leukocytes (neutrophils and mononuclear cells) in the bronchoalveolar lavage, respectively; at 15 and 35 days after infection; (C,D) Myeloperoxidase and N-acetylglucosaminidase activities in lungs of infected animals; (E–H) Levels of cytokines IFN- γ , IL-6, IL-10, and IL-17A in lungs. Uninfected animals (NI), infected untreated control (NT), groups treated with pCramoll at 1 μ g (pC1), Fluconazole (FCZ), * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ (difference between treated groups and NT); # $p < 0.05$ (difference when comparing treated groups); ### $p < 0.005$ (difference between FCZ alone and combination, at 35 dpi); + $p < 0.5$ (difference between 15 dpi and 35 dpi). Data represent the means $\pm$ SE from three independent experiments consisting of triplicate assays.

and pro-inflammatory cytokine production (Wright et al., 2002; Leopold et al., 2016). On the other hand, the therapy tested in this work has shown that, at 15 dpi, the animals treated with pCramoll alone increase leukocyte migration with a predominance of monocytes to macrophages contained in the BAL, although with less expression of inflammatory cytokines IFN- γ , IL-4, and TNF- α in the lungs (data not shown). The recruitment of these cells

and their presence in the inflammatory response are crucial for immunological responses and pathogen depletion, mainly by phagocytosis (Melo et al., 2010).

At 15 dpi, when pCramoll was combined with fluconazole, despite the large inflammatory infiltrate, the leukocyte content was balanced (neutrophils and macrophages), with lower Th1 cytokine expression (IFN- γ) as well as IL-10 auto-regulator.

This is very important because the highly detrimental effect of IL-10 in cryptococcal infection models, as shown in NT mice, plays a major role in downregulating cryptococcal clearance (Olszewski et al., 2014). The same way as at 15 dpi, the high IL-17A production was observed for the combination. This inflammatory profile is not limited to the Th1/Th2 balance polarization against the infection, this response has been credited to IL-17A cytokine, which is known to have a role in cellular recruitment (Kolls and Lindén, 2004; Steinman, 2007) and contribute to anti-cryptococcal protection (Voelz et al., 2009).

Up to 35 dpi, an increase of IFN- γ was observed in the lungs of mice treated with the combination, followed by IL-17A production, however with lower inflammatory infiltrate compared to the fluconazole group. The early decrease of IL-10 as seen in the groups treated with pC and their combination enhances IFN- γ and IL-17A effector responses and promotes fungal clearance in mice with cryptococcal lung infection (Murdock et al., 2014a). Previous studies have shown that pCramoll lectin stimulates Th17- and modulate the Th1-type cytokines production (Oliveira et al., 2013). The influence of the Th17 pathway in resistance to fungal pathology is a prospective finding in experimental Aspergillosis and Candidiasis studies (Romani and Puccetti, 2006; Zelante et al., 2009), while the role of Th1-type cytokines has also been demonstrated (Voelz et al., 2009; Gibson and Johnston, 2015). Moreover, the moderate inflammation is fundamental to the mechanism of tissue repair, associated with antifungal pathways, as seen in associated response mechanisms of IL17/IL10 cytokines (Zizzo and Cohen, 2013; Murdock et al., 2014b). Lower/moderate inflammation contributes to better neurological conditions.

Therefore, pCramoll is an immunomodulatory lectin without antifungal activity but its combination with fluconazole increases the survival of animals with cryptococcosis, improving aspects of morbidity present in disease progression.

REFERENCES

- Alegre-Maller, A. C., Oliveira, A. F., Dos Reis Almeida, F. B., Roque-Barreira, M. C., and Hanna, E. S. (2014). Recombinant paracoccin reproduces the biological properties of the native protein and induces protective Th1 immunity against *Paracoccidioides brasiliensis* infection. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 8:e2788. doi: 10.1371/journal.pntd.0002788
- Baltazar, L. M., Santos, P. C., Paula, T. P., Rachid, M. A., Cisalpino, P. S., Souza, D. G., et al. (2014). IFN- γ impairs *Trichophyton rubrum* proliferation in a murine model of dermatophytosis through the production of IL-1 β and reactive oxygen species. *Med. Mycol.* 78, 352–358. doi: 10.1093/mmy/myt011
- Baviskar, S. N. (2011). A quick & automated method for measuring cell area using imageJ. *Am. Biol. Teach.* 73, 554–556. doi: 10.1525/abt.2011.73.9.9
- Bhattacharya, P., Dey, R., Dagur, P. K., Kruhlak, M., Ismail, N., Debrabant, A., et al. (2015). Genetically modified live attenuated *Leishmania donovani* parasites induce innate immunity through classical activation of macrophages that direct the Th1 response in mice. *Infect. Immun.* 83, 3800–3815. doi: 10.1128/IAI.00184-15
- Bouwman, L. I., de Zoete, M. R., Bleumink-Pluym, N. M., Flavell, R. A., and van Putten, J. P. (2014). Inflammasome activation by *Campylobacter jejuni*. *J. Immunol.* 193, 4548–4557. doi: 10.4049/jimmunol.1400648

