



AValiação DOS FEITOS DA LECTINA DE FOLHAS DE *Schinus terebinthifolia* Raddi SORE A FORMAÇÃO DE NOVOS VASOS SANGUÍNEOS

Ardilles Juan Carlos Alves dos Santos^{1*}, Victor Felipe da Silva Araújo¹, Rayssa Perla Martins França¹, Eva Luana Almeida da Silva¹, Patrícia Maria Guedes Paiva², Thiago Henrique Napoleão², Edbhergue Ventura Lola Costa¹, Romildo de Albuquerque Nogueira¹, Emmanuel Viana Pontual¹

¹Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, ²Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco
*ardillesjuan@ufpi.edu.br

INTRODUÇÃO

Os produtos naturais têm sido muito utilizados na medicina popular para tratamento de doenças em humanos ou outros animais (PANG *et al.*, 2014). Como consequência, a utilização popular desses produtos tem aumentado o interesse científico que visa a comprovação da sua eficácia e segurança, bem como a substituição de fármacos de elevada toxicidade e custo utilizados atualmente.

As plantas são importantes fontes de produtos naturais cuja utilização popular é amplamente difundida. Suas propriedades medicinais têm sido atribuídas a produtos do seu metabolismo primário ou secundário (RATES, 2001; GARCIA *et al.*, 2009). Dentre esses produtos biologicamente ativos, destacam-se as lectinas, proteínas amplamente encontradas na natureza e descritas em microrganismos, plantas e animais.

As lectinas compõem uma classe diversificada de proteínas com afinidade por carboidratos livres ou conjugados, cuja expressão não está ligada a uma reação do sistema imune e cujo potencial farmacológico tem sido fortemente explorado (PROCÓPIO *et al.*, 2017). As lectinas apresentam pelo menos um domínio não catalítico de reconhecimento de carboidratos (CDR; *carbohydrate-recognizing domain*), apresentando a capacidade de se ligar a açúcares de forma reversível e com alta especificidade. A especificidade da lectina é determinada pelo arranjo espacial decorrente da conformação dos aminoácidos que compõem o CRD e daqueles aminoácidos na sua microvizinhança (PROCÓPIO *et al.*, 2017). Adicionalmente, íons metálicos podem ser requeridos para o correto posicionamento do carboidrato a ser ligado (PAIVA *et al.*, 2010). A ligação entre os CRDs das lectinas e carboidratos simples (monossacarídeos e dissacarídeos) ou complexos (polissacarídeos, glicoproteínas e glicolipídios) ocorre através de ligações fracas, incluindo pontes de hidrogênio, forças de van der Waals e interações hidrofóbicas (PROCÓPIO *et al.*, 2017).

Tumores malignos, também referidos como neoplasmas ou cânceres, resultam de uma rápida multiplicação de células anormais que podem invadir os tecidos adjacentes e se espalhar para outros órgãos, causando as metástases. Os tumores malignos representam um grave problema de saúde pública, pois estima-se que 9,6 milhões de pessoas morreram em decorrência das complicações do câncer em 2018 (OMS, 2018).

Em vegetais, as lectinas podem ser extraídas de diferentes partes como folhas, flores, sementes, raízes, caule (cerne ou casca) e têm demonstrado possuir uma variedade de atividades biológicas incluindo atividade antitumoral, anti-inflamatória, anticoagulante,

hipoglicêmica, entre outras (BRUSTEIN *et al.*, 2012; ALBUQUERQUE *et al.*, 2014).

Durante o desenvolvimento embrionário dos vertebrados, o sistema cardiovascular é um dos primeiros sistemas funcionais a se desenvolver, sendo formado por uma complexa rede de artérias, veias, capilares e vasos linfáticos. Este sistema vai atuar no transporte de gases, nutrientes, e metabólitos por todo o corpo e desempenha um importante papel na regulação da homeostasia do embrião em desenvolvimento (DIAS *et al.*, 2002; CARMELIET, 2003; CZIROK & LITTLE, 2012). Os constituintes básicos do sistema vascular sanguíneo desenvolvem-se a partir da membrana do saco vitelínico (MSV), incluindo as células endoteliais e as sanguíneas (glóbulo branco e glóbulo vermelho) que são diferenciadas respectivamente a partir das células angioblásticas e hematopoiéticas. Na MSV também se formam células tronco multipotentes e o próprio hemangioblasto, precursor comum para estas células, que se formam durante a vasculogênese. Os hemangioblastos migram em direção ao espaço entre o epiblasto e o hipoblasto, chegando ao mesoderma lateral do saco vitelínico (SV), onde irão se agrupar formando ilhotas sanguíneas (KENNEDY *et al.*, 2007; WENG & SHENG, 2014; LI *et al.*, 2014).

