

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**

**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO**

**Estudo da interação entre galectina-1 e actina sarcomérica**

**Fábio Roque Kubata**

**Ribeirão Preto**

**2021**

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**

**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO**

**Estudo da interação entre galectina-1 e actina sarcomérica**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto para obtenção do Título de Mestre em Ciências

Área de Concentração: Imunologia e Fisiopatologia.

**Orientado(a):** Fabio Roque Kubata

**Orientador(a):** Prof. Dr. Marcelo Dias Baruffi

Versão corrigida da Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia no dia 20/04/2021.

A versão original encontra-se disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP.

**Ribeirão Preto**

**2021**

## RESUMO

KUBATA, F.R. **Estudo da interação entre galectina-1 e actina sarcomérica**. 2021. 64f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2021.

A contração muscular é um processo vital, complexo e multimediado. As duas principais proteínas que atuam neste processo são a actina e a miosina. Os mecanismos moleculares envolvidos na fisiologia da contração muscular ainda não estão totalmente esclarecidos. A galectina-1 (Gal-1) é uma proteína multifuncional que se liga a  $\beta$ -galactosídeos por meio de seu domínio de reconhecimento de carboidrato (CRD). Esta proteína está envolvida em vários eventos associados ao tecido muscular como a fusão de miofibrilos, desenvolvimento e reparo deste tecido. Interessantemente, foi demonstrando que a expressão de Gal-1 na musculatura, esquelética e cardíaca, apresenta um padrão estriado caracterizado por sua co-localização com a actina sarcomérica, o que sugere uma interação direta entre estas moléculas. Este trabalho teve como objetivos a confirmação da ocorrência e a caracterização da interação entre Gal-1 e actina sarcomérica. Neste estudo foram utilizadas as formas recombinantes humana de Gal-1 e de Gal-3 (galectina controle) e preparações das formas monomérica (Actina-G) e filamentosa (Actina-F) de actina purificada de músculo de coelho. A análise experimental da potencial interação entre estas moléculas, em solução, foi monitorada por análises eletroforéticas em condições nativas; dissociantes e redutoras na presença ou ausência de agente de ligação cruzada. A investigação da interação entre Gal-1 e estas duas formas de actina sarcomérica, em fase sólida, foi feita por ELISA. Além disso, foram realizados ensaios de viscosimetria a partir de soluções contendo Gal-1 e Actina-G ou Actina-F. Após a constatação de ligação entre Gal-1 e actina sarcomérica, foram construídos modelos de interação com o uso de estratégias *in silico* de modelagem e ancoragem moleculares. As análises eletroforéticas indicaram que Gal-1 e Gal-3 não se ligaram à Actina-G, porém, com o uso do teste de ELISA foi demonstrado que Gal-1 interage apenas com Actina-F. A adição de Gal-1 em soluções destas duas formas de actina, provocou aumento de viscosidade apenas na solução de Actina-F. A propriedade de Gal-1 reconhecer carboidratos não participa do mecanismo molecular de sua interação com Actina-F, uma vez que a lactose não inibiu a ligação entre estas proteínas. As análises de bioinformática indicaram que Gal-1 pode se ligar na extremidade “barbed end” de Actina-F e, de forma termodinamicamente mais favorável, na interface entre subunidades adjacentes desta proteína filamentosa. Em conclusão, Gal-1 pode se ligar nas extremidades e interfaces das subunidades de Actina-F e promover a formação de retículos e/ou o favorecimento da polimerização desta proteína muscular em solução. Este conjunto de resultados sugere que a Gal-1 pode participar do mecanismo de contração muscular por meio de uma interação direta com a Actina-F de modo independente de sua atividade lectínica.

Palavras-chave: Galectina-1; Actina Sarcomérica; Músculo Esquelético

## ABSTRACT

Kubata, F.R. **Study of the interaction between galectin-1 and sarcomeric actin..** 2021. 64f. Dissertation (Master). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2021.

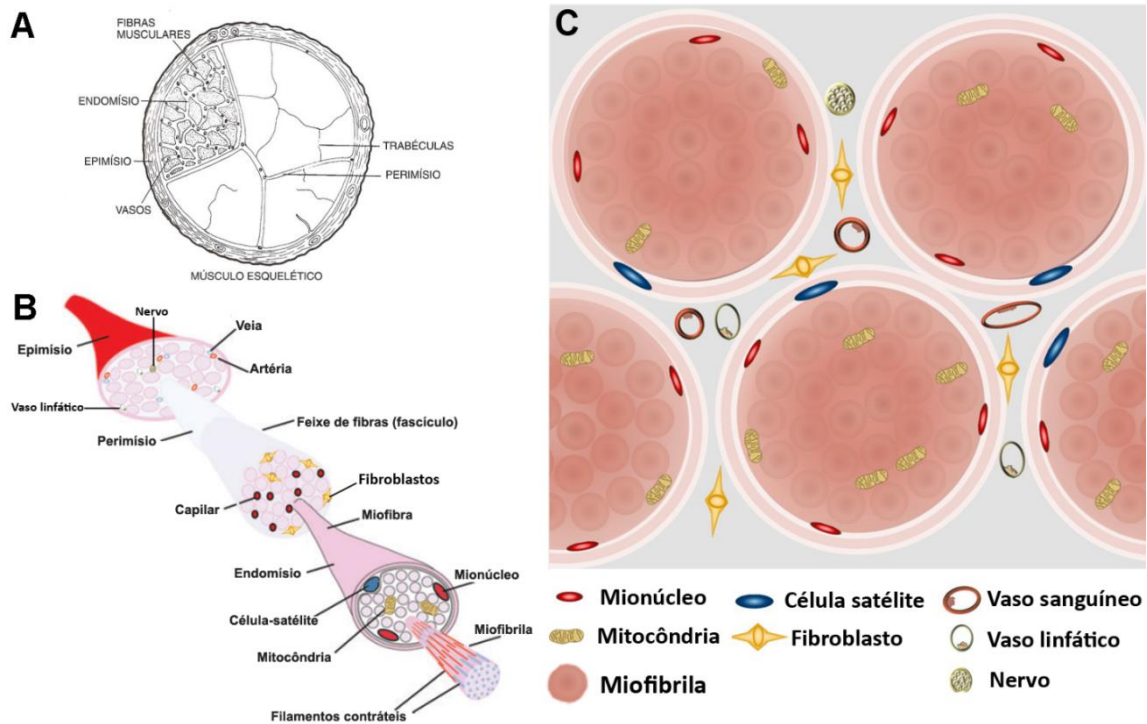
Muscle contraction is a vital, complex and multi-mediated process. The two main proteins that act in this process are actin and myosin. The molecular mechanisms involved in the physiology of muscle contraction are not yet fully understood. Galectin-1 (Gal-1) is a multifunctional protein that binds to  $\beta$ -galactosides through its carbohydrate recognition domain (CRD). This protein is involved in several events associated with muscle tissue such as the fusion of myotubes and the development and repair of this tissue. Interestingly, it was demonstrated that the expression of Gal-1 in muscle, skeletal and cardiac, presents a striated pattern characterized by its collocation with sarcomeric actin, which suggests a direct interaction between these proteins. This study aimed to confirm the occurrence and characterize the interaction between Gal-1 and sarcomeric actin. In this study, human recombinant forms of Gal-1 and Gal-3 (control galectin) and preparations of the monomeric (G-Actin) and filamentous (F-Actin) forms of purified rabbit muscle actin were used. The experimental analysis of the potential interaction between these molecules, in solution, was monitored by electrophoretic analysis under native conditions; dissociating and reducing agents in the presence or absence of a cross-linking agent. The investigation of the interaction between Gal-1 and these two forms of sarcomeric actin, in solid phase, was carried out by ELISA. In addition, viscosimetry assays were performed using solutions containing Gal-1 and G-Actin or F-Actin. After finding a link between Gal-1 and sarcomeric actin, interaction models were built using molecular modeling and docking strategies. Electrophoretic analyzes indicated that Gal-1 and Gal-3 did not bind to Actin-G, however, using the ELISA test it was shown that Gal-1 interacts only with F-Actin. The addition of Gal-1 in solutions of these two forms of actin, caused an increase in viscosity only in the solution of F-Actin. The property of Gal-1 to recognize carbohydrates does not participate in the molecular mechanism of its interaction with F-Actin, since lactose did not inhibit the binding between these proteins. Bioinformatics analyzes indicated that Gal-1 can bind to the "barbed end" end of F-Actin and, thermodynamically more favorably, to the interface between adjacent subunits of this filamentous protein. In conclusion, Gal-1 can bind to the ends and interfaces of the F-Actin subunits and promote the formation of reticles and / or favor the polymerization of this muscle protein in solution. This set of results suggests that Gal-1 can participate in the muscle contraction mechanism through a direct interaction with F-Actin independently of its lectin activity.