CONCLUSION

Immunotherapy with lectins in the treatment of cryptococcosis has not been reported, making this work pioneering. The immunoregulatory effect of pCramoll increases the survival of animals and improves clinical signs. Combination with fluconazole was able to reduce fungal burden in the lungs and brain of infected animals, increase *C. gattii* phagocytosis and produce higher levels of ROS. As such, the combination thereby represents a promising alternative in the treatment of cryptococcosis.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

JJ: performed plant collection, biochemical, antimicrobial, and immunological assays, analysis and wrote the paper; JS: contributed in the experimental developing with animals; MC: permed experimental procedures *in vivo*, *in vitro*, as well as theoretical aspects of the paper. FA: participated plant collection, and purification process of the lectin. TF: contributed in experimental procedures with animals. AG: Contributed in the histological analysis. MS, LC: Scientific and structural support for research development. MB: Participated in the analysis of inflammatory factors by flow cytometry. TP: collection, and purification process of the lectin. Contributed in the histological analysis and theoretical aspects. DS: Coordinated the project, supervised all development of this work, such theoretical and experimental aspects this research. MC: Coordinated the project. Scientific and structural support for research development.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

The Supplementary Material for this article can be found online at: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fcimb.2017.00211/full#supplementary-material>

- Charlier, C., Nielsen, K., Daou, S., Brigitte, M., Chretien, F., and Dromer, F. (2009). Evidence the role of monocytes in dissemination and brain invasion by *Cryptococcus neoformans*. *Infect. Immun.* 77, 120–127. doi: 10.1128/IAI.01065-08
- Chen, S. C., Slavin, M. A., Heath, C. H., Playford, E. G., Byth, K., Marriott, D., et al. (2012). Clinical manifestations of *Cryptococcus gattii* infection: determinants of neurological sequelae and death. *Clin. Infect. Dis.* 5, 789–798. doi: 10.1093/cid/cis529
- Chen, S., Sorrell, T., Nimmo, G., Speed, B., Currie, B., Ellis, D., et al. (2000). Epidemiology and host- and variety dependent characteristics of infection due to *Cryptococcus neoformans* in Australia and New Zealand. *Clin. Infect. Dis.* 31, 499–508. doi: 10.1086/313992
- Correia, M. T., and Coelho, L. C. (1995). Purification of a glucose/manose specific Lectin. Isoforma 1, from seeds of *Cratylia mollis* Mart. (Camaratu bean). *Appl. Biochem. Biotechnol.* 55, 261–273. doi: 10.1007/BF02786865
- Costa, M. C., Santos, J. R., Ribeiro, M. J., Freitas, G. J., Bastos, R. W., Ferreira, G. F., et al. (2016). The absence of microbiota delays the inflammatory response to *Cryptococcus gattii*. *Int. J. Med. Microbiol.* 306, 187–195. doi: 10.1016/j.ijmm.2016.03.010
- da Silva, L. C., Alves, N. M., de Castro, M. C., Pereira, V. R., da Paz, N. V., Coelho, L. C., et al. (2015). Immunomodulatory effects of pCramoll and rCramoll on

