RESSALVA

Atendendo solicitação do
autor, o texto completo
desta dissertação será
disponibilizado somente a
partir de 19/04/2024.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José do Rio Preto

Diego Dias dos Santos

EFEITO DA INIBIÇÃO DA PROTEÍNA GALECTINA-3 NA TOXICIDADE HEPÁTICA INDUZIDA PELA CISPLATINA EM RATOS

São José do Rio Preto, SP
2023

Diego Dias dos Santos

EFEITO DA INIBIÇÃO DA PROTEÍNA GALECTINA-3 NA TOXICIDADE HEPÁTICA INDUZIDA PELA CISPLATINA EM RATOS

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biociências, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: FAPESP nº 2020/03565-2
CAPES nº 88887.598231/2021-00

Orientador: Profª. Drª. Cristiane Damas Gil
Coorientador: Drª. Gisela Rodrigues da Silva Sasso

São José do Rio Preto, SP
2023

S237e

Santos, Diego Dias dos

Efeito da inibição da proteína galectina-3 na toxicidade hepática induzida pela cisplatina em ratos / Diego Dias dos Santos. -- São José do Rio Preto, 2023

75 p. : il., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto

Orientadora: Cristiane Damas Gil

Coorientadora: Gisela Rodrigues da Silva Sasso

1. Hepatotoxicidade. 2. Inflamação. 3. Galectina-3. 4. Cisplatina. 5. Pectina Cítrica Modificada. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Diego Dias dos Santos

EFEITO DA INIBIÇÃO DA PROTEÍNA GALECTINA-3 NA TOXICIDADE HEPÁTICA INDUZIDA PELA CISPLATINA EM RATOS

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biociências, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de São José do Rio Preto.

Financiadora: FAPESP nº 2020/03565-2
CAPES nº 88887.598231/2021-00

Orientador: Profª. Drª. Cristiane Damas Gil
Coorientador: Drª. Gisela Rodrigues da Silva Sasso

Comissão Examinadora

Profª. Drª. Cristiane Damas Gil
UNIFESP – Campus de São Paulo / UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto
Orientadora

Profª. Drª Ana Paula Girol
UNESP – Campus São José do Rio Preto / UNIFIPA – Centro Universitário Padre Albino

Profª. Drª Vanessa Moreira
UNIFESP – Campus de São Paulo

São José do Rio Preto, SP
19 de abril de 2023

Aos meus pais, Mariene e Manoel, que sempre se esforçaram ao máximo para que eu me tornasse o que eu sempre almejei. A minha irmã, Thalita, que apesar das adversidades, nunca se recusou em colaborar com o meu sonho. A meu primo, Roni, que me abrigou e resguardou durante o momento mais difícil da minha vida. Pessoas estas, que mediante a todas as dificuldades, colaboraram com meu crescimento pessoal, para que me tornasse um profissional digno, honesto, empático, dedicado e persistente.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Profª. Drª. Cristiane Damas Gil, por todo apoio e atenção dada quando necessário, e principalmente por ser humana, e entender e compreender as facilidades e dificuldades de todas (os) do grupo de pesquisa. Orientadora essa, que nunca mediu esforços ao próximo, independente da situação. Agradeço imensamente por todo apoio e conhecimento transmitido, para que eu siga seus caminhos e futuramente, me tornar um pesquisador renomado, ético e de grande sucesso.

Agradeço imensamente a minha co-orientadora, Drª Gisela Rodrigues da Silva Sasso, e meus alunos de iniciação científica, Nycole Belote e Rodrigo Barbosa, que estiveram comigo durante toda a pesquisa, dando todo o suporte teórico e prático, que não só me permitiu a aprender, mas também a transmitir e ensinar conhecimentos científicos.

Em especial, agradeço minhas amigas e companheiras, Izabella Lice e Rebeca Correia, que sempre me apoiaram, colaboraram e estiveram comigo durante todos os momentos fáceis e difíceis, durante essa jornada científica e pessoal.

As minhas companheiras (os) e amigos do Laboratório de Ciências Morfológicas e Inflamação da Unifesp, Mab Corrêa, Rafael Silva, Luiz Philipe, Adriana Carbonel, Danilo Lucchi, Maria Eduarda, Henrique Ito, Renata Pereira, e a técnica Katia de Vasconcelos, equipe que colaborou imensamente para a realização do trabalho, com discussões, colaborações e muita competência.

Ao Ibilce, por difundir e promover disciplinas, conteúdos, eventos e todo o suporte necessário para o crescimento intelectual, profissional e científico as (aos) suas (seus) alunas (os).

Agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, pelo meu financiamento para que

conseguisse colocar em prática e desenvolver tudo o que foi proposto a ser desenvolvido no projeto.

Também, agradeço à Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), sob o processo nº 2020/03565-2, pelo financiamento e suporte de projetos colaborativos do grupo de pesquisa, que permitiu o desenvolvimento deste projeto.

Por fim, a todos os amigos, colegas e colaboradores (as) que de alguma maneira permitiram o desenvolvimento do projeto, e consequentente, com o meu desenvolvimento pessoal e profissional.

