

Perfil de proteases de lesões cutâneas experimentais em camundongos tratadas com a lectina isolada das sementes de *Canavalia brasiliensis*

Proteases profile of skin wounds treated with lectin from *Canavalia brasiliensis* seeds

Flávio de Oliveira Silva^{I,VII} Rosângela Vidal de Souza Araújo^{II,VII} Giuliana Viegas Schirato^{I,VII}
Edson Holanda Teixeira^{III} Mário Ribeiro de Melo Júnior^{VII} Benildo de Sousa Cavada^{IV}
José Luiz de Lima-Filho^{V,VII} Ana Maria dos Anjos Carneiro-Leão^{VI}
Ana Lúcia Figueiredo Porto^{VI,VII*}

RESUMO

O objetivo deste estudo foi determinar o perfil de proteases em lesões cutâneas experimentais tratadas com a lectina isolada das sementes da *Canavalia brasiliensis* (ConBr) livre e conjugada com o seu açúcar específico. Lesões cirúrgicas foram produzidas assepticamente na região dorsal de camundongos (n=120), divididos de acordo com o tratamento empregado: Grupo NaCl (NaCl 150mM), Grupo manose (manose 100mM), Grupo ConBr (ConBr 100µg mL⁻¹) e Grupo ConBr/manose (solução contendo ConBr 100µg mL⁻¹ preparada em manose 100mM). Amostras da área lesada foram coletadas para determinação do perfil de proteases e atividade colagenolítica no 2º, no 7º e no 12º dia de pós-operatório. O perfil das proteínas realizado através de eletroforese SDS-PAGE demonstrou a presença de proteínas com massa molecular de 67kDa em todos os grupos. O Grupo ConBr/manose apresentou a maior atividade colagenolítica no 12º dia de pós-operatório. A lectina isolada das sementes da *Canavalia brasiliensis* influenciou a expressão de proteases com atividade colagenolítica podendo assim interferir no processo cicatricial das lesões cutâneas em camundongos.

Palavras-chave: *Canavalia brasiliensis*, cicatrização, lectinas, metaloproteinases, reparo tecidual.

ABSTRACT

The objective of the present study was determining the proteases profile of cutaneous healings treated with free and conjugated lectin of *Canavalia brasiliensis* (ConBr) and their specific sugar. An aseptic wound was produced in the

thoracic area of the mice (n=120), divided according to the employed treatment: NaCl Group (150mM NaCl), manose Group (100mM manose), ConBr Group (100µg mL⁻¹ ConBr) and ConBr/manose Group (solution containing 100µg mL⁻¹ ConBr prepared in 100mM manose). Samples of the injured area were collected for determination of proteases profile and collagenolytic activity on 2nd, 7th and 12th days after the surgery. Electrophoresis SDS-PAGE demonstrated proteins with molecular mass of 67kDa in all groups. Group IV presented the highest collagenolytic activity on the 12th day post surgery. ConBr lectin influenced proteases expression with collagenolytic activity thus being able to intervene on skin wound healing in mice.

Key words: *Canavalia brasiliensis*, lectins, metalloproteinases, wound healing, wound repair.

INTRODUÇÃO

A pele funciona como uma barreira protetora contra os mais variados tipos de agentes agressores presentes no ambiente, sendo fundamental para a manutenção da homeostase. Qualquer alteração na integridade da pele pode desencadear condições patológicas, tais como infecção, desidratação e prejuízo no balanço eletrolítico. Um processo de cicatrização eficiente é de grande importância para o bem-estar do paciente (BAUM & ARPEY, 2005).

^IPrograma de Pós-graduação em Ciência Veterinária, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife, PE, Brasil.

^{II}Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, UFRPE, Cidade Universitária, Recife, PE, Brasil.

^{III}Curso de Medicina, Campus de Sobral, Universidade Federal do Ceará (UFC), Sobral, CE, Brasil.

^{IV}Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, CE, Brasil.

^VDepartamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil.

^{VI}Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, UFRPE, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n., 52171-900, Dois Irmãos, Recife, PE, Brasil. E-mail: analuporto@yahoo.com.br. *Autor para correspondência.

^{VII}Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA), UFPE, Recife, PE, Brasil.