Keywords: Sarcomeric Actin; Galectin-1; Skeletal Muscle

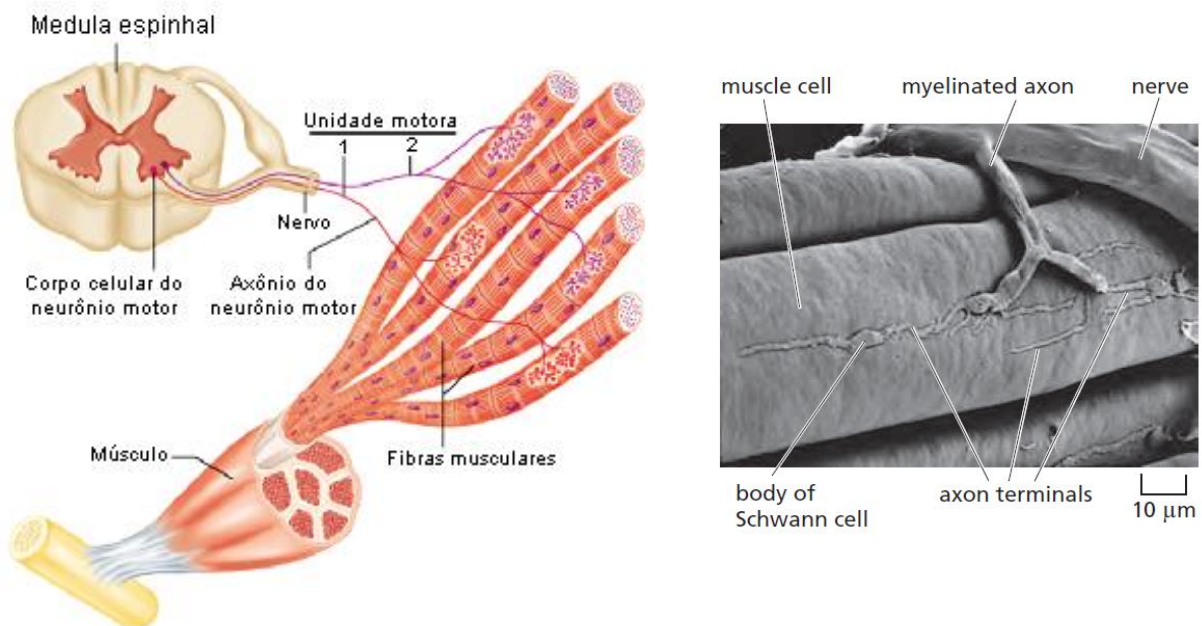
## **1. INTRODUÇÃO**

### **1.1 Estrutura e função do músculo esquelético**

Dentre os três tipos de musculatura (esquelética, cardíaca e lisa), os músculos esqueléticos são responsáveis pela locomoção, postura ereta, sustentação dos órgãos internos e compõe 40-45% da massa corpórea humana (KRAEMER; SPIERING, 2006; PORTO, 2005). A figura 1 apresenta um músculo esquelético com seus principais componentes morfo-funcionais. Os músculos são formados por um conjunto de células alongadas conhecidas como fibras musculares, as quais estão envolvidas em um tecido conjuntivo- o endomísio e limitadas pelo mesmo tecido com estrutura mais densa- o perimísio, constituindo um fascículo. Finalmente, vários fascículos são envolvidos por uma camada do mesmo tecido conjuntivo, o epimísio- formando o músculo esquelético (KRAEMER; SPIERING, 2006; MENSE, 2010; PORTO, 2005). Em um contexto funcional, o controle da contração muscular será ditado por neurônios motores, que se originam na medula espinhal e interconectam-se ao sistema muscular por meio das junções neuromusculares (Fig 2). Algumas patologias afetam a composição e/ou função deste tecido são atreladas inexoravelmente a dificuldades ou perda de movimentos (LEWIS; HALLER, 1989); como exemplo pode-se citar a Distrofia Muscular de Duchenne- a qual é caracterizada por degeneração progressiva da musculatura esquelética e gravidade variável e é altamente incapacitante (BLAKE et al., 2002; EMERY, 2002), afetando 1 em cada 3.600-6.000 meninos nascidos vivos (BUSHBY et al., 2010).