RESUMO

A galectina-3 (Gal-3) é uma lectina de ligação a β-galactosídeo, que atua como um mediador pleiotrópico com inúmeras funções exercidas intra e extracelularmente, entre outras funções, como aquelas relacionadas à resposta inflamatória, tumorigênese e imunidade inata e adquirida. Diferentes modelos experimentais de hepatotoxicidade mostram um papel essencial da Gal-3 no estresse oxidativo, lesão e fibrose hepática, e nesse sentido, compostos capazes de inibir a expressão de Gal-3 têm sido utilizados como uma possível ferramenta no tratamento de doenças inflamatórias. Assim, avaliamos o efeito da inibição da Gal-3 pela pectina cítrica modificada (MCP) em modelo experimental de toxicidade hepática induzida pela cisplatina. Ratos machos Wistar foram distribuídos em quatro grupos experimentais com n = 6 animais/grupo. Os animais foram tratados via oral (gavagem) com salina (grupos SHAM e CIS) ou MCP (100 mg/kg/dia) (grupos MCP e MCP+CIS) por 7 dias. Após este período, os animais receberam por injeção intraperitoneal cisplatina (10 mg/kg/dia) ou salina por 3 dias. Após 6 horas da última dose de cisplatina, os animais foram eutanasiados para coleta de sangue e fígado. Os animais dos grupos CIS e MCP+CIS apresentaram perda de peso significativa, efeito corroborado pela redução acentuada no armazenamento de glicogênio nos hepatócitos, em comparação com os grupos SHAM e MCP. A cisplatina também produziu um aumento acentuado no influxo de leucócitos no fígado, degeneração hepática com aumento de corpos apoptóticos, níveis de ROS e ativação de STAT3 nos hepatócitos. Sistemicamente, os grupos CIS e MCP+CIS apresentaram aumento nos níveis plasmáticos de IL-6, IL-10, e biomarcadores de toxicidade hepática (ARG1, GSTα, SDH). Os níveis reduzidos de Gal-3 no fígado do grupo MCP+CIS foram associados ao aumento dos níveis de MDA e da expressão do complexo respiratório mitocondrial I. Além disso, o grupo MCP+CIS apresentou níveis plasmáticos aumentados de IL-1β, TNF-α e GOT1. A terapia com MCP antagonizou eficientemente a Gal-9 no fígado, mas não a Gal-1, que apresentou níveis aumentados. Em conclusão, a redução dos níveis endógenos de Gal-3 nos hepatócitos favorece o processo de morte celular e aumento do estresse oxidativo no modelo agudo de toxicidade induzida pela cisplatina.

Palavras-chave: Citocinas. Hepatotoxicidade. Inflamação. Peroxidação lipídica. Mitocôndrias. Pectina cítrica modificada. Espécies reativas de oxigênio.

ABSTRACT

Galectin-3 (Gal-3) is a β-galactoside-binding lectin, which acts as a pleiotropic mediator with numerous functions exerted intra and extracellularly, among other functions such as those related to the inflammatory response, tumorigenesis, and innate and acquired immunity. Different experimental models of hepatotoxicity show an essential role for Gal-3 in oxidative stress, injury, and liver fibrosis, and in this sense, compounds capable of inhibiting Gal-3 expression have been used as a possible tool in the treatment of inflammatory diseases. Thus, we evaluated the effect of Gal-3 inhibition by modified citrus pectin (MCP) in an experimental model of cisplatin-induced liver toxicity. Male Wistar rats were distributed into four experimental groups with n = 6 animals/group. The animals were treated orally (gavage) with saline (SHAM and CIS groups) or MCP (100 mg/kg/day) (MCP and MCP+CIS groups) for 7 days. After this period, the animals received cisplatin (10 mg/kg/day) or saline by intraperitoneal injection for 3 days. Six hours after the last cisplatin dose, the animals were euthanized for blood and liver collection. Animals in the CIS and MCP+CIS groups showed significant weight loss, an effect corroborated by the marked reduction in glycogen storage in hepatocytes, compared to the SHAM and MCP groups. Cisplatin also produced a marked increase in the influx of leukocytes into the liver, hepatic degeneration with an increase in apoptotic bodies, ROS levels and STAT3 activation in hepatocytes. Systemically, the CIS and MCP+CIS groups showed increased plasma levels of IL-6, IL-10, and liver toxicity biomarkers (ARG1, GSTα, SDH). Reduced levels of Gal-3 in the liver of the MCP+CIS group were associated with increased levels of MDA and expression of the mitochondrial respiratory complex I. In addition, the MCP+CIS group showed increased plasma levels of IL-1β, TNF- α and GOT1. MCP therapy efficiently antagonized Gal-9 in the liver, but not Gal-1, which showed increased levels. In conclusion, the reduction of endogenous Gal-3 levels in hepatocytes favors the process of cell death and increased oxidative stress in the acute model of cisplatin-induced toxicity.

Keywords: Cytokines. Hepatotoxicity. Inflammation. Lipid peroxidation. Mitochondria. Modified citrus pectin. Reactive oxygen species.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Estrutura morfológica e histológica do fígado 15

Figura 2 – Estrutura da família das galectinas 20

Figura 3 – Expressão e formação da proteína galectina-3 21

Figura 4 – Esquema representativo da pectina cítrica 24

Figura 5 – Mecanismo de inibição da proteína galectina-3 pela pectina cítrica modificada 25

MANUSCRITO: *Galectin-3 is a key hepatoprotective molecule against the deleterious effect of cisplatin*

Figure 1 – *Experimental model of cisplatin-induced toxicity ……* 33

Figure 2 – *Systemic inflammatory response in the cisplatin-induced acute toxicity model …….....* 39

Figure 3 – *Deleterious effects of cisplatin on the liver ……....* 40

Figure 4 – *pSTAT3 expression in hepatocytes ……* 41

Figure 5 – *Analysis of Gal-3 expression in the liver ……....* 43

Figure 6 – *Analysis of oxidative stress in the liver ……..* 44

Figure 7 – *Analysis of Gal-1 and Gal-9 expressions in the liver ……...* 46

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a.u. Unidades arbitrárias (do inglês, *arbitrary unit*)

ANOVA Análise de variância

ARG1 Arginase-1

ATP Adenosina tri-fosfato

BSA Albumina de soro bovino (do inglês, *bovine serum albumine*)

CIS Cisplatina

CRD Domínio de reconhecimento de carboidrato (do inglês, *carbohydrate recognition domain*)

Gal-1 Galectina-1

Gal-3 Galectina-3

Gal-9 Galectina-9

GH Hormônio do crescimento (do inglês, *growth hormone*)