O processo cicatricial envolve uma complexa sequência de eventos celulares e bioquímicos com o objetivo de restaurar a integridade tecidual após o trauma. Esse processo caracteriza-se pela inflamação, formação do tecido de granulação e remodelação da matriz extracelular (MEC) (PARK & BABUL, 2004).

A degradação da MEC é uma característica essencial do reparo e da remodelação durante a cicatrização de lesões cutâneas. As metaloproteinases (MMP) são uma família de endopeptidases zinco-dependentes que coletivamente são capazes de degradar todos os componentes da matriz extracelular (GEARING et al., 1994). Essas enzimas podem ser produzidas por vários tipos de células da pele, como fibroblastos, células endoteliais, mastócitos e polimorfonucleares, tendo uma importante função na remodelação proteolítica da MEC em várias situações fisiológicas, incluindo: morfogênese, desenvolvimento tecidual, reparo tecidual e angiogênese (KÄHÄRI & SAARIALHO-KERE, 1997).

DUBOIS et al. (1998) demonstraram que a lectina da *Canavalia ensiformis* (Con A) induz a produção da MMP-9 por linfócitos *in vitro*; essa protease, em associação com a MMP-2, é fundamental para o processo cicatricial. Diante disso, torna-se importante a análise da influência de outras lectinas sobre a atividade das MMP.

Em estudos recentes, proteínas bioativas vêm sendo utilizadas na terapêutica médica (ANDRADE et al., 2004). As lectinas são (glico)proteínas de origem não imune que se ligam de maneira específica e reversível a carboidratos, estão amplamente distribuídas na natureza (PEUMANS & VAN DAMME, 1995) e são consideradas moléculas que reconhecem e decifram a informação contida nos oligossacarídeos presentes na superfície celular (RINI, 1995). Essas glicoproteínas, em particular as de origem vegetal, são consideradas importantes ferramentas nos estudos em glicobioquímica e glicobiologia (RUDIGER, 1998). Entre as lectinas mais estudadas de plantas, estão principalmente as da família Leguminosae. Lectinas dessa família representam um grupo de proteínas similares estruturalmente, porém com diferentes especificidades a carboidratos. A lectina extraída das sementes de *Canavalia brasiliensis* caracteriza-se por se ligar a D-glucose/D-manose.

A atividade biológica da ConBr tem sido investigada em diversos modelos experimentais (CAVADA et al., 2001). Dentre as atividades biológicas dessa lectina, estão a indução *in vitro* da proliferação de linfócitos com produção de interferon- γ (BARRAL-NETTO et al., 1992), liberação de histamina por mastócitos (GOMES et al., 1994), produção de óxido nítrico *in vitro* e *in vivo* (ANDRADE et al., 1999) e indução de apoptose celular (BARBOSA et al., 2001).

Com base no fato de que as lectinas de leguminosas estimulam a produção de metaloproteinases importantes para o processo cicatricial, decidiu-se avaliar o perfil de proteínas e a atividade colagenolítica em lesões cutâneas experimentais tratadas com a lectina das sementes da *Canavalia brasiliensis* (ConBr).

MATERIAL E MÉTODOS

Camundongos *Swiss* machos (n=120) com 10 semanas de idade, pesando $40,0 \pm 5,0$ g, foram criados e mantidos no Biotério do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami, Universidade Federal de Pernambuco. Os animais foram alocados em gaiolas individuais, permanecendo em macroambiente controlado (fotoperíodo de 12h claro/escuro, temperatura $23 \pm 2^\circ\text{C}$ e umidade $55 \pm 10\%$), com fornecimento de água e ração à vontade.

A lectina de *Canavalia brasiliensis* (ConBr) foi gentilmente cedida pelo Prof. Dr. Benildo de Souza Cavada. A lectina liofilizada foi solubilizada em solução de NaCl 150mM até obter a concentração final de $100\mu\text{g mL}^{-1}$. Também foram preparadas soluções com a lectina ConBr conjugada com o seu açúcar específico, nesse caso, a solução de lectina em salina contendo manose 100mM foi incubada a 37°C , por 30 minutos. Após a dissolução, as soluções foram filtradas em membranas $0,22\mu\text{m}$ e, posteriormente, armazenadas em frascos estéreis e estocadas a -4°C até a sua utilização.