A formação das ilhotas sanguíneas e posteriormente dos plexos vasculares primários, se dá a partir dos hemangioblastos, em um processo chamado de vasculogênese, que é a formação de novos vasos sanguíneos (CZIROK & LITTLE, 2012; LIU *et al.*, 2014). Diferente da vasculogênese, a angiogênese está relacionada ao brotamento de novos vasos a partir dos vasos sanguíneos preexistentes. A angiogênese aumenta o suprimento sanguíneo para os tecidos, resultando no surgimento de microvasos e até reparo de feridas, sendo de suma importância para o tratamento de feridas, doenças cardiovasculares, diabetes, câncer, obesidade, entre outras patologias (OTROCK *et al.*, 2007). A angiogênese é um dos mais importantes fatores necessários para o desenvolvimento de células tumorais, fornecendo oxigênio e nutrientes, além de remover dióxido de carbono (CO₂) (ZHANG, *et al.*, 2018).

Coturnix japonica (Figura 3A), popularmente conhecida como codorna japonesa, pertence à família Fasianidae. A espécie é organizada em dois grupos principais, as codornas comerciais e as experimentais. A codorna japonesa apresenta uma grande rusticidade, se adaptando a regiões com climas adversos, quente ou frio, tendo como condição ideal de conforto temperaturas entre 21 a 25° C (ALBINO & NEME, 1998). O desenvolvimento morfológico dos embriões de codorna se dá de forma bastante rápida. No primeiro dia de incubação, se inicia o crescimento dos primórdios

da traquéia, no segundo dia os primórdios dos vasos sanguíneos começam a aparecer na superfície do ovo, e é possível visualizar sangue na região central ou em torno do blastoderma. Já no terceiro dia surge o globo ocular e é possível visualizar o embrião (BAI *et al.*, 2016).

O saco vitelínico (SV) é uma membrana extraembrionária encontrada em todos os vertebrados, sendo rapidamente substituída pela placenta. Apresentando funções imunológicas, hematopoiética, secretora, nutricional, e metabólica. Diferente dos mamíferos a membrana do saco vitelínico (MSV) de aves permanece durante toda sua embriológica (SPEAKE *et al.*, 1998; HYTTTEL, *et al.*, 2010).

A geometria fractal ou geometria da natureza é utilizada corriqueiramente para descrição de formas irregulares encontradas na natureza, como a rede vascular sanguínea, por exemplo (MANDELROT, 1991). Deentre os métodos de análise fractal destacam-se a Dimensão de contagem por caixas Dcc e Dimensão de Informação Dinf. Na Dcc o objeto é coberto por uma grade formada por um número de caixas, esse procedimento é repetido várias vezes com várias grades contendo um número maior de caixas em cada etapa. Na dimensão de informação Dinf, a imagem também é coberta por várias caixas de diferentes tamanhos, no entanto a contagem é realizada com base na probabilidade de ocupação das caixas pelo objeto fractal. O procedimento é repetido 34 vezes com várias grades contendo, a cada etapa, um número maior de caixas $N(r)$ à medida que os lados de caixas r vão reduzindo seu tamanho (COSTA *et al.*, 2013).