GOT1 Aspartato aminotransaminase-1

GTSα Glutationa-S-tranferase alfa

H&E Hematoxilina e eosina

H_2O_2 Peróxido de hidrogênio

i.p. Intraperitoneal

IL Interleucina

KCl Cloreto de potássio

LGALS3 Gene codificante da proteína Galectina-3

MCP Pectina cítrica modificada (do inglês, *modified citrus pectin*)

MDA Malondialdeído

MFI Intensidade média de fluorescência (do inglês, *mean fluorescent intensity*)

MIP Proteína inflamatória de macrófago (do inglês, *macrophage inflammatory protein*)

NF-κB Fator nuclear kappa B (do inglês, *factor nuclear kappa B*)

p.o. Via oral

PAS Ácido periódico de Schiff (do inglês, *periodic acid-Schiff*)

PBS Tampão fosfato (do inglês, p*hosphate-buffered saline*)

pSTAT3 Transdutor de sinal e ativador de transcrição 3 fosforilado (do inglês, *phospho-STAT3*)

ROS Espécies reativas de oxigênio (do inglês, *reactive oxygen species*)

SEM Média e desvio padrão (do inglês, *standard error of the mean*)

SDH Sorbitol desidrogenase

STAT3 Transdutor de sinal e ativador de transcrição 3 (do inglês, *signal transducer and activator of transcription 3*)

TNF-α Fator de necrose tumoral alfa (do inglês, *tumor necrosis factor-alpha*)

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
g	Grama
h	Hora
kDa	Quilodalton
kg	Quilograma
mg	Miligrama
mL	Mililitro
mm²	Milímetro quadrado
ng	Nanograma
nm	Nanômetro
ºC	Grau celsius
pg	Picograma
rpm	Rotação por minuto
µL	Microlitro
µm	Micrômetro
µM	Micromolar

SUMÁRIO

PREFÁCIO 12

1. INTRODUÇÃO 13

1.1. Fígado 13

1.2. Cisplatina 17

1.3. As Galectinas 19

1.3.1. Galectina-3 21

1.4. Pectina Cítrica Modificada 24

2. OBJETIVOS 28

2.1. Geral 28

2.2. Específicos 28

3. CAPÍTULO 1 (manuscrito publicado em revista indexada *Life Sciences*) 29

1. Introduction 31

2. Material and Methods 32

3. Results 38

4. Discussion 46

5. Conclusion 49

References 50

4. CONCLUSÃO 56

REFERÊNCIAS 58

ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética para o Uso de Animais 68

ANEXO B – Artigos publicados durante o período de Mestrado 69

ANEXO C – Ata da defesa pública da Dissertação de Mestrado 72

PREFÁCIO

Esta dissertação está sendo apresentada na forma de artigo de revista internacional indexada, intitulado “Galectin-3 is a key hepatoprotective molecule against the deleterious effect of cisplatin”. O referido artigo foi publicado na revista internacional indexada “*Life Sciences*”, com fator de impacto 6.78, da editora Elsevier.

A introdução apresenta uma revisão da literatura sobre os aspectos morfológicos, histológicos e fisiológicos do fígado. Além disso, são apresentados tópicos sobre os efeitos da cisplatina, que causa processos inflamatórios por hepatotoxicidade em altas dosagens, causando extresse oxidativo relacionados a elevação de biomarcadores de lesão hepática e outras transaminases. Em seguida, apresentamos a pectina cítrtica modificada, carboidrato rico em β-galactosídeos e que atua como inibidor da proteína galectina-3. Na sequência, são apresentados o objetivo geral e específicos do trabalho. O artigo está incluído em inglês, seguindo as normas de formatação recomendada pela referida revista e, por último, as conclusões em português.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Fígado

O fígado (Figura 1A) é o maior órgão e glândula interna do corpo, com peso aproximado de 1,5 kg, representando quase 2,5% do peso corporal de um humano adulto (ROSS; PAWLINA, 2006). Localizado na cavidade abdominal, é protegido pela caixa torácica, e é envolvido pela capsula de Glisson, constituída principalmente de tecido conjuntivo fibroso, que também é revestida pelo peritônio visceral, que se adere ao diafragma e a outros órgãos (ROSS; PAWLINA, 2006).

Anatomicamente, o fígado é dividido em quatro lobos (direito, esquerdo, quadrado e caudado) (ROSS; PAWLINA, 2006). É um órgão responsável pela captação, armazenamento e distribuição de nutrientes, vitaminas, e proteínas plasmáticas, como albuminas, lipoproteínas, glicoproteínas, protrombinas, fibrinogênio, α-globulinas e β-globulinas, provenientes da corrente sanguínea (MANCO; ITZKOVITZ, 2021). Além disso, atua também como glândula exócrina e endócrina, produzindo a secreção biliar e também modificando ação de hormônios, como a tiroxina, GH, insulina e glucagon (TREFTS; GANNON; WASSERMAN, 2017). Também possui função de regularizar a homeostase corporal, no fornecimento e armazenamento de substâncias, metabolizando proteínas, carboidratos e lipídeos, e excretando o ferro e cobre oriundos da degradação de hemácias. A atuação na metabolização de fármacos e toxinas é imprescindível, principalmente por ser o primeiro a receber metabólitos e nutrientes (TREFTS; GANNON; WASSERMAN, 2017).