O procedimento cirúrgico experimental e a avaliação clínica das lesões foram realizados de acordo com SCHIRATO et al. (2006). Os animais (n=120) foram anestesiados por via subcutânea com cloridrato de xilazina 2% (10mg kg^{-1}) e cloridrato de cetamina 10% (115mg kg^{-1}). Após o procedimento anestésico, cada animal foi submetido à tricotomia da região dorsal e posterior antisepsia utilizando iodopovidona 1% e álcool 70%. Com auxílio de um molde metálico vazado (diâmetro=0,8cm), a pele foi demarcada com caneta dermatográfica. A ferida cutânea foi produzida utilizando-se tesoura de Íris e pinça de dissecação. Os animais foram divididos em quatro grupos (n=30), de acordo com o tratamento experimental empregado: grupo ConBr (lectina ConBr $100\mu\text{g mL}^{-1}$), grupo ConBr/manose (solução contendo lectina $100\mu\text{g mL}^{-1}$ em manose 100mM), grupo manose (manose 100mM) e grupo NaCl (NaCl 150mM). Cada lesão recebeu diariamente $100\mu\text{L}$ das soluções preparadas nas diferentes concentrações a serem testadas, as quais foram aplicadas topicamente, com o auxílio de uma pipeta automática com ponteiros esterilizados. Diariamente, cada lesão foi avaliada clinicamente, observando-se a presença de sinais inflamatórios (edema e hiperemia) e mensurada por auxílio de um paquímetro.

Para analisar o perfil de proteínas e a atividade proteásica durante a evolução do processo cicatricial, foram coletadas amostras teciduais no 2º, no 7º e no 12º dias pós-operatório (PO). Esses dias correspondem às diferentes fases da cicatrização: inflamatória, de fibroplasia e de remodelação; nesses períodos, 30 animais (n=10/grupo/tempo) foram anestesiados, e amostras de tecido da área lesada foram retiradas. Imediatamente após a retirada do tecido, as amostras foram congeladas em nitrogênio líquido e pulverizadas. Em seguida, as amostras de pele foram homogeneizadas como descrito por NEELY et al. (1997), sendo, em seguida, centrifugadas a 6000 x g, por 30 minutos, e os sobrenadantes utilizados para as referidas análises.

A atividade proteolítica foi realizada utilizando-se azocolágeno como substrato, segundo método descrito por CHAVIRA et al. (1984) e modificado pela mudança no valor do pH de 7,8 para 7,2 e pelo tempo de incubação que foi baseado no artigo de YOUNG & GRINELL (1994). O azocolágeno foi suspenso em Tris-HCl 50mM pH 7,2 e CaCl₂ 1mM, em uma concentração final de (5mg mL⁻¹). O sistema de reação foi constituído por 150µL do homogenado de tecido de pele, 150µL de solução tampão Tris-HCl 50mM pH 7,2, CaCl₂ 1mM e 270µL da solução de azocolágeno. O sistema de reação foi incubado a 37°C, sob agitação constante. Após 18h de incubação, a reação foi interrompida por centrifugação a 13.500 x g, por oito minutos, a 4°C. A absorbância do sobrenadante foi lida a 520nm. Uma unidade de atividade proteolítica foi descrita como sendo a variação de absorbância de 0,01 durante 18 horas de reação.

Os homogenados obtidos foram submetidos à técnica de eletroforese SDS-PAGE, realizada em gel gradiente de 10% de poliacrilamida, de acordo com o método de LAEMMLI (1970). Foram utilizadas como padrão de peso molecular anidrase carbônica (30kDa), ovoalbumina (43kDa) e albumina bovina sérica (67kDa).

Os dados da atividade colagenolítica foram expressos como média ± desvio padrão. Os dados de área e atividade foram submetidos à análise estatística, usando o GraphPad Prism 5.0. Constatada a distribuição normal dos dados, estes foram comparados aos pares, utilizando-se o Teste t e considerando-se um nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