**Figura 1. Estrutura do músculo esquelético com seus principais componentes-** Em (A)- Disposição dos elementos constituintes do músculo esquelético (fibras musculares, tecido conjuntivo e vasos) em corte transversal (extraído de Porto, 2005). Em (B), esquematização tridimensional de um músculo esquelético- Os fascículos musculares são recobertos por uma matriz extracelular (epimísio) e compostos por feixes de miofibras, cada qual separada pelo perimísio e bem irrigada por vasos/ artérias. As miofibras individuais são recobertas pelo endomísio e compostas de múltiplos mionúcleos, mitocôndrias e miofibrilas (de centenas a milhares/ fibra) que contêm os elementos contráteis (actina e miosina). As células-satélite residem na região subsarcolemal- entre a lâmina basal (endomísio) e o sarcolema das fibras (figura extraída e traduzida de Otto *et al.*, 2009). Em (C)- Detalhamento de um grupo de miofibras com os principais componentes intra e extrafibrilares (extraído e ligeiramente modificado de Zouraq *et al.*, 2013).



**Figura 2. Visão esquemática das junções neuromusculares (Esquerda) e Microscopia eletrônica de varredura de um músculo esquelético de sapo (Direita)**- As fibras musculares tem a contração coordenada pelo sistema nervoso, através dos neurônios motores, por fendas subneurais denominadas junções neuromusculares (figura da esquerda extraída e traduzida de [http://faculty.etsu.edu/forsman/Histology %20of%20musclefor%20web\\_files/image015.jpg](http://faculty.etsu.edu/forsman/Histology%20of%20musclefor%20web_files/image015.jpg) e figura da direita extraída de Alberts et al., 2015)

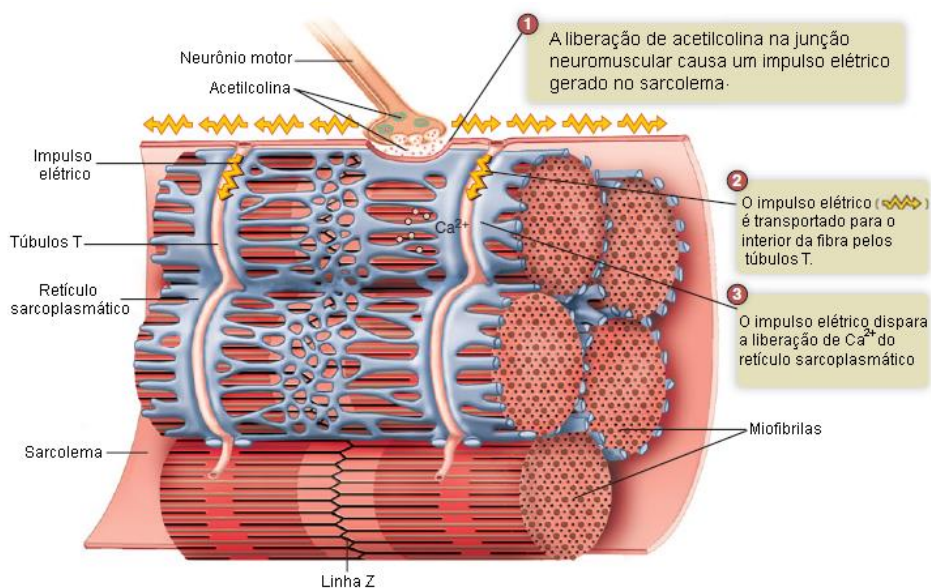
## 1.2 A fibra muscular esquelética

A fibra muscular é a unidade morfofuncional do músculo. É uma célula cilíndrica, alongada e multinucleada, com os núcleos dispostos em sua periferia. O retículo sarcoplasmático é o equivalente ao retículo endoplasmático liso das demais células. Além dos componentes celulares usuais, as fibras contêm grandes quantidades de fibrilas delgadas, dispostas ao longo de seu eixo maior, conferindo-lhe uma leve estriação longitudinal (as miofibrilas). Tais estruturas são compostas de filamentos espessos de miosina e filamentos finos de actina- os quais permitem a contração e o relaxamento do músculo (para revisão molecular da interação entre actina e miosina muscular, vide Alberts et al. 2015). Outra característica da fibra é que o sarcolema possui invaginações de membrana que atravessam perpendicularmente a fibra, formando os túbulos T, responsáveis pela transmissão do potencial de membrana que leva à contração coordenada dos feixes musculares- conforme será explicado a seguir (KRAEMER; SPIERING, 2006; PORTO, 2005).

## 1.3 Processo de contração muscular

A figura 3 mostra os princípios básicos que levam à contração muscular. A contração muscular inicia-se logo após a sinalização pelos neurônios motores. A onda de despolarização atravessa os axônios motores e libera nas fendas subneurais o neurotransmissor acetilcolina (ACh). A ACh, por sua vez, interage com seus receptores (canais iônicos de Na<sup>+</sup>). O influxo de Na<sup>+</sup> provoca uma onda de despolarização no sarcolema, que através da porção do retículo sarcoplasmático mais próxima aos túbulos T (cisterna terminal) detecta o potencial de ação gerado pelo sistema nervoso e libera o Ca<sup>2+</sup>, o qual permite a interação do filamento espesso de miosina com os filamentos de actina, culminando com o processo de contração muscular dependente de ATP. Quando o Ca<sup>2+</sup> é recapturado para o retículo

sarcoplasmático (transporte ativo com troca por  $Mg^{2+}$ ), as fibras relaxam (KRAEMER; SPIERING, 2006; PORTO, 2005).



**Figura 3. Como a ativação nervosa leva à liberação de íons cálcio no interior da fibra muscular** (extraído e traduzido de Johnson, 2012)