Histologicamente, é possível observar no fígado uma arquitetura específica em seu tecido parenquimatoso, havendo agrupamento de vasos de médio calibre localizados na periferia do lóbulo hepático (Figura 1B), como ramos da artéria e veia hepática, e de ductos biliares, que constituem a tríade portal (Figura 1C). Já ao centro do lóbulo, é possível observar a veia centrolobular (MANCO; ITZKOVITZ, 2021). Os lóbulos hepáticos são constituídos de cordões de hepatócitos (unidade funcional do fígado), intercalados de capilares sinusoides (Figura 1D). Esses capilares são compostos de células endoteliais (Figura 1E) que exibem grandes aberturas em seu citoplasma, vários poros ou fenestras desprovidas de diafragma em sua membrana, e são separadas umas das outras por lacunas intercelulares amplas que proporcionam a troca de substâncias entre o sangue e as células

hepáticas, e levam o sangue rico em gás carbônico e metabólitos a veia centrolubular, onde posteriormente desembocam na veia cava inferior (ROSS; PAWLINA, 2006). Essa intimidade física facilita duas funções centrais do fígado em seu papel de filtro hematológico vital: a produção de proteínas do plasma sanguíneo e a concomitante captação endocítica de lipídios, fatores de crescimento e outros agentes tróficos pelos hepatócitos (SCHULZE; SCHOTT; CASEY; TUMA *et al.*, 2019). Embora essencial, essa excepcional capacidade de purificação coloca o fígado em risco, tornando-o altamente suscetível a danos decorrentes da exposição excessiva a gordura, álcool, drogas e outras toxinas, bem como a uma série de patógenos, como o vírus da hepatite (SCHULZE; SCHOTT; CASEY; TUMA *et al.*, 2019).

Os hepatócitos (Figura 1C e E) são células poligonais que constituem aproximadamente 80% da população celular do fígado (MANCO; ITZKOVITZ, 2021; WANG; LIANG; GRAVOT; THORLING *et al.*, 2017). Como toda célula epitelial, os hepatócitos possuem domínios de membrana plasmática apical (canalicular) e basolateral (sinusoidal) compostos por proteínas de superfície, canais e distintos receptores. Dentro do domínio sinusoidal possui diferentes receptores tirosina quinases, como o receptor EGF (fator de crescimento epidérmico), os principais receptores de eliminação de lipídios e ferro, como o receptor de lipoproteína de baixa densidade (LDLR) e o receptor de transferrina (TfR), bem como numerosos ácidos biliares transportadores de captação. No domínio canalicular, predominam os transportadores de cassete de ligação ao ATP (*ATP-binding cassette*) e de efluxo de ácidos biliares (SCHULZE; SCHOTT; CASEY; TUMA *et al.*, 2019). Os hepatócitos também armazenam glicogênio, gotículas lipídicas, e por apresentarem alta atividade metabólica, são abundantes em organelas citoplasmáticas, tais como mitocôndrias, retículo endoplasmático liso e rugoso, complexo de Golgi e peroxissomos (SCHULZE; SCHOTT; CASEY; TUMA *et al.*, 2019). Considerando que estas células são chaves na execução das funções do fígado, elas podem sofrer danos por diversas vias e as organelas intracelulares podem fazer parte da célula disfuncional, com alterações que incluem dano mitocondrial por sobrecarga de ácidos graxos livres e β-oxidação insuficiente, bem como ativação do metabolismo peroxissomal (DI CIAULA; CALAMITA; SHANMUGAM; KHALIL *et al.*, 2021).