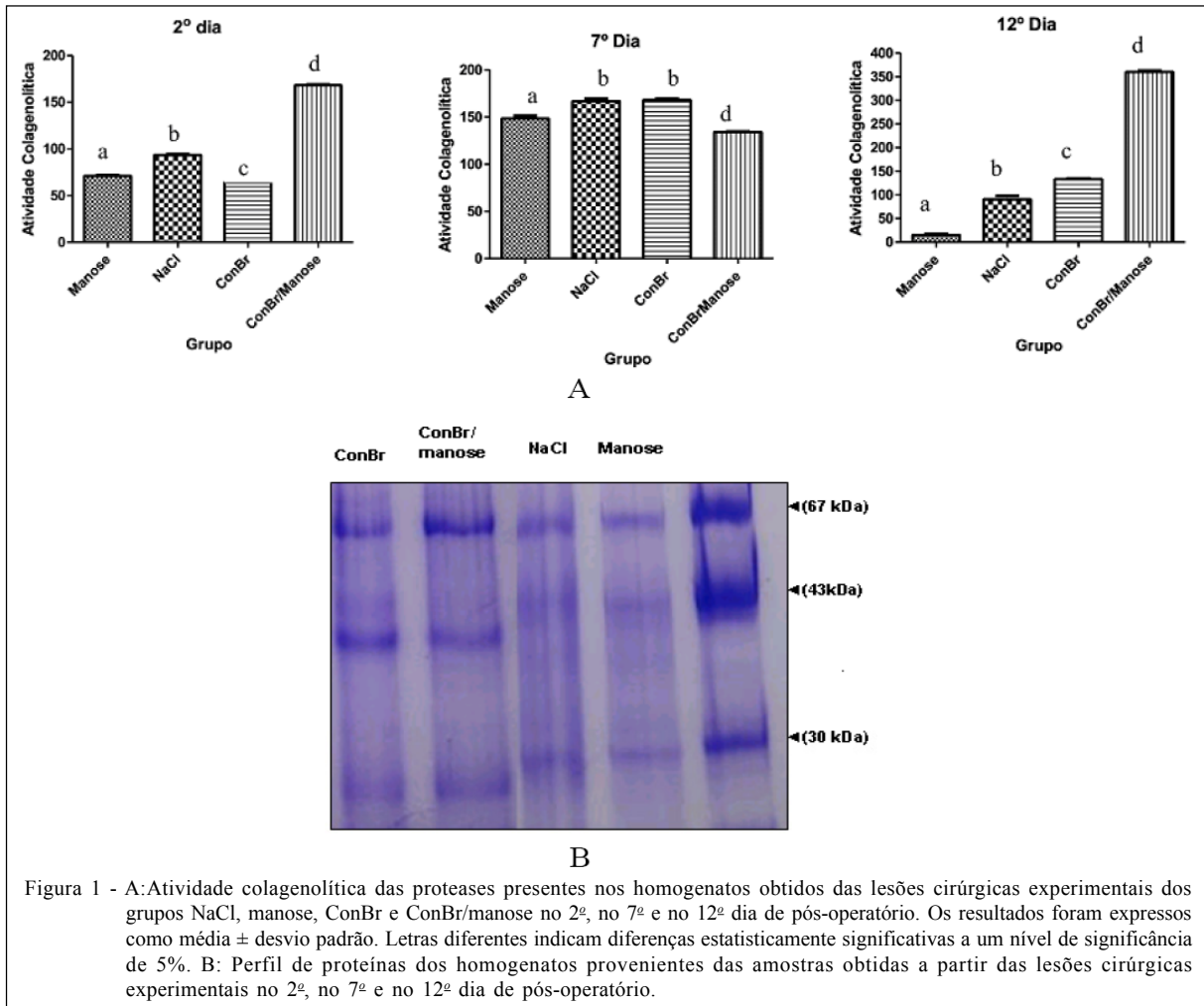
As lectinas têm sido descritas como potentes imunomoduladores por induzir a ativação linfocitária e a produção de citocinas. A lectina de *Canavalia brasiliensis* (ConBr) induz *in vitro* a proliferação linfocitária com produção de *interferon-γ*,

GM-CSF (fator estimulante da colônia de monócitos e granulócitos), IL-4 (interleucina-4), IL-10 (interleucina-10) e TNF-α (fator de necrose tumoral-alfa) (CAVADA et al., 2001). O TNF-α é mitogênico e quimiotático para células endoteliais que migram para o leito da lesão, originando novos vasos sanguíneos (MUTSAERS et al., 1997). A neoangiogênese é fundamental para a evolução do processo cicatricial, pois os novos vasos formados fornecerão os nutrientes necessários para as células presentes no local da lesão.