- peritoneal exudate cells (PECs) infected and non-infected with *Staphylococcus aureus*. *Int. J. Biol. Macromol.* 72, 848–854. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2014.09.045
- da Silva, L. C. N., and Correia, M. T. S. (2014). Plant lectins and toll-like receptors: implications in therapy for microbial infections. *Front. Microbiol.* 5:20. doi: 10.3389/fmicb.2014.00020
- da Silva, L. C. N., Macêdo, C. B. F., Paula, R. A., Coelho, B. B., Silva, M. V., and Correia, M. S. (2014). *Cratylia mollis* lectin: a versatile tool for biomedical studies. *Curr. Bioact. Comp.* 10, 44–54. doi: 10.2174/157340721001140725000701
- de Souza, L. P. F., Ramos, E. L. P., Santana, S. S., Silva, M. V., Santiago, F. M., Mineo, T. W. P., et al. (2016). Lectins from *Synadenium carinatum* (ScLL) and *Artocarpus heterophyllus* (ArtinM) are able to induce beneficial immunomodulatory effects in a murine model for treatment of *Toxoplasma gondii* infection. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 6:164. doi: 10.3389/fcimb.2016.00164
- Dias, R. O., Machado, L. S., Migliolo, L., and Franco, O. L. (2015). Insights into animal and plant lectins with antimicrobial activities. *Molecules* 20, 519–541. doi: 10.3390/molecules20010519
- Ferreira, G. F., Baltazar, L. M., Santos, J. R., Monteiro, A. S., Fraga, L. A., Resende-Stoianoff, M. A., et al. (2013). The role of oxidative and nitrosative bursts caused by azoles and amphotericin B against the fungal pathogen *Cryptococcus gattii*. *J. Antimicrob. Chemother.* 68, 1801–1811. doi: 10.1093/jac/dkt114
- Ferreira, G. F., Santos, J. R., Costa, M. C., Holanda, R. A., Denadai, A., Freitas, G. J., et al. (2015). Heteroresistance to itraconazole alters the morphology and increases the virulence of *Cryptococcus gattii*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 59, 4600–4609. doi: 10.1128/AAC.00466-15
- Ghannoum, M. A., and Rice, L. B. (1999). Antifungal agents: mode of action, mechanisms of resistance, and correlation of these mechanisms with bacterial resistance. *Clin. Microbiol. Rev.* 12, 501–517.
- Gibson, J. F., and Johnston, S. A. (2015). Immunity to *Cryptococcus neoformans* and *C. gattii* during cryptococcosis. *fungal genetics and biology*, 78, 76–86. doi: 10.1016/j.fgb.2014.11.006
- Heung, L. J., and Hohl, T. M. (2016). DAP12 inhibits pulmonary immune responses to *Cryptococcus neoformans*. *Infect. Immun.* 84, 1879–1886. doi: 10.1128/IAI.00222-16
- Kolls, J. K., and Lindén, A. (2004). Interleukin-17 family members and inflammation. *Immunity* 21, 467–476. doi: 10.1016/j.immuni.2004.08.018
- Kronstad, J. W., Attarian, R., Cadieux, B., Choi, J., D'Souza, C. A., Griffiths, E. J., et al. (2011). Expanding fungal pathogenesis: cryptococcus breaks out of the opportunistic box. *Nat. Rev. Microbiol.* 9, 193–203. doi: 10.1038/nrmicro2522
- Lackner, P., Beer, R., Heussler, V., Goebel, G., Rudzki, D., Helbok, R., et al. (2006). Behavioural and histopathological alterations in mice with cerebral malaria. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 32, 177–188. doi: 10.1111/j.1365-2990.2006.00706.x
- Leopold, W. C., Hole, C. R., Wozniak, K. L., and Wormley, F. L. Jr. (2016). Cryptococcus and phagocytes: complex interactions that influence disease outcome. *Front. Microbiol.* 7:105. doi: 10.3389/fmicb.2016.00105
- Loyola, W., Custodio, L. A., Felipe, I., Conchon-Costa, I., Carvalho, P. G., Quirino, G. F., et al. (2012). Artin M enhances TNF- α production and phagocytosis of *Candida albicans* mediated by dectin-1 and mannose receptors. *Int. Immunopharmacol.* 12, 378–383. doi: 10.1016/j.intimp.2011.12.010
- Ma, H., Hagen, F., Stekel, D. J., Johnston, S. A., Sionov, E., Falk, R., et al. (2009). The fatal fungal outbreak on Vancouver Island is characterized by enhanced intracellular parasitism driven by mitochondrial regulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 106, 12980–12985. doi: 10.1073/pnas.0902963106
- Maciel, E. V., Araújo-Filho, V. S., Nakazawa, M., Coelho, L. C., and Correia, M. T. (2004). Mitogenic activity of *Cratylia mollis* lectin on human lymphocytes. *Biologicals* 32, 57–60. doi: 10.1016/j.biologicals.2003.12.001
- Maxeiner, J. H., Karwot, R., Hausding, M., Sauer, K. A., Scholtes, P., and Finotto, S. (2007). A method to enable the investigation of murine bronchial immune cells, their cytokines and mediators. *Nat. Protoc.* 2, 105–112. doi: 10.1038/nprot.2007.8
- Melo, C. M., de Castro, M. C., de Oliveira, A. P., Gomes, F. O., Pereira, V. R., Correia, M. T., et al. (2010). Immunomodulatory response of Cramoll 1,4 lectin on experimental lymphocytes. *Phytother. Res.* 24, 1631–1636. doi: 10.1002/ptr.3156