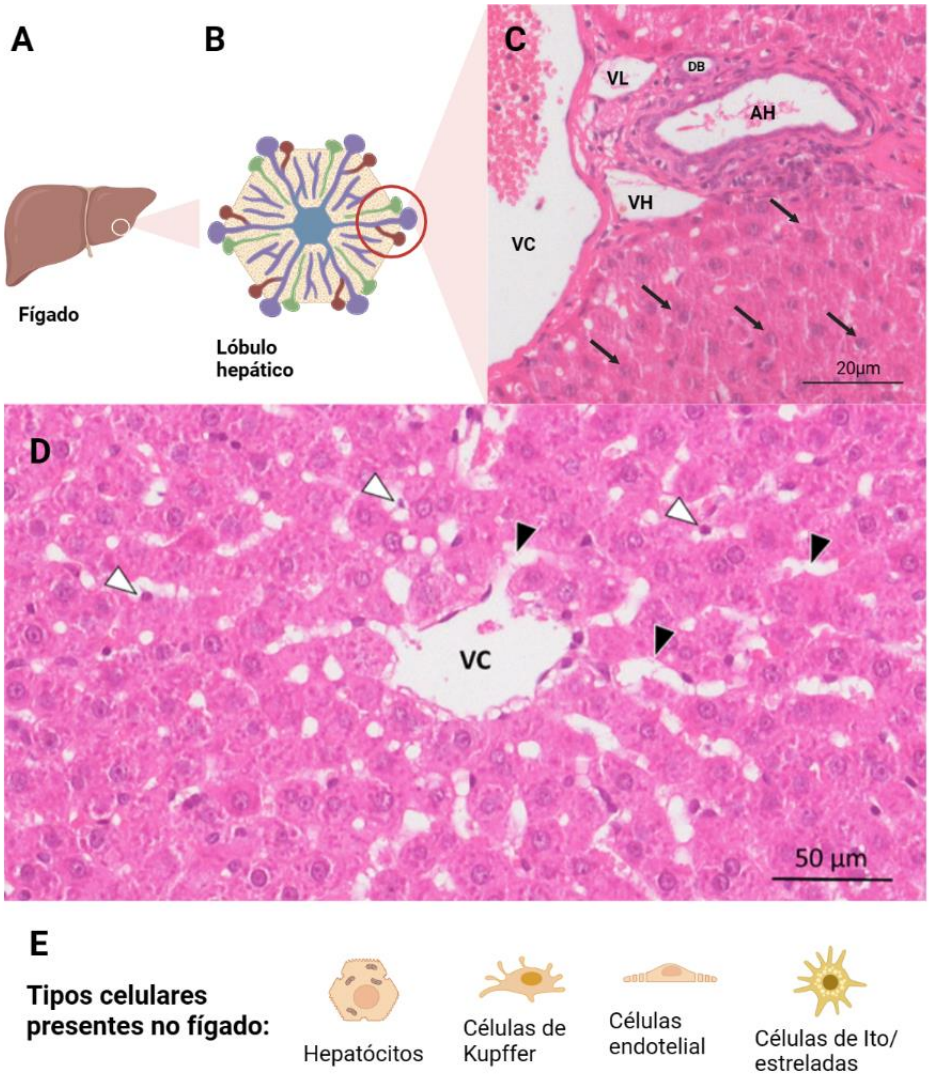


Figura 1. Estrutura morfológica e histológica do fígado. Esquema geral do fígado (A) e de um lóbulo hepático (B), destacando os elementos da tríade portal a nível histológico (C). Sinusóides hepáticos (cabeças de seta pretas) percorrem e separam os cordões de hepatócitos, bem como as células de Kupffer ou macrófagos sinusoidais estrelados (cabeças de seta brancas) são observadas em associação às células endoteliais dos sinusoides (D). Além dos hepatócitos (setas pretas), o fígado também é povoado por células de Kupffer, células endoteliais que revestem seus capilares sinusoides e células de Ito (C e E). **Abreviações: AH:** ramo da artéria hepática; **VL:** vaso linfático**; VH:** ramo da veia hepática; **VC:** veia centrolobular. **Coloração:** hematoxilina e eosina. Figura autoral (2023).

Além dos hepatócitos, outros tipos celulares estão presentes no fígado, como as células de Kupffer (Figura 1C e D), que representam os macrófagos residentes do fígado e componentes do sistema fagocítico mononuclear (ELCHANINOV; VISHNYAKOVA; MENYAILO; SUKHIKH *et al.*, 2022); e também células estreladas hepáticas (células de Ito) (Figura 1E), uma população de células mesenquimais que constitui 5-10% do número total de células no fígado (KHOMICH; IVANOV; BARTOSCH, 2019).

As células de Kupffer apresentam importante função de barreira, impedindo que patógenos e seus subprodutos tóxicos (por exemplo, endotoxinas) entrem na circulação sistêmica (ELCHANINOV; VISHNYAKOVA; MENYAILO; SUKHIKH *et al.*, 2022). Estima-se que estas células constituam 30-35% da população de células hepáticas e estão tipicamente localizadas dentro do lúmen dos capilares sinusoidais aderentes ao endotélio, o que lhes fornece acesso imediato a agentes estranhos imunogênicos que chegam com a circulação portal (PROTZER; MAINI; KNOLLE, 2012). As células de Kupffer também participam do metabolismo de proteínas e lipídios, bem como da eliminação de células apoptóticas da circulação (ELCHANINOV; VISHNYAKOVA; MENYAILO; SUKHIKH *et al.*, 2022).

As células estreladas hepáticas estão localizadas no espaço perissinusoidal (espaço de Disse) e são circundadas por hepatócitos e células endoteliais sinusoidais (KHOMICH; IVANOV; BARTOSCH, 2019). Suas principais funções são secreção de componentes da lâmina basal (laminina, proteoglicanos e colágeno tipo IV) e armazenamento de retinoides (vitamina A) no citoplasma em gotículas lipídicas (PUCHE; SAIMAN; FRIEDMAN, 2013). Uma vez ativadas, as células estreladas perdem a capacidade de armazenar retinoides e mudam seu fenótipo para proliferar, contrair e regular positivamente a síntese de componentes da matriz extracelular, metaloproteinases, citocinas pró-fibrogênicas, fatores de crescimento e proteínas morfogenéticas, que por sua vez regulam e afetam a arquitetura do tecido (KHOMICH; IVANOV; BARTOSCH, 2019).

Algumas doenças são capazes de afetar o fígado, causando processos inflamatórios de forma aguda ou crônica, onde o dano causado ao fígado pode ser progressivo, levando a deterioração da função hepática, podendo resultar em doença ou a insuficiência hepática (KANEL; KORULA, 2010). A lesão aguda pode ser evidenciada através do aumento de transaminases séricas, mostrando o grau

inflamatório do tecido, pela deposição de gordura nos hepatócitos, bem como necrose e inflamação, detalhes característicos em fígados que sofrem por toxicidade induzida por drogas (KANEL; KORULA, 2010).

Algumas proteínas presentes na corrente sanguínea podem atuar como biomarcadores da lesão hepática, tais como o sorbitol desidrogenase (SDH), enzima citosólica envolvida no metabolismo de carboidratos que converte sorbitol em frutose (UMBAUGH; JAESCHKE, 2021); a glutationa-S-transferase alfa (GTSα) que atua no metabolismo e desintoxicação de metabólitos reativos, como N-acetil-p-benzo-quinona imina (NAPQI) (CHURCH; KULLAK-UBLICK; AUBRECHT; BONKOVSKY *et al.*, 2019; UMBAUGH; JAESCHKE, 2021); a arginase-1 (ARG1), enzima hidrolase que catalisa a hidrólise da arginina em ureia e ortinina (BAILEY; HOLDER; PATEL; DEVLIN *et al.*, 2012; CHURCH; KULLAK-UBLICK; AUBRECHT; BONKOVSKY *et al.*, 2019); e o aspartato aminotransferase (GOT1), proteína envolvida no processo de transferência de redutores na forma de NADH do citosol para a mitocôndria, facilitando o processo de fosforilação oxidativa (KREMER; NELSON; LIN; YAROSZ *et al.*, 2021). Esses biomarcadores são comumente avaliados para diagnóstico e alterações em seus níveis plasmáticos são sugestivos de lesão hepática (CHURCH; KULLAK-UBLICK; AUBRECHT; BONKOVSKY *et al.*, 2019).