Estudos indicam que durante a fase inflamatória as lectinas induzem a produção de óxido nítrico *in vitro* e *in vivo* (ANDRADE et al., 1999). O óxido nítrico é fundamental para o processo inflamatório, atuando como vasodilatador, antimicrobiano e promovendo a permeabilidade vascular. Possui também efeito pró-inflamatório, atuando como quimioatrato para citocinas como a Interleucina-1, um potente modulador da proliferação, recrutamento e diferenciação de ceratinócitos, TGF-β-1 (Fator de Crescimento de Fibroblastos-1), monócitos e neutrófilos, favorecendo a angiogênese e auxiliando a ativação de fibroblastos (SONEJA et al., 2005).

Durante a fase inflamatória (2º dia de PO) observou-se, no grupo ConBr, uma menor degradação do azocolágeno em relação aos outros grupos observados (Figura 1A). Durante a migração leucocitária para o foco inflamatório, os leucócitos secretam proteases como a gelatinase A e a gelatinase B, que são responsáveis pela degradação da matriz extracelular lesada. Estudos têm demonstrado que as lectinas podem favorecer a liberação dessas enzimas por diferentes tipos celulares. DUBOIS et al. (1998) demonstraram que as lectinas de *Urtica dioica*, *Calystegia sepium*, *Convolvulus arvensis* e *Colchicum autumnale* são capazes de induzir a liberação de gelatinase B por leucócitos humanos. HOEBEN et al. (1996) verificaram que a *Canavalia ensiformis* (Concanavalina A) induziu a secreção de gelatinase A por células de Sertoli e peritubulares.

Segundo OVERTON (2007), o comportamento normal dessas enzimas seria um pico enzimático durante a fase inflamatória da cicatrização, seguido de um declínio no estágio de aparecimento de tecido de granulação e subsequentemente novo tecido epitelial na ferida. Neste estudo, não foi observado pico de atividade enzimática em nenhum grupo experimental durante a fase inflamatória. No entanto, o grupo ConBr/manose durante essa fase obteve um comportamento na atividade enzimática mais elevado, quando comparado aos demais grupos, fato que poderia explicar a melhor evolução desse grupo no decorrer do experimento.



O perfil das proteínas nos homogenatos obtidos a partir das lesões cutâneas e analisado por meio de eletroforese SDS-PAGE demonstrou a presença de proteínas com peso molecular de 67kDa em todos os grupos, sugerindo a presença da metaloproteinase-2 (MMP-2). Essa proteinase é secretada durante o processo cicatricial por macrófagos, células endoteliais, ceratinócitos e fibroblastos, sendo fundamental para a evolução deste, por remover o tecido desvitalizado, contribuir para a migração celular durante o processo, estar envolvida no processo de angiogênese, remodelar a nova matriz extracelular sintetizada e regular a atividade de fatores de crescimento que interferem no comportamento das diferentes células que participam do processo (PARKS, 1999).

Durante a avaliação clínica dos diferentes grupos experimentais, verificou-se que o grupo ConBr apresentou sinais flogísticos, edema e hiperemia, menos intensos (dados não mostrados). É possível que tenha ocorrido uma menor migração de células inflamatórias

para o foco inflamatório, o que justificaria essa redução de atividade. De acordo com ASSREUY et al. (1997), algumas lectinas ligadoras de glucose-manose demonstraram atividade anti-inflamatória quando injetadas intravenosamente em ratos. A ConBr, embora pertença a esse grupo, não possui a mesma atividade. Vale ressaltar que em nosso estudo a aplicação da lectina foi realizada topicamente.

A lectina ConBr estimula o afluxo de macrófagos quando injetada por via intraperitoneal em camundongos C3H/HeJ (RODRIGUEZ et al., 1992). Os macrófagos são as principais células da reação inflamatória. Muitos fatores de crescimento secretados por macrófagos influenciam a proliferação celular. Como exemplos, o TGF- α (fator de crescimento transformador- α) tem um importante papel na migração de ceratinócitos e reepitelização. TGF- β 1, TGF- β 2 e TGF- β 3 promovem a migração de fibroblastos e células endoteliais e a deposição de matriz extracelular por fibroblastos durante a formação do tecido de granulação (LI et al., 2007).