Atualmente são conhecidos vários tipos de cânceres são muitas vezes referidos também como tumores malignos ou neoplasias. Uma característica comum aos diversos tipos de câncer é o rápido surgimento de células anormais que se multiplicam desordenadamente e crescem para além dos seus limites normais, podendo invadir regiões adjacentes do corpo e se espalhar para outros órgãos. Este é o processo conhecido como metástase, a principal causa de morte por câncer (Organização Mundial de Saúde, 2018). Por ser uma doença multifatorial o tratamento dos vários tipos de câncer apresenta sérias limitações, incluindo o desenvolvimento de resistência medicamentosa pelo paciente e a alta citotoxicidade para células normais, acarretando em severos efeitos colaterais, podendo ocasionar a morte de importantes células de defesa como monócitos, neutrófilos e linfócitos (MICHELLE *et al.*, 2012; HOLOHAN, *et al.*, 2013; LIU *et al.*, 2013). As lectinas podem atuar como agente antitumoral por possuírem a capacidade de ligação a carboidratos de forma específica e através de domínio próprio, o CDR. A especificidade dessa interação é favorecida pela reconhecida expressão alterada de carboidratos da superfície das células tumorais em relação àquela observada em células não transformadas. Nesse sentido, o perfil das lectinas tem sido estudado no que tange novas abordagens terapêuticas de tumores (COELHO *et al.*, 2017).

Conhecida popularmente no Brasil por aroeira, aroeira-da-praia, aroeira-vermelha, entre outros, a *Schinus terebinthifolia* Raddi é uma planta de porte variado, podendo ser encontrada nos portes arbóreo ou arbustivo, que pertence à família Anacardiaceae. *S. terebinthifolia* é amplamente utilizada na medicina popular e possui princípios ativos potentes para produção de diversos fármacos. Possui efeitos benéficos por via oral e tópica e, a isto se deve a necessidade de identificação e caracterização de seus reais efeitos terapêuticos e toxicológicos em vias de administração invasivas (FALCÃO *et al.*, 2015). Suas folhas são popularmente utilizadas para cicatrização de feridas, para combater candidíase em crianças, e para produzir infusões que se acredita terem propriedades anti-reumáticas (BALBACHAS, 1959). Alguns dos compostos das folhas de *S. terebinthifolia* com atividades biológicas comprovadas são terpenos, os quais induzem apoptose

em melanoma e protegem contra metástase (MATSUO *et al.*, 2011). O extrato de folhas atrasou o desenvolvimento das larvas e promoveu intensa desorganização do epitélio intestinal, incluindo deformação e hipertrofia das células, desorganização das microvilosidades e vacuolização do citoplasma, afetando as células digestivas, enteroendócrinas regenerativas e proliferativas.

Este trabalho relata os efeitos da lectina de folhas de *Schinus terebinthifolia* Raddi (SteLL) sobre a formação de novos vasos sanguíneos em modelo experimental de membrana do saco vitelínico (MSV) de *Coturnix japonica*.

MATERIAIS E MÉTODOS

O acesso ao material vegetal foi registrado so o número de acesso (A04F306) no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional (SisGen). A lectina SteLL foi isolada usando o procedimento previamente relatado por Gomes *et al.* (2013). As folhas de *S. terebinthifolia* foram coletadas na cidade de Recife (Pernambuco, Brasil) e secas ao ar a 28 ° C por 15 dias. As folhas secas foram trituradas e a farinha (10 g) foi misturada com NaCl 0,15 M (100 mL) durante 16 h a 28 ° C sob agitação magnética. Após filtração através de gaze e centrifugação (12.000 × g, 15 min, 4 ° C) o sobrenadante claro foi coletado e correspondeu ao extrato da folha. Em seguida, o extrato da folha foi carregado em uma coluna de quitina (Sigma-Aldrich, EUA) (7,5 × 1,5 cm) equilibrada com NaCl 0,15 M. A eluição de SteLL foi realizada com 1,0 M de ácido acético (LOWRY *et al.*, 1951).

A atividade hemaglutinante (AH) de SteLL foi determinada com o objetivo de verificar se seu domínio de reconhecimento de carboidratos estava preservado. A coleta de eritrócitos foi aprovada pelo Comitê de Ética em Uso Animal da Universidade Federal de Pernambuco, UFPE (processo 23076.033782 / 2015-70). O ensaio de AH foi realizado em placas de microtitulação de acordo com Procópio *et al.* (2017), usando uma suspensão (2,5%, v/v) de eritrócitos de coelho tratados com glutaraldeído (Bing *et al.*, 1967) em NaCl 0,15 M. O AH correspondeu ao recíproco da maior diluição de SteLL capaz de promover a aglutinação total dos eritrócitos. O AH específico foi definido como a razão entre o AH e a concentração de proteína (mg / mL).