1.2. Cisplatina

A cisplatina (cis-diaminodicloroplatina(II)), também conhecida como cloreto de Peyrone desde o final do século XIX (em homenagem a Michele Peyrone, responsável pela sua primeira síntese), é um agente quimioterápico utilizado para o tratamento de uma ampla variedade de tumores, como o testicular, ovariano, de bexiga, cabeça e pescoço, esôfago, pulmão, mama, colo do útero, estômago e próstata, bem como linfomas de Hodgkin e não Hodgkin, neuroblastoma, sarcomas, mieloma múltiplo, melanoma, e mesotelioma (ABUZINADAH; AHMAD, 2020; CALLEJO; SEDÓ-CABEZÓN; JUAN; LLORENS, 2015; CORADINI; CIGANA; SELISTRE; ROSITO *et al.*, 2007; DILRUBA; KALAYDA, 2016; FLOREA; BÜSSELBERG, 2011; GHOSH, 2019). Intracelularmente, esta droga atua fazendo ligações covalentes entre os átomos de platina nas bases purinas do DNA, particularmente nos resíduos de guanosina e adenosina, realizando cruzamento inter/intra-cadeias, inibindo a divisão celular nas fases G1, S ou G2-M e causando

danos diretos ao DNA, e consequentemente, induzindo morte celular das células tumorais por vias apoptóticas e não apoptóticas (ABUZINADAH; AHMAD, 2020; CORADINI; CIGANA; SELISTRE; ROSITO *et al.*, 2007; DILRUBA; KALAYDA, 2016; FLOREA; BÜSSELBERG, 2011). Em relação às vias apoptóticas, elas podem ser extrínsicas por meio do aumento da produção do ligante indutor de apoptose relacionado ao fator de necrose tumoral (TRAIL) pelas células imunes, ou intrínsecas envolvendo a proteína supressora de tumor p53 ou mediado pela proteína p73 associada à p53 (FLOREA; BÜSSELBERG, 2011).

A resposta terapêutica inicial com cisplatina muitas vezes leva a uma remissão completa da doença, resposta parcial ou estabilização da doença. No entanto, a terapia com cisplatina está associada também com efeitos adversos graves incluindo nefro e hepatotoxicidade dose-limitante, neuropatia sensorial periférica cumulativa, ototoxicidade devido a dano irreversível das células pilosas no órgão de Corti, bem como náuseas e vômitos (DILRUBA; KALAYDA, 2016; PINGILI; PAWAR; CHALLA; KODALI *et al.*, 2019).

Os efeitos hepatotóxicos da cisplatina são causados principalmente pela ativação da cascata do estresse oxidativo, com elevação de transaminases e da bilirrubina na circulação (PINGILI; PAWAR; CHALLA; KODALI *et al.*, 2019; POWIS, 1982; UN; UGAN; KOSE; BAYIR *et al.*, 2020). Os níveis de glutationa e glutationa redutase diminuem significativamente, enquanto a glutationa peroxidase, a catalase e a gama-glutamil transpeptidase apresentam aumento significativo após terapia com cisplatina (FLOREA; BÜSSELBERG, 2011). Também é relatado que o tratamento com cisplatina pode aumentar o nível do citocromo P450 e a enzima citocromo P450-2E1 também é responsável pela lesão hepática (CARO; CEDERBAUM, 2004; FLOREA; BÜSSELBERG, 2011).

A cisplatina induz estresse oxidativo pela formação de espécies reativas de oxigênio (ROS), que diminui a capacidade redox da célula, aumenta a quantidade de radicais hidroxila e superóxido que dependem da concentração da cisplatina e do tempo de exposição (BROZOVIC; AMBRIOVIĆ-RISTOV; OSMAK, 2010). A produção de ROS está associada com a indução da peroxidação lipídica, depleção de grupos sulfidrila, alteração de diferentes vias de transdução de sinal, homeostase do cálcio, entre outras ações, que podem causar danos ao DNA e, consequentemente, apoptose de células (FLOREA; BÜSSELBERG, 2011). Havendo

a formação e o acúmulo de dano oxidativo causado por ROS, a função respiratória mitocondrial pode ser afetada, causando disfunção celular (BROZOVIC; AMBRIOVIĆ-RISTOV; OSMAK, 2010).

A alteração da função mitocondrial compromete também o equilíbrio pró-oxidante/antioxidante, com aumento de ácidos graxos não metabolizados no citosol como consequência do bloqueio da β-oxidação dos ácidos graxos e consequente estimulação da produção de ROS (BEGRICHE; MASSART; ROBIN; BONNET *et al.*, 2013; MASARONE; ROSATO; DALLIO; GRAVINA *et al.*, 2018). As disfunções mitocondriais são frequentemente acompanhadas por alterações ultraestruturais consideráveis, como megamitocôndrias, perda de cristas e formação de corpos de inclusão paracristalinos na matriz mitocondrial (SEKI; KITADA; YAMADA; SAKAGUCHI *et al.*, 2002).

1.3. As Galectinas

As galectinas, representantes das lectinas tipo S, são caracterizadas pela sua afinidade aos β-galactosídeos pela conservação evolutiva de uma sequência conservada de 130 aminoácidos no domínio reconhecedor de carboidrato – CRD (LEFFLER; CARLSSON; HEDLUND; QIAN *et al.*, 2002; SANJURJO; BROEKHUIZEN; KOENEN; THIJSSEN, 2022). Embora as galectinas possam se ligar a uma ampla gama de glicanos (polissacarídeos), cada galectina tem uma preferência diferente que contribui para suas atividades biológicas específicas (HIRABAYASHI; HASHIDATE; ARATA; NISHI *et al.*, 2002). Ao mesmo tempo, como seus glicanos ligantes são encontrados em muitos tipos de células e diferentes galectinas podem se ligar aos mesmos ligantes, elas podem apresentar atividade pleiotrópica e redundante, semelhante às citocinas (SANJURJO; BROEKHUIZEN; KOENEN; THIJSSEN, 2022).