O perfil da atividade colagenolítica observado durante a fase de fibroplasia demonstrou que os grupos ConBr, NaCl e manose apresentam aumento dessa atividade em relação à fase inflamatória; porém, no grupo ConBr/manose, observou-se um declínio dessa atividade (Figura 1A). SELL & COSTA (2003) demonstraram que as lectinas de *Phaseolus vulgnaris*, *wheat germ agglutinin* e jacalina são capazes de diminuir a proliferação de fibroblastos *in vitro*. Durante a cicatrização de lesões, o movimento de fibroblastos no leito da ferida promove a formação da nova matriz extracelular com deposição de colágeno (SUMITRA et al., 2005). Como verificado por GRINNEL (2003), as MMP facilitam a migração dos fibroblastos por meio da nova matriz extracelular sintetizada no leito da lesão.

Na fase de remodelação (12^o dia de PO), verificou-se uma maior atividade colagenolítica no grupo ConBr/manose, ocorrendo uma redução dessa atividade nos demais grupos em relação à fase de fibroplasia (Figura 1A). Durante esse período, existe um equilíbrio entre a síntese e a degradação do colágeno, sendo o controle desse processo exercido pelas MMP. A remodelação do colágeno sintetizado é fundamental para que o novo tecido adquira força tensil (KARUKONDA et al., 2000).

Neste estudo, observou-se que houve diferenças estatisticamente significativas entre as áreas médias das feridas dos grupos ConBr e os demais grupos analisados na fase de fibroplasia (Figuras 2A e 2B), sugerindo que a ConBr, quando