Em seguida, os ensaios *in vivo* foram realizados de acordo com Costa *et al.* (2013), utilizando uma incubadora (Chocmaster, Paraná, Brasil) montada no Laboratório de Biofísica Teórica-Experimental e Computacional (LABTEC) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). O aparelho foi utilizado para permitir o desenvolvimento dos embriões de *C. japonica* sob temperatura e umidade controladas (37,5 ° C e 60%, respectivamente). A temperatura foi controlada através de uma resistência monitorada por um termostato e medida através de um termômetro acoplado à incubadora. A experimentação com os embriões foi aprovada pelo Comitê de Ética em Uso Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, UFRPE (processo 23082.008841 / 2016; licença 067/2016). Foram utilizados 150 ovos de *C. japonica* fertilizados, com aproximadamente dois dias, obtidos da Estação Experimental de Pequenas Animais da UFRPE (Carpina, Pernambuco).

Os ovos foram distribuídos randomicamente em 03 grupos, contendo 30 ovos cada (G1 - grupo controle; G2 - grupo tratado com SteLL 0,65 mg/mL; G3- grupo tratado com SteLL - 1,35 mg/mL) e mantidos na incubadora por 72 h para formação da membrana do saco vitelino.

Após as primeiras 48 h, cortes (janelas) foram realizados nas cascas dos ovos (colocar as dimensões), a fim de permitir o acesso à membrana do saco vitelino, sendo removidos 2,5 mL de albúmen (Kirchner *et al.*, 1996). Os tratamentos foram administrados usando discos de metilcelulose dispostos em contato com a membrana do saco vitelino através das janelas feitas nas cascas dos ovos. Os

discos foram preparados de acordo com Dias et al. (2008a) com uma alíquota de 10 μ L de uma solução de metilcelulose (10 mg/ml). Para os grupos tratados com SteLL, os discos foram embebidos com solução de lectina (6,5 μ L) a 0,65 ou 1,35 mg/mL, enquanto o grupo controle recebeu discos embebidos em NaCl 0,15 M. Após completar 72 h de incubação, imagens da rede vascular das membranas do saco vitelino foram capturadas através de uma câmera digital (Sony DSC-W130 de 8.1 megapixels) e transferidas para um computador para posterior análise das dimensões fractais. As imagens das membranas do saco vitelino foram segmentadas para análise da geometria fractal de sua rede vascular. A segmentação da imagem foi redimensionada no programa Microsoft Paint, onde a rede vascular foi coberta usando o ícone do pincel. Foi realizada a esqueletização das imagens, um tipo de segmentação que confere uma única dimensão a toda a rede vascular, desconsiderando os diferentes tamanhos de vasos. Para determinar a atividade de SteLL foram utilizadas duas análises, a dimensão de contagem por caixas (Dcc) e dimensão de informação (Dinf).

A análise da dimensão de contagem de caixas foi realizada de acordo com Costa et al. (2013). Onde o objeto foi coberto por uma grade formada por um número de caixas N (r). As caixas (dimensões de r x r) continham pelo menos um ponto do objeto fractal. O procedimento foi repetido com várias grades contendo, em cada etapa, um número maior de caixas N (r) enquanto o tamanho dos lados das caixas r estavam reduzindo. Posteriormente, um gráfico logaritmo duplo de N (r) foi plotado como uma função dos lados das caixas r. A dimensão de contagem por caixas correspondia à inclinação do gráfico de logaritmo duplo de N (r) x r com sinal invertido.

Na dimensão de informação, a imagem foi coberta por várias caixas com tamanhos diferentes; entretanto, a contagem foi realizada com base na probabilidade de ocupação das caixas pelo objeto fractal.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A SteLL foi capaz de aglutinar eritrócitos com alta atividade hemaglutinante específica (18,161), este dado corrobora com aqueles publicados por Gomes et al. (2013) e Procópio e al. (2017). Devido à conhecida importância dos processos de angiogênese / vasculogênese para o progresso do câncer, nos perguntamos se a atividade antitumoral do SteLL poderia ser devido à inibição da formação da rede vascular na região do tumor. Com isso observamos que a análise fractal da MSV através dos métodos de dimensão de contagem por caixas e dimensão de informação revelou que o tratamento com SteLL a 1,35 mg/mL foi capaz de reduzir significativamente ($p = 0,004$) a angiogênese (Figura 1). Em contra partida, na concentração de 0,65mg/mL, SteLL não causou alteração significativa no padrão de angiogênese da MSV de *C. japonica* em relação ao grupo controle.