Em mamíferos, 15 membros dessa família foram descritos e clonados (LIU; RABINOVICH, 2010). Com base na organização estrutural, as galectinas são classificadas em três subfamílias: prototípicas, quiméricas e do tipo repetições em sequência (*tandem-repeats*). As galectinas prototípicas (galectinas-1, -2, -5, -7, -10, -11, -13, -14, e -15) são compostas por um único tipo de CRD (~15 kDa) e podem se dimerizar, formando homodímeros com dois CRDs idênticos (~30 kDa) (Figura 2A). As *tandem-repeats* (galectinas-4, -6, -8, -9 e -12) apresentam dois CRDs distintos

conectados por uma região de ligação com 50-70 aminoácidos (Figura 2B). A terceira subfamília quimérica tem como único representante a galectina-3 (~30 kDa) e possui um CRD e um domínio aminoterminal rico em resíduos de prolina, glicina e tirosina (Figura 2C), além de seu potencial de oligomerização a partir da porção N-terminal (Figura 3).

As galectinas não possuem uma sequência-sinal clássica e podem ser secretadas por mecanismos pouco conhecidos (DELACOUR; KOCH; JACOB, 2009; HUGHES, 1997). São encontradas no citoplasma e no núcleo, mas também no meio extracelular e na superfície celular. Atuando no meio extracelular por meio da ligação a glicoproteínas ou glicolipídios, as galectinas desencadeiam vias de sinalização intracelulares e regulam interações célula-célula e célula-matriz extracelular (PERILLO; MARCUS; BAUM, 1998; VASTA; AHMED; NITA-LAZAR; BANERJEE *et al.*, 2012). Várias funções são atribuídas a essas proteínas, que incluem: adesão celular, regulação do crescimento celular, embriogênese, metástase, splicing do pré-RNAm, imunomodulação, inflamação e apoptose (COOPER; ILARREGUI; PESOA; CROCI *et al.*, 2010; RABINOVICH; TOSCANO, 2009).

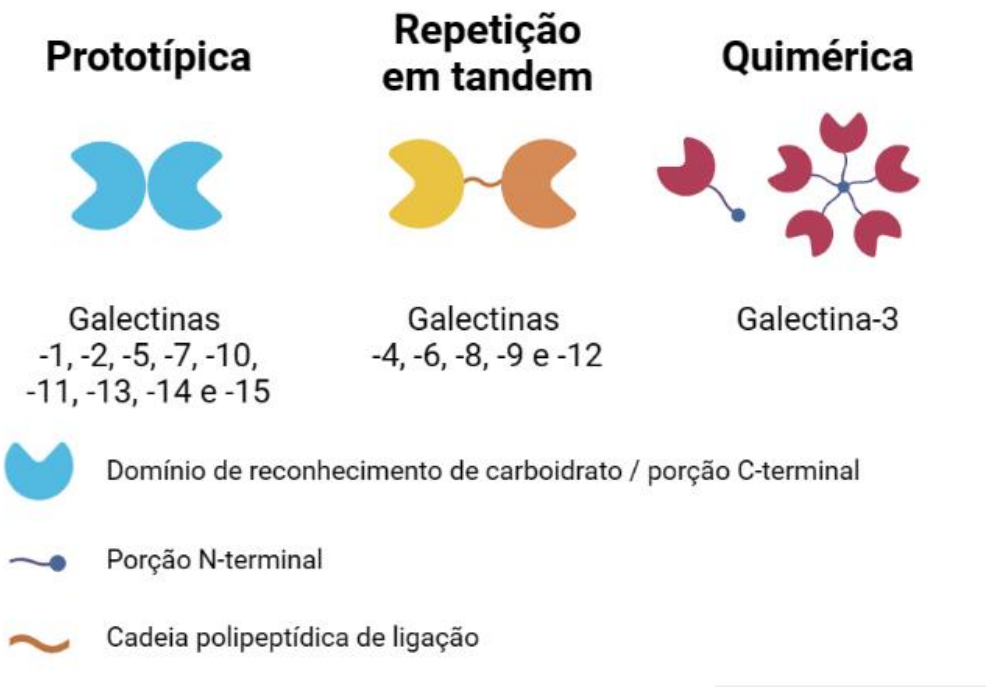


Figura 2. Estrutura da família das galectinas. Representação esquemática das diferentes subfamílias das galectinas: prototípicas (A), do tipo repetição em tandem (B) e quimérica (C). Figura autoral (2022).

1.3.1. Galectina-3

A proteína Gal-3 (Figura 2C e 4), codificada pelo gene *LGALS3* no cromossomo 14 humano, também denominada MAC-2, CBP-35, mL-34, L-29, hL-31, epsilon BP e proteína ligante de IgE, atua como um mediador pleiotrópico com inúmeras funções exercidas intra e extracelularmente (RADOSAVLJEVIC; VOLAREVIC; JOVANOVIC; MILOVANOVIC *et al.*, 2012). A expressão endógena dessa proteína foi observada em vários tipos celulares, especialmente nas relacionadas com a resposta inflamatória, tais como neutrófilos, mastócitos, macrófagos, linfócitos e eosinófilos (ANDRADE; COVRE; RAMOS; HAZARBASSANOV *et al.*, 2018; GE; BAHAIE; KANG; HOSSEINKHANI *et al.*, 2010; GIL; COOPER; ROSIGNOLI; PERRETTI *et al.*, 2006; MARBACK; DE FREITAS; PARANHOS JUNIOR; BELFORT JUNIOR, 2007). Dentre os vários papéis descritos para a Gal-3, destacam-se os relacionados com a resposta inflamatória, tumorigênese, imunidade inata e adquirida (GRUSON; KO, 2012; RADOSAVLJEVIC; VOLAREVIC; JOVANOVIC; MILOVANOVIC *et al.*, 2012).



Figura 3. Expressão e formação da proteína Galectina-3. Esquema representando o gene da Gal-3 (*LGALS3*), sua estrutura primária com um CRD e região N-terminal por onde pode sofrer oligomerização, formando um pentâmero. Figura autoral (2022).