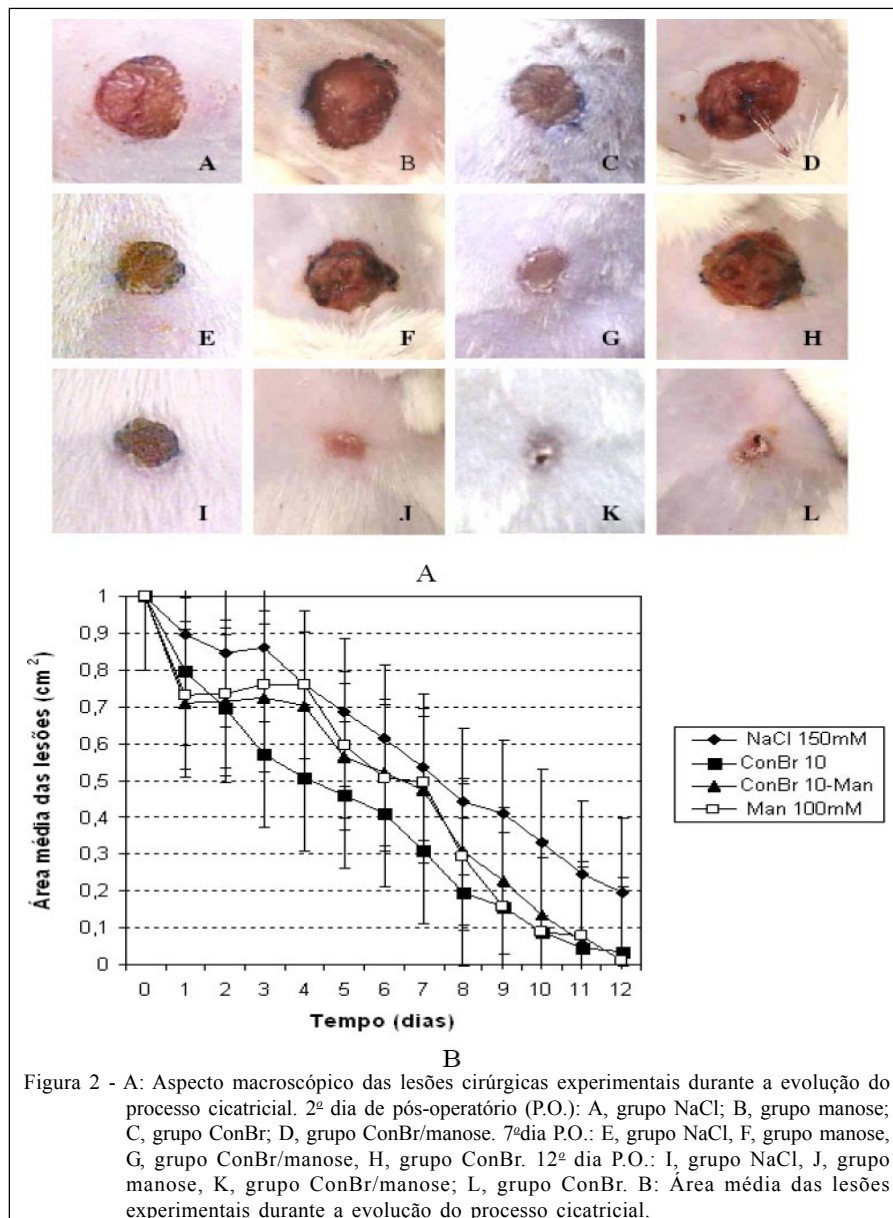


Figura 2 - A: Aspecto macroscópico das lesões cirúrgicas experimentais durante a evolução do processo cicatricial. 2^o dia de pós-operatório (P.O.): A, grupo NaCl; B, grupo manose; C, grupo ConBr; D, grupo ConBr/manose. 7^o dia P.O.: E, grupo NaCl, F, grupo manose, G, grupo ConBr/manose, H, grupo ConBr. 12^o dia P.O.: I, grupo NaCl, J, grupo manose, K, grupo ConBr/manose; L, grupo ConBr. B: Área média das lesões experimentais durante a evolução do processo cicatricial.

aplicada topicamente, promove a ativação de células envolvidas no processo cicatricial, favorecendo a evolução do mesmo. A diferença observada entre os grupos ConBr e ConBr/manose, durante a fase de fibroplasia, sugere um possível envolvimento do sítio ligador de carboidratos na ativação das células envolvidas na evolução do processo cicatricial na fase de fibroplasia.

Sugere-se que o passo inicial da interação entre as lectinas e as células seja a ligação com carboidratos da superfície celular. Estudos realizados por FREIRE et al. (2003) e ALENCAR et al. (2003) demonstraram a diminuição dos efeitos biológicos das lectinas analisadas quando as estas foram conjugadas com os seus açúcares específicos. Vale ressaltar que alguns autores indicam a presença de sítios hidrofóbicos adicionais nas lectinas (BARONDES, 1988), os quais podem estar envolvidos em alguns dos seus papéis biológicos, inclusive podendo ser esta uma explicação para a atividade de lectinas, mesmo com seus sítios ligadores de carboidratos ocupados.

Diante dos resultados obtidos, é possível concluir que a lectina isolada das sementes da *Canavalia brasiliensis* induz a síntese de proteases com atividade colagenolítica durante a cicatrização das lesões cutâneas, podendo a partir desse mecanismo interferir no processo cicatricial.

COMITÊ DE ÉTICA ANIMAL

Todos os procedimentos foram realizados de acordo com as normas preconizadas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal-COBEA, e o protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética Animal da Universidade Federal de Pernambuco. Processo nº 39/05.