Nossos resultados corroboram com os encontrados por Castanheira et al. (2017), onde foi demonstrado que a lectina isolada de *Bothrops pauloensis* inibiu a angiogênese em um ensaio em Matrigel através da estimulação do fator de crescimento de fibroblastos (bFGF). Shivamadu et al. (2017) observou em seus estudos que a lectina isolada de frutos de *Praecitrullus fistulosus* também reduziu a angiogênese *in vivo* quando aplicada em camundongos com ascite de Ehrlich (EAC), através da inibição do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), que é um fator essencial para o desenvolvimento de novos vasos sanguíneos, e consequentemente para o desenvolvimento e crescimento de tumores. A lectina isolada do tuérculo da *Remusatia vivipara*, foi capaz de inibir a angiogênese e vasulogênese da Membrana Corioalantóide (MCA) de ovos de galinha, como efeito sinérgico também promoveu a diminuição da densidade dos novos vasos formados (SINDHURA *et al.*, 2017).

CONCLUSÕES

A partir dos resultados encontrados podemos concluir que SteLL (1,35 mg/mL) é um agente antiangiogênico, uma vez que inibiu a formação de novos vasos sanguíneos em MSV de ovos de *C. japonica*.

REFERÊNCIAS

- ALBINO, L. F. T.; NEME, R. Codornas: **Manual prático de criação**. Viçosa: Aprenda Fácil, 1998, 56 p.
- ALBUQUERQUE, L. P. ; PONTUAL, E. V. ; SANTANA, G. M. S. ; SILVA, L. R. S. ; AGUIAR, J. S. ; COELHO, L. C. B. B. ; REGO, M. J. B. M. ; PITTA, M. G. R. ; SILVA, T. G. ; MELO, A. M. M. A. ; NAPOLEÃO, T. H. ; PAIVA, P. M. G. . Toxic effects of *Microgramma vacciniifolia* rhizome lectin on *Artemia salina*, human cells, and the schistosomiasis vector *Biomphalaria glabrata*. *Acta Tropica*, v. 138, p. 23-27, 2014.
- BAI, J. Y.; PANG, Y. Z.; ZHANG, X. H.; LI, Y. X. Study on the Morphological development of quail embryos. *Brazilian Journal of Poultry Science*. v. 02, p. 91-94, 2016.
- BALBACHAS, A. **As plantas curam**. São Paulo, Missionária, 1959. 431 p.
- BING, D. H.; WEYAND, J. G. M.; STAVITSKY, A. B. Hemagglutination with aldehyde-fixed erythrocytes for assay of antigens and antibodies, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* v. 124, p. 1166-1170, 1967ministé.
- BRUSTEIN, V. P.; SOUZA-ARAÚJO, F. V.; VAZ, A. F.; ARAÚJO, R. V.; PAIVA, P. M.; COELHO, L. C.; CARNEIRO-LEÃO, A. M.; TEIXEIRA, J. A.; CARNEIRO-DA-CUNHA, M. G.; CORREIA, M. T.. A novel antimicrobial lectin from *Eugenia malaccensis* that stimulates cutaneous healing in mice model. *Inflammopharmacology*, v. 20, p. 315-322, 2012.
- CARMELIET, P. Angiogenesis in health and disease. *Nature Medicine*. v.9, n.6, p.653-660, 2003.
- CASTANHEIRA, L. E.; LOPES, D. S.; GIMENES, S. N. C.; DECONTE, S. R.; FERREIRA, B. A.; ALVES, P. T.; FILHO, L. R. G.; TOMIOSSO, T. C.; RODRIGUES, R. S.; YONEYAMA, K. A. G.; ARAÚJO, F. A.; RODRIGUES, V. M. Angiogenic effects of BpLec, a C-type lectin isolated from *Bothrops pauloensis* snake venom. *International Journal of Biological Macromolecules*. v. 102, p. 153-161, 2017.
- COELHO, L. C. B. B.; SILVA, P. M. D. S.; LIMA, V. L. D. M.; PONTUAL, E. V.; PAIVA, P. M. G.; NAPOLEÃO, T. H.; CORREIA, M. T. D. S. Lectins, interconnecting proteins with biotechnological/pharmacological and therapeutic applications. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, doi: 10.1155/2017/1594074, 2017.
- COSTA, E. V. L.; G. C. JIMENEZ, G. C.; BARBOSA, C. T. F.; NOGUEIRE, R. A. Fractal analysis of extra-embryonic vascularization in japanese quail embryos exposed to extremely