#### 1.4 Principais efetores moleculares da contração muscular

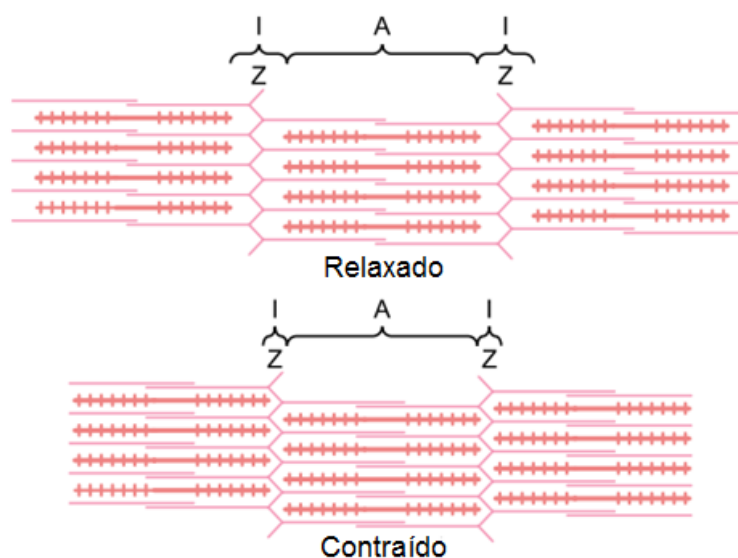
Embora o mecanismo de contração muscular seja complexo e envolva várias proteínas, as proteínas protagonistas deste evento são miosina e actina, presentes em feixes denominados de miofibrilas como demonstrado na figura 3, porção inferior (ALBERTS, 2017). O modelo do filamento deslizante foi descrito inicialmente por Huxley em 1953, na Universidade de Cambridge, pelo mecanismo de ponte cruzada entre actina e miosina muscular. Estas últimas pertencem a uma superfamília de proteínas com atividade motora; entretanto, das 17 classes apenas as denominadas Miosinas II (ou convencionais) participam da contração muscular (ALBERTS, 2017). A Miosina II possui 2 cadeias pesadas idênticas, de aproximadamente 200 kDa cada, e quatro cadeias leves de aproximadamente 20 kDa cada. Seu peso molecular é em torno de 480 kDa, proteína esta que é codificada pelo gene *MYH2* (CHEN; THOMPSON; SNOW, 2017; HARTMAN; JAMES, 2011; JIN et al., 2018).

Já a actina apresenta massa molecular de aproximadamente 42 kDa, e possui várias isoformas que variam de acordo com o tipo de célula e tecido em que estão presentes (ALBERTS, 2017). No tecido muscular ela pode ser encontrada nos



sarcômeros, e sua isoforma predominante é a actina- $\alpha$ 1 ou actina- $\alpha$  esquelética, codificada pelo gene *ACTA1* (CHEN; THOMPSON; SNOW, 2017; PERRIN; ERVASTI, 2010). Em miofibrilas maduras, o feixe de actina é considerado um componente estrutural muito estável (Ono, 2010), com meia-vida na ordem de dias (ZAK et al., 1977) com ordem de troca de monômeros de G-actina de horas (MARTONOSI; GOUVEA; GERGELY, 1960).

O mecanismo molecular simplificado da contração muscular, a actina-F é deslocada internamente sobre os filamentos de miosina, fazendo com que suas extremidades se sobreponham e a actina filamentosa traciona os discos Z para as extremidades dos filamentos de miosina, como demonstrado na Figura 4 (SWEENEY; HAMMERS, 2018). Para a ocorrência da contração muscular, os íons de cálcio liberados irão criar uma força atrativa entre a molécula de actina e a molécula de miosina, e também é necessária uma fonte energética, proveniente da molécula de ATP (Adenosina Trifosfato), a qual é degradada em ADP (Adenosina Difosfato) para gerar a energia necessária para a contração muscular. A quebra da molécula de ATP é realizada pela cabeça da molécula de miosina, que possui função de ATPase.(GUYTON; HALL, 2006; SWEENEY; HAMMERS, 2018).



**Figura 4.** Mecanismo molecular da contração muscular, do ponto de vista de um único sarcômero (adaptado de Guyton et al. 2006).

### 1.5 Galectinas-1 (Gal-1) e o tecido muscular

Proteínas que reconhecem carboidratos de modo específico e reversível, e

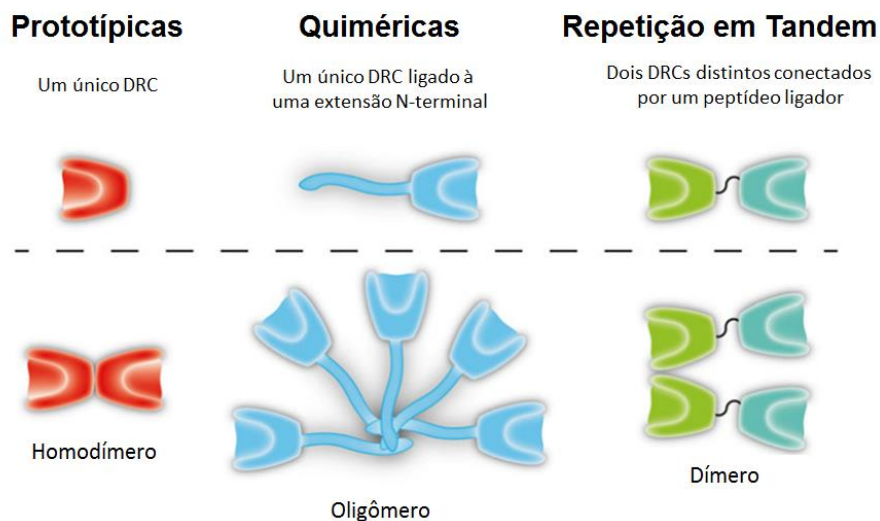
não pertencem as classes de anticorpos e enzimas, são conhecidas como lectinas (do Latim *legere*, escolher)(BOYD; SHAPLEIGH, 1954; LIS; SHARON, 1998). As lectinas interagem com carboidrato por meio de seus domínios de reconhecimento de carboidratos (CRD- *Carbohydrate Recognition Domain*- (LIS; SHARON, 1998). Galectinas são lectinas multifuncionais de origem animal que se ligam à carboidratos compostos por  $\beta$ -galactosídeos que contêm preferencialmente sequências de N-acetilactosaminas. Além disso, os resíduos terminais  $\beta$ -galactose e o tamanho da cadeia de polilactosamina são elementos críticos para a interação entre galectina e carboidrato (BARONDES et al., 1994; CUMMINGS; LIU, 2008; STOWELL et al., 2004).

Atualmente, 15 membros da família das galectinas foram identificados em vertebrados, e eles compartilham similaridades significativas na sequência de aminoácidos que compõem sua estrutura, fato que caracteriza um baixo grau de seletividade de anticorpos capazes de reconhecer estas proteínas, facilitando a reação cruzada destes com diferentes tipos de galectinas (COOPER, 2002). Estes membros podem ser encontrados tanto em ambientes extracelulares quanto intracelular, e apresentam uma diversidade na especificidade de seus ligantes (ANDREWS et al., 2020; HONG et al., 2019; QUEROL CANO et al., 2019). Entretanto, as galectinas apresentam diferenças estruturais entre seus CRDs e estrutura quaternária, o que permite a classificação dessas proteínas em três grupos distintos, ilustrados na Figura 5 (HIRABAYASHI; KASAI, 1993). As galectinas podem ser classificadas em:

1) Prototípicas: estas proteínas apresentam um único CRD, podendo existir tanto na forma de monômeros quanto na forma de homodímeros formados por ligações não-covalentes. Neste grupo estão as galectinas-1, -2, -5, -7, -10, -11, -13 e -14).

2) Quimera: são caracterizadas pela presença de um CRD e uma região N- terminal (domínio não lectínico). O único representante deste grupo é a galectina-3.