- Melo, C. M., Porto, C. S., Melo-junior, M. R., Mendes, C. M., Cavalcanti, C., and Coelho, L. C. (2011). Healing activity induce by Cramoll1,4 lectin in healthy an immunocompromised mice. *Intr. J. Pharm.* 408, 113–119. doi: 10.1016/j.ijpharm.2011.02.011
- Mendes, F. E., Oliveira, L. V., Faria, E. S., Alvarenga, D. G., Pinto, M. R., and Taborda, C. P. (2010). Correlation of the *in vitro* antifungal drug susceptibility with the *in vivo* activity of fluconazole in a murine model of cerebral infection caused by *Cryptococcus gattii*. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 29, 1525–1532. doi: 10.1007/s10096-010-1034-8
- Murdock, B. J., Huffnagle, G. B., Olszewski, M. A., and Osterholzer, J. J. (2014a). Interleukin-17A enhances host defense against cryptococcal lung infection through effects mediated by leukocyte recruitment, activation, and gamma interferon production. *Infect. Immun.* 82, 937–948. doi: 10.1128/IAI.01477-13
- Murdock, B. J., Teitz-Tennenbaum, S., Chen, G.-H., Dils, A. J., Malachowski, A. N., Curtis, J. L., et al. (2014b). Early or late IL-10 blockade enhances Th1 and Th17 effector responses and promotes fungal clearance in mice with cryptococcal lung infection. *J. Immunol.* 193, 4107–4116. doi: 10.4049/jimmunol.1400650
- Oliveira, P. S., Rêgo, M. J., da Silva, R. R., Cavalcanti, M. B., Galdino, S. L., Correia, M. T., et al. (2013). *Cratylia mollis* 1,4 lectin: a new biotechnological tool in IL-6, IL-17A, IL-22, and IL-23 induction and generation of immunological memory. *Biomed. Res. Int.* 2013:263968. doi: 10.1155/2013/263968
- Olszewski, M. A., Zhang, Y., and Huffnagle, G. B. (2014). Mechanisms of cryptococcal virulence and persistence. *Future Microbiol.* 5, 1269–1288. doi: 10.2217/fmb.10.93
- Patricio, F. C. B., Lima-Ribeiro, M. H., Correia, M. T. S., Dos Anjos, C. L. A. M., de Souza, A. M., Barboza, T., et al. (2011). Radiolabeling of cramoll 1,4: evaluation of the biodistribution. *Rev. Int. J. Pept.* 2011:945397. doi: 10.1155/2011/945397
- Pedroso, V. S. P., Vilela, M. C., Santos, P. C., Cisalpino, O. S., Arantes, R. M. E., Rachid, M. A., et al. (2010). Development of a murine model of neuroparacoccidioidomycosis. *J. Neuroparasitology.* 1, 39–44. doi: 10.4303/jnp/N100402
- Perfect, W. E., Dismukes, F., Goldman, D. L., Graybill, J. R., Hamill, R. J., Harrison, T. S., et al. (2010). Clinical practice guidelines for the management of cryptococcal disease: 2010 update by the infectious diseases society of America. *Clin. Infect. Dis.* 50, 291–322. doi: 10.1086/649858
- Reichert-Lima, F., Busso-Lopes, A. F., Lyra, L., Peron, I. H., Taguchi, H., Mikami, Y., et al. (2016). Evaluation of antifungal combination against *Cryptococcus* spp. *Mycoses* 59, 585–593. doi: 10.1111/myc.12510
- Rogers, D. C., Fisher, E. M., Brown, S. D., Peters, J., Hunter, A. J., and Martin, J. E. (1997). Behavioral and functional analysis of mouse phenotype: SHIRPA, a proposed protocol for comprehensive phenotype assessment. *Mamm. Genome* 8, 711–713. doi: 10.1007/s003599005551
- Romani, L., and Puccett, P. (2006). Protective tolerance to fungi: the role of IL-10 and tryptophan catabolism. *Trends Microbiol.* 14, 183–189. doi: 10.1016/j.tim.2006.02.003
- Santos, J. R., Gouveia, L. F., Taylor, E. L., Resende-Stoianoff, M. A., Pianetti, G. A., César, I. C., et al. (2012). Dynamic interaction between fluconazole and amphotericin B against *Cryptococcus gattii*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 56, 2553–2558. doi: 10.1128/AAC.06098-11
- Santos, J. R., Holanda, R. A., Frases, S., Bravim, M., Araujo, G. S., Santos, P. C., et al. (2014). Fluconazole alters the polysaccharide capsule of *Cryptococcus gattii* and leads to distinct behaviors in murine Cryptococcosis. *PLoS ONE* 19:e112669. doi: 10.1371/journal.pone.0112669
- Sharon, C. A. C., Slavin, M. A., Heath, C. H., Playford, E. G., Byth, K., Marriott, D., et al. (2012). Clinical manifestations of *Cryptococcus gattii* infection: determinants of neurological sequelae and death. *Clin. Infect. Dis.* 55, 789–798. doi: 10.1093/cid/cis529
- Steinman, L. (2007). A brief history of T(H)17, the first major revision in the T(H)1/T(H)2 hypothesis of T cell-mediated tissue damage. *Nat. Med.* 13, 139–145. doi: 10.1038/nm1551
- Thompson, G. R. III., Wiederhold, N. P., Najvar, L. K., Bocanegra, R., Kirkpatrick, W. R., Graybill, J. R., et al. (2012). A murine model of *Cryptococcus gattii* meningoencephalitis. *J. Antimicrob. Chemother.* 67, 1432–1438. doi: 10.1093/jac/dks060