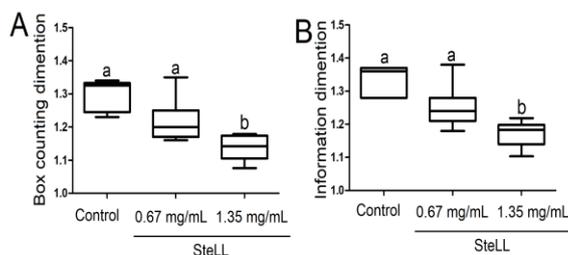


Figura 1. Efeito de SteLL sobre a angiogênese em MSV de ovos de *C. japonica*; Foi realizada análise fractal pelos métodos de A - dimensão de contagem por caixas (Dcc); e B - Dimensão de Informação (Dinf).

- low frequency magnetic fields. *Bioelectromagnetics*. v.34, p. 114-121, 2013.
- CZIROK, A.; LITTLE, C.D. Pattern formation during vasculogenesis. *Birth Defects Research Part C: Embryo Today: Reviews*. v.96, n.2, p.153-162, jun. 2012.
- DIAS, P. F.; RIBEIRO-DO-VALLE, R. M.; MARASCHIM, R. P.; MARASCHIM, M. Novos moduladores da formação de vasos sanguíneos. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*. v. 25, p.28-34, 2002.
- FALCÃO, M. P. M. M.; OLIVEIRA, T. K. B.; DO Ó, N. P. R.; SARMENTO, D. A.; GADELHA, N. C. *Schinus terebinthifolius* Raddi (Aroeira) e suas propriedades na Medicina Popular. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, v. 10, p. 23-27, 2015.
- GARCIA, S. M. L.; FERNÁNDEZ, C. G. *Embriologia*. Editora: Artmed. 3ª edição, 2009, 416p.
- GOMES, F. S.; PROCÓPIO, T.F.; NAPOLEÃO, T. H.; COELHO, L. C. B. B.; PAIVA, P. M. G. Antimicrobial lectin from *Schinus terebinthifolius* leaf. *Journal of Applied Microbiology*. v. 114, p. 672-679, 2013.
- HOLOHAN, C.; VAN SCHAEYBROECK, S.; LONGLEY, D. ; JOHNSTON, P. G. Cancer drug resistance: An evolving paradigm. *Nature Reviews Cancer*. V. 13, p. 714-726, 2013.
- HYTTTEL, P. Development of the blood cells, heart and vascular system. In: HYTTTEL, P.; SINOWATZ, F.; VEJLSTED, M. *Essential of domestic animal embryology*. Edinburgh, London, New York, Oxford, Philadelphia, St Louis, Sydney, Toronto: Elsevier, 2010. 455p
- KENNEDY, M.; D'SOUZA, S.L.; LYNCH-KATTMAN, M.; SCHWANTZ, S.; KELLER, G. Development of the hemangioblast defines the onset of hematopoiesis in human ES cell differentiation cultures. *BLOOD*. v.109, n.7, p. 2679-2687, 2007.
- LI, L.; CHEN, D.; LI, J.; WANG, X.; WANG, N.; XU, C.; WANG, Q.K. *Aggf1* acts at the top of the genetic regulatory hierarchy in specification of hemangioblasts in zebrafish. *Blood*. v.123, p.501-508, 2014.
- LIU, Z.; LUO, Y.; ZHOU, T. T.; ZHANG, W. Z. Could plant lectins become promising antitumor drugs for causing autophagic cells death? *Cell Prolif.* v. 46, p. 509-515, 2013.
- LIU, Z.; LEBRIN, F.; MARING, J.A.; DRIESCHE, S.; BRINK, S.; DINTHER, M.; THORIKAY, M.; MARTIN, S.; KOBAYASHI, K.; HAWINKELS, L.J. A. C.; MEETEREN, L.A.; PARDALI, E.; KORVING, J.; LETARTE, M.; ARTHUR, H.M.; THEUER, C.; GOUMANS, M.J.; MUMMERY, C.; DIJKE, P. Endoglin is dispensable for vasculogenesis, but required for vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis. *Plos One*. v.9, n.1, p.1-12, 2014.
- LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin-Phenol Reagent, *J. Biol. Chem.* v. 193, p. 265-275, 1951.