Repetições em *tandem*: são caracterizadas pela presença de dois CRDs (sendo um N-terminal e o outro C-terminal), conectados por um peptídeo ligador (peptídeo *linker*) rico em prolina. Neste grupo encontram-se as galectinas-4, -8, -9 e -12 (ARTHUR et al., 2015).



**Figura 5.** Classificação das galectinas segundo a disposição dos domínios de reconhecimento de carboidratos (CRD) (adaptado de ARTHUR et al., 2015).

As duas galectinas mais estudadas são a Gal-1 e Gal-3 e do ponto de vista biológico estas lectinas podem apresentar redundância e/ou antagonismo funcional (MENDEZ-HUERGO et al., 2019; STOWELL et al., 2014). Nesse sentido, Gal-1 diferentemente de Gal-3 favorece a formação de miofibroblastos que expressam actina muscular em carcinomas (VALACH et al., 2012).

A galectina-3 (Gal-3) humana é uma proteína com peso molecular de aproximadamente 30 Kda, codificada pelo gene *LGALS3* no cromossomo 22 região q21-q22 com aproximadamente 17.000 pares de base (ODA et al., 1991; RAZ et al., 1991). Esta galectina possui 250 aminoácidos, onde cerca de 130 aminoácidos são referentes ao domínio de reconhecimento de carboidrato C-terminal, e o restante constituem uma cadeia não lectínica N-terminal (BARONDES et al., 1994b; DUMIC; DABELIC; FLÖGEL, 2006).

A Gal-3 é descrita como uma lectina expressa em diversos tecidos como baço, estômago, cólon, útero e pâncreas, sendo altamente expressa principalmente por monócitos, macrófagos, células dendríticas, neutrófilos e fibroblastos (KIM et al., 2007). Esta proteína também apresenta um papel chave durante o reparo do tecido muscular após miolesões agudas (CERRI et al., 2020; KIM et al., 2007; RANCOURT et al., 2018), apresentando expressão transiente apenas durante a fase de proliferação dos mioblastos e formação dos miotubos iniciais, localizando-se no

núcleo, membrana plasmática e sarcoplasma destas células/ tecido (CERRI et al., 2020).

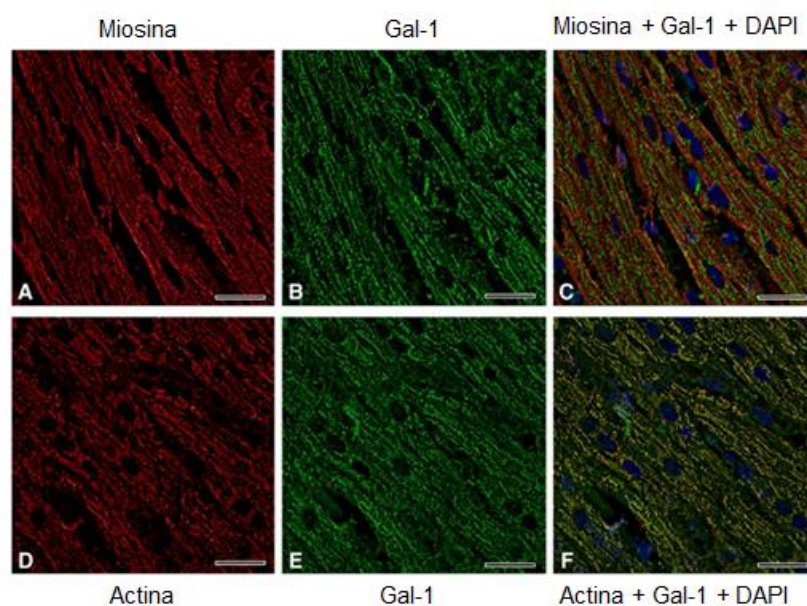
A galectina-1 (Gal-1) humana é uma proteína com peso molecular de aproximadamente 14 kDa, constituída por 135 aminoácidos, codificada pelo gene *LGALS1* de 4397 pares de bases, o qual está inserido na região cromossomo 22 região q12 (CAMBY et al., 2006; CHIARIOTTI et al., 2002). A Gal-1 é expressa por diversos tecidos, tanto em condições fisiológicas como patológicas, e participa de vários processos biológicos, como controle da adesão celular, sinalização celular, proliferação e ciclos celulares, apoptose, gênese de tumores, fagocitose, processos alérgicos, interações patógeno-hospedeiro, regulação imunológica, diferenciação hematopoiética, embriogênese e ciclo menstrual (BACIGALUPO; CARABIAS; TRONCOSO, 2017; BRINCHMANN; PATEL; IVERSEN, 2018; JIANG et al., 2019; MENDEZ-HUERGO et al., 2019; SHIH et al., 2019; TSAI et al., 2018; VERGETAKI et al., 2014; WANG et al., 2020; YANG et al., 2018). Essa proteína também está intrinsecamente relacionada a funções de neutrófilos, tais como a regulação quimiotática destas células para o sítio inflamatório, exposição reversível de fosfatidilserina em neutrófilos ativados, e reconhecimento fagocítico sem indução de apoptose (DIAS-BARUFFI et al., 2003; RODRIGUES et al., 2019; STOWELL et al., 2014).

A Gal-1 participa de diferentes processos associados a fisiologia do tecido muscular como sua diferenciação e desenvolvimento do músculo; ao processo de fusão do miotubo e ao evento da transdiferenciação de fibroblasto para mioblasto (AHMED; DU; VASTA, 2009; CERRI et al., 2008; DIAS-BARUFFI et al., 2010; WATT; JONES; GOLDRING, 2002). Além disso, Gal-1 esta envolvida com a regeneração do tecido muscular por induzir diferenciação de mioblastos *in vitro* e regular o processo inflamatório em músculos lesionados e também na modulação (BENATAR et al., 2015; CERRI et al., 2008). Tem sido descrito que a Gal-1 pode participar do processo de regeneração muscular por induzir a diferenciação de células primitivas mesenquimais, mediar a fusão de mioblastos e modular a interação de alfa7/beta 1 integrina com fibronectina e laminina durante a diferenciação muscular (CHAN et al., 2006; GEORGIADIS et al., 2007; GU et al., 1994).

De modo interessante, foi reportado que Gal-1 é constitutivamente

expressa em músculo esquelético e lesões musculares em camundongos *mdx* ou induzidas por cloreto de bário em camundongos selvagens, promovem um elevado aumento dos níveis de Gal-1 no músculo (CERRI et al., 2008). Além disso, após a resolução total ou parcial das lesões musculares desses camundongos as taxas de expressão de Gal-1 retornam aos níveis basais. Segundo estes autores, a Gal-1 pode auxiliar no processo da regeneração muscular pela indução de diferenciação de mioblastos, ou por meio de sua atividade anti-inflamatória. Nessa linha, foi demonstrado que o tratamento de camundongos *mdx* com Gal-1 recombinante pode prevenir ou melhorar o quadro de lesão muscular destes animais (VAN RY et al., 2015).