- Voelz, K., Lammas, D. A., and May, R. C. (2009). Cytokine signaling regulates the outcome of intracellular macrophage parasitism by *Cryptococcus neoformans*. *Infect. Immun.* 77, 3450–3457. doi: 10.1128/IAI.00297-09
- Weischenfeldt, J., and Porse, B. (2008). Bone Marrow-Derived Macrophages (BMM): isolation and applications. *CSH Protoc.* 8:prot5080. doi: 10.1101/pdb.prot5080
- Wright, L., Bubb, W., Davidson, J., Santangelo, R., Krockenberger, M., Himmelreich, U., et al. (2002). Metabolites released by *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* and var. *gattii* differentially affect human neutrophil function. *Microbes Infect.* 4, 1427–1438. doi: 10.1016/S1286-4579(02)00024-2
- Zelante, T., De Luca, A., D'Angelo, C., Moretti, S., and Romani, L. (2009). IL-17/Th17 in anti-fungal immunity: what's new? *Eur. J. Immunol.* 39, 645–648. doi: 10.1002/eji.200839102
- Zhai, B., Zhu, P., Foyle, D., Upadhyay, S., Idnurm, A., and Lin, X. (2013). Fungal and parasitic infections: congenic strains of the filamentous form of *Cryptococcus neoformans* for studies of fungal morphogenesis and virulence. *Infect. Immun.* 81, 2626–2637. doi: 10.1128/IAI.00259-13
- Zhang, X., Goncalves, R., and Mosser, D. M. (2008). The isolation and characterization of murine macrophages. *Curr. Protoc. Immunol.* Chapter 14: Unit 14.1. doi: 10.1002/0471142735.im1401s83
- Zizzo, G., and Cohen, P. L. (2013). IL-17 stimulates differentiation of human anti-inflammatory macrophages and phagocytosis of apoptotic neutrophils in response to IL-10 and glucocorticoids. *J. Immunol.* 190, 5237–5246. doi: 10.4049/jimmunol.1203017

Conflict of Interest Statement: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

The reviewer CPT and handling Editor declared their shared affiliation, and the handling Editor states that the process nevertheless met the standards of a fair and objective review.

Copyright © 2017 Jandú, Costa, Santos, Andrade, Magalhães, Silva, Castro, Coelho, Gomes, Paixão, Santos and Correia. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) or licensor are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.