- MATSUO, A. L.; FIGUEIREDO, C. R.; AARRUDA, D. C.; PEREIRA, F. V.; SCUTTI, J. A. B.; MASSAOKA, M. H.; TRAVASSOS, L. R.; SARTORELLI, P.; LAGO, J. H. α -Pinene isolated from *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) induces apoptosis and confers antimetastatic protection in a melanoma model. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. v. 411, p. 449-454, 2011.
- MICHELLE, X.; LIU, DAVID, W.; CHAN, H.; NGAN, Y. S. Mechanisms of chemoresistance in human ovarian cancer at a glance. *Gynecol. Obstet.* v. 2, p. 1. 2012.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. *Ficha informativa sobre o câncer*. Atualizado: setembro, 2018.
- OTROCK, Z. K.; MAHFOUZ, R. A. R.; MAKAREM, J. A.; SHAMSEDDINE, A. L. Understanding the biology of angiogenesis: Review of the most important molecular mechanisms. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*. v. 39, p. 212-220, 2007.
- PAIVA, P. M. G. ; GOMES, F. S. ; NAPOLEÃO, T. H. ; SÁ, R. A. ; CORREIA, M. T. S. ; COELHO, L. C. B. B. . Antimicrobial activity of secondary metabolites and lectins from plants. In: Antonio Mendez Vilas. (Org.). *Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*. v. 1, p. 396-406, 2010.
- PANG, B.; ZHOU, Q.; LI, J. L.; ZHAO, L. H.; TONG, X. L. Treatment of refractory diabetic gastroparesis: western medicine and traditional Chinese medicine therapies. *World J. Gastroenterol.* v. 20, p. 6504-6514, 2014.
- PROCÓPIO, T. F.; MOURA, M. C.; ALBUQUERQUE, L. P.; GOMES, F. S.; SANTOS, N. D. L.; COELHO, L. C. B. B.; PONTUAL, E. V.; PAIVA, P. M. G.; NAPOLEÃO, T. H. **Antibacterial lectins: action mechanism, defensive roles and biotechnological potential**. In: Collins, E. (Org) *Antibacterials: synthesis, properties and biological activities*, Nova Science Publishers Inc., New York, p. 68-89, 2017.
- RATES, S. M. K. Plants as source of drugs. *Toxicon*, v.39, p.603-613, 2001.
- SHIVAMADHU, M. C.; SRINIVAS, B. K.; JAYARAMA, S.; SHARADA, A. C. Anti-cancer and anti-angiogenic effects of partially purified lectin from *Praecitrullus fistulosus* fruit on *in vitro* and *in vivo* model. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 96 (2017) 1299-1309.
- B. R. SINDHURA, B. R.; P. HEDGE, P.; CHACHADI, V. B.; INAMDAR, S. R.; SWAMY, B. M. High mannose N-glycan binding lectin from *Remusatia vivipara* (RVL) limits cell growth, motility and invasiveness of human breast cancer cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. v. 93, p. 654-665, 2017.
- SPEAKE, B. K.; MURRAY, A. M.; NOBLE, R. C. Transport and transformations of yolk lipids during development of the avian embryo. *Prog. Lipid. Res.* v. 37, p. 1-32, 1998.
- WENG, W.; SHENG, G. Five transcription factors and fgf pathway inhibition efficiently induce erythroid differentiation in the epiblast. *Stem Cell Reports*. v. 2, p.262-270, 2014.
- ZHANG, Z.; JI, S.; ZHANG, B.; LIU, J.; QIN, Y.; XU, J.; YU, X. Role of angiogenesis in pancreatic cancer biology and therapy. *Biomedicina & Pharmacotherapy*. v. 108, p. 1135-1140, 2018.