Vale a pena ressaltar que a literatura tem demonstrado a interação de várias proteínas com as miofibrilas. Nessa linha, nosso grupo de pesquisas se deparou com um dado surpreendente: A co-localização de galectina-1 (Gal-1) com actina sarcomérica em músculo esquelético suíno (Figura 6) (DIAS-BARUFFI et al., 2010). Esta proteína é expressa em diferentes tecidos e abundantemente expressa em tecido muscular esquelético (DIAS-BARUFFI et al., 2010; KAMI; SENBA, 2005). Em outras publicações também foi relatado que lectinas provenientes do cérebro se ligavam em actina proveniente de músculo, e que Gal-1 humana de plaquetas se ligavam com actina com alta afinidade e inclusive colocalizavam nas plaquetas (JOUBERT; AVELLANA-ADALID; MORNET, 1992; WOLFENSTEIN-TODEL, 2012).



**Figura 6.** Colocalização entre Gal-1 e Actina Sarcomérica, por imunohistoquímica (adaptado de DIAS-BARUFFI et al., 2010).

A hipótese é que na estrutura do sarcômero, a galectina-1 esteja no espaço das bandas I, entre a linha Z e a banda A. Estando assim, colocalizada apenas com actina, e não miosina (Figura 7).

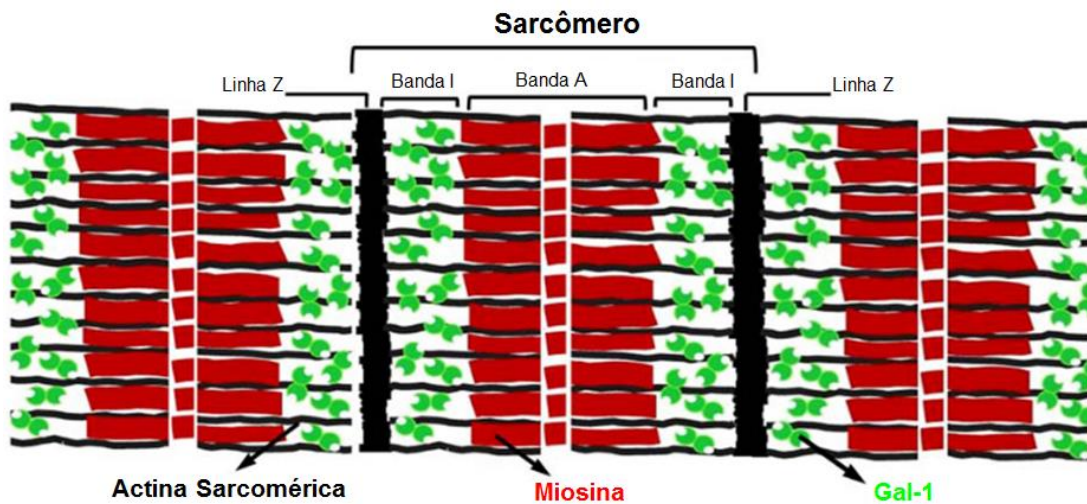


Figura 7. Estrutura do sarcômero, de acordo com a colocalização entre galectina-1 e actina (adaptado de DIAS-BARUFFI et al., 2010).

Porém, os dados de co-localização entre Gal-1 e actina sarcomérica sugerem que esta galectina pode além de promover a regeneração muscular e a modulação da inflamação deste tecido, ela pode participar do mecanismo molecular da contração muscular.

### **3 CONCLUSÃO**

A Gal-1 liga-se, de modo independente de sua atividade lectínica, a extremidades e interfaces das subunidades de Actina-F purificada de músculos de coelhos, favorecendo a formação de retículos e/ou a polimerização da actina sarcomérica.

A Gal-1 pode participar do mecanismo de contração muscular por meio de uma interação direta com a Actina-F .

## 4 REFERÊNCIAS

- AHMED, H.; DU, S.; VASTA, G. R. Knockdown of a galectin-1-like protein in zebrafish ( *Danio rerio* ) causes defects in skeletal muscle development. p. 277–283, 2009.
- ALBERTS, B. **Biologia Molecular da Célula 6<sup>a</sup>**. [s.l.: s.n.].
- ANDREWS, A. R. et al. Blocking extracellular Galectin-3 in patients with osteoarthritis. **Contemporary clinical trials communications**, v. 17, p. 100500, mar. 2020.
- ARTHUR, C. M. et al. Galectins. In: STOWELL, S. R.; CUMMINGS, R. D. (Eds.). . **Galectins Methods and Protocols**. [s.l.] Humana Press, 2015. v. 1207p. 1–35.
- BACIGALUPO, M. L.; CARABIAS, P.; TRONCOSO, M. F. Contribution of galectin-1, a glycan-binding protein, to gastrointestinal tumor progression. **World journal of gastroenterology**, v. 23, n. 29, p. 5266–5281, ago. 2017.
- BARONDES, S. H. et al. Galectins: A family of animal ??-galactoside-binding lectins. **Cell**, v. 76, n. 4, p. 597–598, 1994.
- BARONI, L. et al. Functional characterisation of the actin-depolymerising factor from the apicomplexan *Neospora caninum* (NcADF). **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 224, n. May, p. 26–36, 2018.
- BENATAR, A. F. et al. Galectin-1 Prevents Infection and Damage Induced by *Trypanosoma cruzi* on Cardiac Cells. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 10, p. 1–23, 2015.
- BERMAN, H. M. et al. The Protein Data Bank. **Nucleic acids research**, v. 28, n. 1, p. 235–242, jan. 2000.
- BLAKE, D. J. et al. Function and genetics of dystrophin and dystrophin-related proteins in muscle. **Physiological reviews**, v. 82, n. 2, p. 291–329, abr. 2002.
- BOYD, W. C.; SHAPLEIGH, E. Specific Precipitating Activity of Plant Agglutinins (Lectins). **Science (New York, N.Y.)**, v. 119, n. 3091, p. 419, mar. 1954.
- BRINCHMANN, M. F.; PATEL, D. M.; IVERSEN, M. H. The Role of Galectins as Modulators of Metabolism and Inflammation. **Mediators of inflammation**, v. 2018, p. 9186940, 2018.
- BUSHBY, K. et al. Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 1: diagnosis, and pharmacological and psychosocial management. **The Lancet. Neurology**, v. 9, n. 1, p. 77–93, jan. 2010.
- CAMBY, I. et al. **Galectin-1: A small protein with major functions****Glycobiology**, 2006.
- CERRI, D. et al. **Endogenous Galectin-3 is Required for Skeletal Muscle Repair**. [s.l.: s.n.].
- CERRI, D. G. et al. Degeneration of dystrophic or injured skeletal muscles induces high expression of Galectin-1. v. 18, n. 11, p. 842–850, 2008a.