REFERÊNCIAS

- ALENCAR, N.M. et al. The galactose-binding lectin from *Vatairea macrocarpa* seeds induces *in vivo* neutrophil migration by indirect mechanism. **International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v.35, p.1674-1681, 2003.
- ANDRADE, J.L. et al. Lectin-induced NO production. **Cellular Immunology**, v.194, p.98-102, 1999.
- ANDRADE, C.A.S. et al. Antitumor activity of *Cratylia mollis* lectin encapsulated into liposomes. **International Journal of Pharmaceutics**, v.278, p.435-445, 2004.
- ASSREUY, A.M.S. et al. Anti-inflammatory effect of glucose-mannose binding lectins isolated from Brazilian beans. **Mediators of Inflammation**, v.6, n.3, p.201-210, 1997.
- BARBOSA, T. et al. *In vivo* lymphocyte activation and apoptosis by lectins of the Diocleinae subtribe. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.96, p.673-678, 2001.
- BARONDES, S.H. Bifunctional properties of lectins: lectins redefined. **Trends in Biochemical Sciences**, v.13, p.480-482, 1988.
- BARRAL-NETTO, M. et al. Human lymphocyte stimulation by legume lectins from the Diocleae tribe. **Immunology Investment**, v.21, p.297-303, 1992.
- BAUM, C.L.; ARPEY, C.J. Normal cutaneous wound healing: clinical correlation with cellular and molecular events. **Dermatology Surgery**, v.31, p.674-686, 2005.
- CAVADA, B.S. et al. Revisiting proteus: Do minor changes in lectin structure matter in biological activity? Lessons from and potential biotechnological uses of the Diocleinae subtribe lectins. **Current Protein and Peptide Science**, v.2, p.123-135, 2001.
- CHAVIRA, R.J. et al. Assaying proteinases with azocoll. **Analytical Biochemistry**, v.136, p.446-450, 1984.
- DUBOIS, B. et al. Regulation of gelatinase B (MMP-9) in leukocytes by plants lectins. **FEBS Letters**, v.427, p.275-278, 1998.
- FREIRE, M.G. et al. Inflammatory responses induced in mice by lectin from *Talisia esculenta* seeds. **Toxicol**, v.42, p.275-280, 2003.
- GEARING, A.J.H. et al. Processing of tumor necrosis factor- α precursor by metalloproteinases. **Nature**, v.370, p.555-557, 1994.
- GRINNEL, F. Fibroblast biology in three-dimensional collagen matrices. **Trends in Cell Biology**, v.13, p.264-269, 2003.
- GOMES, J.C. et al. Histamine release induced by glucose (mannose)-specific lectins isolated from Brazilian beans. Comparison with concanavalin A. **Agents Actions**, v.41, p.132-135, 1994.
- HOEBEN, E. et al. Gelatinase A secretion and its control in peritubular and Sertoli cell cultures: effects of hormones, second messengers and inducers of cytokine production. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v.118, p.37-46, 1996.
- KÄHÄRI, V.M.; SAARIALHO-KERE, U. Matrix metalloproteinases in skin, review article. **Experimental Dermatology**, v.6, p.199-213, 1997.
- KARUKONDA, S.R.K. et al. The effects of drugs on wound healing. **International Journal of Dermatology**, v.39, p.250-257, 2000.
- LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v.227, n.5259, p.680-685, 1970.
- LI, J. et al. Pathophysiology of acute wound healing. **Clinics in Dermatology**, v.25, p.9-18, 2007.
- MUTSAERS, S.E. et al. Mechanisms of tissue repair: from wound healing to fibrosis. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v.29, p.5-17, 1997.

- NEELY et al. Proteolytic activity in human burn wounds. **Wound repair and regeneration**, v.5, p.302-309, 1997.
- OVINGTON, L.G. Advances in wound dressings. **Clinics in Dermatology**, v.25, p.33-38, 2007.
- PARK, J.E.P.; BARBUL, A.B. Understanding the role of immune regulation in wound healing. **American Journal of Surgery**, v.187, p.115-165, 2004.
- PARKS, W.C. Matrix metalloproteinases in repair. **Wound Repair and Regeneration**, v.7, p.423-432, 1999.
- PEUMANS, W.J.; VAN DAMME, E.J.L. Lectins as plant defense proteins. **Plant Physiology**, v.109, p.347-352, 1995.
- RINI, J.M. Lectin structure. **Annual Reviews of Biophysics and Biomolecular Structure**, v.34, p.551-577, 1995.
- RODRIGUEZ, D. et al. Differences in macrophage stimulation and leukocyte accumulation in response to intraperitoneal administration of glucose/manose-binding plant lectins. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.25, p.823-826, 1992.
- RÜDIGER, H. Plant lectins-More than just tools for glycoscientists: Occurrence, structure, and possible functions of plant lectins. **Acta Anatomica**, v.161, p.130-152, 1998.
- SCHIRATO, G.V. et al. O polissacarídeo do *Anacardium occidentale* L. na fase inflamatória do processo cicatricial de lesões cutâneas. **Ciência Rural**, v.36, p.149-154, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cr/v36n1/a22v36n1.pdf>. doi: 10.1590/S0103-84782006000100022.
- SELL, A.M.; COSTA, C.P. Effects of plant lectins on *in vitro* fibroblast proliferation. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.46, p.349-354, 2003.
- SONEJA, A. et al. Role of nitric oxide, nitroxidative and oxidative stress in wound healing. **Pharmacological Reports**, v.57, p.108-119, 2005.
- SUMITRA, M. et al. Efficacy of *Buttea monosperma* on dermal wound healing in rats. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v.37, p.566-573, 2005.
- YOUNG, P.K.; GRINELL, F. Metalloproteinase activation cascade after burn injury: a longitudinal analysis of the human wound environment. **Journal of Investigative Dermatology**, v.103, n.5, p.660-664, 1994.