- CERRI, D. G. et al. Degeneration of dystrophic or injured skeletal muscles induces high expression of Galectin-1. **Glycobiology**, v. 18, n. 11, p. 842–850, 2008b.
- CHAN, J. et al. Galectin-1 induces skeletal muscle differentiation in human fetal mesenchymal stem cells and increases muscle regeneration. **Stem cells (Dayton, Ohio)**, v. 24, n. 8, p. 1879–1891, 2006.
- CHEN, J.; THOMPSON, L. D. .; SNOW, L. . Muscle Structure and Function. In: **Orthopaedic Physical Therapy Secrets**. 3. ed. [s.l.] Elsevier, 2017. p. 1–9.
- CHIARIOTTI, L. et al. Galectin genes: Regulation of expression. **Glycoconjugate Journal**, v. 19, n. 7–9, p. 441–449, 2002.
- CHO, M.; CUMMINGS, R. D. **Galectin-1, a beta-galactoside-binding lectin in Chinese hamster ovary cells. II. Localization and biosynthesis.** **The Journal of biological chemistry**, 1995.
- CHO, M.; CUMMINGS, R. D. Characterization of monomeric forms of galectin-1 generated by site- directed mutagenesis. **Biochemistry**, v. 35, n. 40, p. 13081–13088, 1996.
- COOPER, D. N. W. Galectinomics: Finding themes in complexity. **Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects**, v. 1572, n. 2–3, p. 209–231, 2002.
- CUMMINGS, R. D.; LIU, F.-T. Galectins. In: **Essentials of Glycobiology**. 2. ed. [s.l.] Cold Spring Harbor, 2008.
- DESTA, I. T. et al. Performance and Its Limits in Rigid Body Protein-Protein Docking. **Structure**, v. 28, n. 9, p. 1071- 1081.e3, 2020.
- DIAS-BARUFFI, M. et al. Dimeric Galectin-1 Induces Surface Exposure of Phosphatidylserine and Phagocytic Recognition of Leukocytes without Inducing Apoptosis. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 42, p. 41282–41293, 2003.
- DIAS-BARUFFI, M. et al. Differential expression of immunomodulatory galectin-1 in peripheral leukocytes and adult tissues and its cytosolic organization in striated muscle. **Glycobiology**, 2010a.
- DIAS-BARUFFI, M. et al. Differential expression of immunomodulatory galectin-1 in peripheral leukocytes and adult tissues and its cytosolic organization in striated muscle. v. 20, n. 5, p. 507–520, 2010b.
- DUMIC, J.; DABELIC, S.; FLÖGEL, M. Galectin-3: an open-ended story. **Biochimica et biophysica acta**, v. 1760, n. 4, p. 616–635, abr. 2006.
- EDGAR, R. C. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. **Nucleic acids research**, v. 32, n. 5, p. 1792–1797, 2004.
- EMERY, A. E. H. The muscular dystrophies. **Lancet (London, England)**, v. 359, n. 9307, p. 687–695, fev. 2002.
- GEORGIADIS, V. et al. Lack of galectin-1 results in defects in myoblast fusion and muscle regeneration. **Developmental dynamics : an official publication of the American Association of Anatomists**, v. 236, n. 4, p. 1014–1024, abr. 2007.
- GU, M. et al. Selective modulation of the interaction of alpha 7 beta 1 integrin with fibronectin and laminin by L-14 lectin during skeletal muscle differentiation. **Journal**

**of cell science**, v. 107 ( Pt 1), p. 175–181, jan. 1994.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. Contraction of Skeletal Muscle. In: GUYTON, A. C.; HALL, J. E. (Eds.). . **Medical Physiology**. 11. ed. Philadelphia: Elsevier Inc., 2006. p. 72–84.

HARTMAN, M. A.; JAMES, A. The myosin superfamily at a glance. 2011.

HIRABAYASHI, J.; KASAI, K. The family of metazoan metal-independent beta-galactoside-binding lectins: structure, function and molecular evolution.

**Glycobiology**, v. 3, n. 4, p. 297–304, 1993.

HONG, M.-H. et al. Intracellular galectins control cellular responses commensurate with cell surface carbohydrate composition. **Glycobiology**, v. 30, n. 1, p. 49–57, dez. 2019.

JIANG, Z. et al. Galectin-1 gene silencing inhibits the activation and proliferation but induces the apoptosis of hepatic stellate cells from mice with liver fibrosis. **Int J Mol Med**, v. 43, n. 1, p. 103–116, 2019.

JIN, Y. et al. Complete Characterization of Cardiac Myosin Heavy Chain (223 kDa) Enabled by Size-Exclusion Chromatography and Middledown Mass Spectrometry. v. 89, n. 9, p. 4922–4930, 2018.

JOUBERT, R.; AVELLANA-ADALID, V.; MORNET, S. Human Brain Lectin : A Soluble Lectin That Binds Actin. p. 200–203, 1992.

KAMI, K.; SENBA, E. Galectin-1 is a novel factor that regulates myotube growth in regenerating skeletal muscles. **Current drug targets**, v. 6, n. 4, p. 395–405, jun. 2005.

KANG, H. et al. Regulation of Actin by Ion-Linked Equilibria. **Biophysical Journal**, v. 105, n. 12, p. 2621–2628, 2013.

KIM, H. et al. Expression and immunohistochemical localization of galectin-3 in various mouse tissues. **Cell Biology International**, v. 31, n. 7, p. 655–662, 2007.

KOZAKOV, D. et al. The ClusPro web server for protein-protein docking. **Nature Protocols**, v. 12, n. 2, p. 255–278, 2017.

KRAEMER, W. .; SPIERING, B. A. Skeletal Muscle Physiology: Plasticity and Responses to Exercise. In: M.B. RANKE, T.; V. POPOVIĆ-BRKIĆ, B. (Eds.). . **Skeletal Muscle as a Response Target: The Link between Growth and Metabolism**. 9. ed. Basel: Karger, 2006. p. 2–16.

LASKOWSKI, R. A. et al. PROCHECK: a program to check the stereochemical quality of protein structures. **Journal of Applied Crystallography**, v. 26, n. 2, p. 283–291, 1993.

LEWIS, S. F.; HALLER, R. G. Skeletal Muscle Disorders and Associated Factors That Limit Exercise Performance. **Exercise and Sports Sciences Reviews**, v. 17, n. 1, p. 67–114, 1989.

LIS, H.; SHARON, N. Lectins: Carbohydrate-Specific Proteins That Mediate Cellular Recognition. **Chemical reviews**, v. 98, n. 2, p. 637–674, abr. 1998.

MARTONOSI, A.; GOUVEA, M. A.; GERGELY, J. Studies on Actin: III. G-F

- TRANSFORMATION OF ACTIN AND MUSCULAR CONTRACTION (EXPERIMENTS IN VIVO). **Journal of Biological Chemistry**, v. 235, n. 6, p. 1707–1710, 1960.
- MENDEZ-HUERGO, S. P. et al. Clinical Relevance of Galectin-1 and Galectin-3 in Rheumatoid Arthritis Patients: Differential Regulation and Correlation With Disease Activity. **Frontiers in Immunology**, v. 9, p. 3057, 2019.
- MENSE, S. Functional Anatomy of Muscle: Muscle, Nociceptors and Afferent Fibers. In: MENSE, S.; GERWIN, R. D. (Eds.). . **Muscle Pain: Understanding the Mechanisms**. Berlin: Springer, 2010. p. 19–21.
- NARITA, A.; ODA, T.; MAÉDA, Y. Structural basis for the slow dynamics of the actin filament pointed end. **EMBO Journal**, v. 30, n. 7, p. 1230–1237, 2011.
- NESMELOVA, I. V et al. Lactose binding to galectin-1 modulates structural dynamics, increases conformational entropy, and occurs with apparent negative cooperativity. **Journal of molecular biology**, v. 397, n. 5, p. 1209–1230, abr. 2010.
- ODA, Y. et al. Human breast carcinoma cDNA encoding a galactoside-binding lectin homologous to mouse Mac-2 antigen. **Gene**, v. 99, n. 2, p. 279–283, mar. 1991.
- PANDEY, R. K.; BHATT, T. K.; PRAJAPATI, V. K. Novel Immunoinformatics Approaches to Design Multi-epitope Subunit Vaccine for Malaria by Investigating Anopheles Salivary Protein. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1125, 2018.
- PARDEE, J. D.; ASPUDICH, J. Purification of muscle actin. **Methods in Enzimology**, v. 85, p. 164–181, 1982.
- PERRIN, B. J.; ERVASTI, J. M. The Actin Gene Family : Function Follows Isoform. v. 634, n. August, p. 630–634, 2010.
- PORTO, C. . **Semiologia Médica**. [s.l.] Guanabara Koogan, 2005.
- QUEROL CANO, L. et al. Intracellular Galectin-9 Controls Dendritic Cell Function by Maintaining Plasma Membrane Rigidity. **iScience**, v. 22, p. 240–255, dez. 2019.
- RANCOURT, A. et al. Galectin-3 and N -acetylglucosamine promote myogenesis and improve skeletal muscle function in the mdx model of Duchenne muscular dystrophy. **The FASEB Journal**, v. 32, p. fj.201701151RRR, 12 jun. 2018.
- RAZ, A. et al. Molecular cloning and chromosomal mapping of a human galactoside-binding protein. **Cancer research**, v. 51, n. 8, p. 2173–2178, abr. 1991.
- RODRIGUES, L. C. et al. Galectin-1 modulation of neutrophil reactive oxygen species production depends on the cell activation state. **Molecular Immunology**, v. 116, p. 80–89, 2019.
- SHIH, T.-C. et al. Galectin-1 inhibition induces cell apoptosis through dual suppression of CXCR4 and Ras pathways in human malignant peripheral nerve sheath tumors. **Neuro-oncology**, v. 21, n. 11, p. 1389–1400, nov. 2019.
- SNOW, L. A. **MUSCLE STRUCTURE AND FUNCTION**. 3. ed. [s.l.] Elsevier Inc., [s.d.].
- STOWELL, S. R. et al. Human galectin-1 recognition of poly-N-acetyllactosamine and chimeric polysaccharides. **Glycobiology**, v. 14, n. 2, p. 157–167, 2004.

- STOWELL, S. R. et al. Differential Roles of Galectin-1 and Galectin-3 in Regulating Leukocyte Viability and Cytokine Secretion. **The Journal of Immunology**, v. 180, n. 5, p. 3091–3102, 2014.
- SWEENEY, H. L.; HAMMERS, D. W. Muscle Contraction. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, v. 10, n. 2, 2018.
- TSAI, M.-S. et al. Galectin-1 Restricts Vascular Smooth Muscle Cell Motility Via Modulating Adhesion Force and Focal Adhesion Dynamics. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 11497, 2018.
- VALACH, J. et al. Smooth muscle actin-expressing stromal fibroblasts in head and neck squamous cell carcinoma: Increased expression of galectin-1 and induction of poor prognosis factors. **International Journal of Cancer**, v. 131, n. 11, p. 2499–2508, 2012.
- VAN RY, P. M. et al. Galectin-1 Protein Therapy Prevents Pathology and Improves Muscle Function in the mdx Mouse Model of Duchenne Muscular Dystrophy. **Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy**, v. 23, n. 8, p. 1285–1297, ago. 2015.
- VERGETAKI, A. et al. Galectin-1 Overexpression in Endometriosis and Its Regulation by Neuropeptides (CRH, UCN) Indicating Its Important Role in Reproduction and Inflammation. **PLOS ONE**, v. 9, n. 12, p. 1–17, 2014.
- WANG, W.-H. et al. The role of galectins in virus infection - A systemic literature review. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v. 53, n. 6, p. 925–935, 2020.
- WATT, D. J.; JONES, G. E.; GOLDRING, K. The involvement of galectin-1 in skeletal muscle determination, differentiation and regeneration. **Glycoconjugate Journal**, v. 19, n. 7–9, p. 615–619, 2002.
- WOLFENSTEIN-TODEL, L. Y. C. Isolation of Galectin-1 from Human Platelets : Its Interaction with Actin. p. 8–14, 2012.
- XUE, L. C. et al. PRODIGY: a web server for predicting the binding affinity of protein–protein complexes. **Bioinformatics**, v. 32, n. 23, p. 3676–3678, 2016.
- YANG, L.-T. et al. Long-term effects: Galectin-1 and specific immunotherapy for allergic responses in the intestine. **Allergy**, v. 73, n. 1, p. 106–114, jan. 2018.
- ZAK, R. et al. Comparison of turnover of several myofibrillar proteins and critical evaluation of double isotope method. **The Journal of biological chemistry**, v. 252, n. 10, p. 3430–3435, maio 1977.