Nos processos inflamatórios a Gal-3 atua na maioria das vezes como uma citocina pró-inflamatória, ativando os mastócitos e os basófilos (ZUBERI; FRIGERI; LIU, 1994), participando no processo de migração dos eosinófilos (GE; HA; LIU; RAO *et al.*, 2013; RAO; WANG; ZUBERI; SIKORA *et al.*, 2007), induzindo a liberação de citocinas pelos monócitos (JENG; FRIGERI; LIU, 1994), a quimiotaxia (SANO; HSU; YU; APGAR *et al.*, 2000) e o processo de fagocitose dos macrófagos *in vitro* (SANO; HSU; APGAR; YU *et al.*, 2003).

Estudos *in vivo*, utilizando modelo experimental de peritonite em camundongos nocautes para Gal-3, mostraram que após injeção intraperitonial de tioglicolato a migração de leucócitos reduziu significantemente para a cavidade peritoneal em relação aos animais selvagens, demonstrando o importante papel dessa proteína no recrutamento dos leucócitos (COLNOT; RIPOCHE; MILON; MONTAGUTELLI *et al.*, 1998; HSU; YANG; PAN; YU *et al.*, 2000). Portanto, a proteína Gal-3 pode interferir positivamente no recrutamento dos leucócitos da circulação sanguínea para os locais de inflamação.

É importante destacar que a Gal-3 pode apresentar papeis pró ou anti-apoptótico dependendo de sua localização (intra ou extracelular), estado de ativação e do tipo celular estudado (FERNÁNDEZ; ILARREGUI; RUBEL; TOSCANO *et al.*, 2005; HSU; YANG; PAN; YU *et al.*, 2000; WANG; GRAY; HAUDEK; PATTERSON, 2004). A atividade anti-apoptótica dessa proteína ocorre no compartimento intracelular (WANG; GRAY; HAUDEK; PATTERSON, 2004), ao contrário do efeito pró-apoptótico realizado pela proteína exógena (FERNÁNDEZ; ILARREGUI; RUBEL; TOSCANO *et al.*, 2005). Essa atividade intracelular está relacionada com a significante similaridade na sequência de aminoácidos da Gal-3 com a proteína Bcl-2, molécula envolvida na inibição da apoptose (AKAHANI; NANGIA-MAKKER; INOHARA; KIM *et al.*, 1997) e na capacidade de regular a integridade da mitocôndria (MATARRESE; FUSCO; TINARI; NATOLI *et al.*, 2000; YU; FINLEY; RAZ; KIM, 2002). Já a atividade extracelular, demonstrada em neutrófilos humanos, está

relacionada com a ativação da cascata de sinalização MAPK pela proteína p38 (FERNÁNDEZ; ILARREGUI; RUBEL; TOSCANO *et al.*, 2005).

Diferentes modelos experimentais de hepatotoxicidade evidenciam um papel importante da Gal-3 nos processos de estresse oxidativo, injúria e fibrose hepática (ABU-ELSAAD; ELKASHEF, 2016; DRAGOMIR; SUN; MISHIN; HALL *et al.*, 2012; IACOBINI; MENINI; RICCI; BLASETTI FANTAUZZI *et al.*, 2011). Um desses estudos mostrou, após administração de acetaminofeno em camundongos, aumento dos níveis de óxido nítrico sintase indusível (iNOS), IL-1β, proteína inflamatória de macrófagos (MIP)-2, MIP-3α, metaloproteinase da matriz-9, bem como do receptor para Gal-3 (CD98) no fígado (DRAGOMIR; SUN; MISHIN; HALL *et al.*, 2012). Já os animais nocautes para Gal-3 mostraram redução significativa desses marcadores pró-inflamatórios, exceto IL-1β, demonstrando que a Gal-3 possui um papel na inflamação e lesão no fígado após intoxicação por acetaminofeno. Por outro lado, estudos mostraram que a Gal-3 tem um papel protetor na hepatite induzida por citomegalovírus murino (MCMV) (STOJANOVIC; MILOVANOVIC; ARSENIJEVIC; STRAZIC GELJIC *et al.*, 2019). Os camundongos nocautes para Gal-3 apresentaram hepatite mais exacerbada em relação aos animais selvagens caracterizada por maior número de focos inflamatórios e necróticos, aumento dos níveis séricos de alanina aminotransaminase, apoptose e necroptose de hepatócitos, e replicação viral. O tratamento com a Gal-3 recombinante reduziu a inflamação, especialmente a necrose dos hepatócitos em camundongos nocautes para Gal-3 infectados com MCMV.

Além da Gal-3, membros de outras subfamílias das galectinas, tais como a Gal-1 e Gal-9, têm sido descritas com papéis importantes na biologia hepática. Estudos mostram que a Gal-1 é essencial para uma regeneração hepática eficiente após hepatectomia parcial por meio da regulação da inflamação hepática, proliferação de células hepáticas e controle do armazenamento de lipídios no fígado em regeneração (POTIKHA; ELLA; CERLIANI; MIZRAHI *et al.*, 2016). Por outro lado, a ausência de Gal-9 exacerba o dano hepatocelular induzido por modelo de isquemia-reperfusão, efeito suprimido pela administração de Gal-9 recombinante (HIRAO; UCHIDA; KADONO; TANAKA *et al.*, 2015).

1.5. Pectina cítrica modificada

As pectinas são polissacarídeos naturais complexos formados por monômeros de ácido galacturônico unidos entre si por ligações glicosídicas, derivadas especialmente das cascas de frutas cítricas (ELIAZ; RAZ, 2019; LECLERE; CUTSEM; MICHIELS, 2013). As pectinas são moléculas grandes (60-300 kDa) e possuem três regiões centrais de polissacarídeos pécticos: homogalacturonano (HG; 65% da composição da molécula), ramnogalacturonano-I (RG-I; 20-35% da composição) e galacturonanos substituídos (GS) (Figura 4) (LATTIMER; HAUB, 2010; LECLERE; CUTSEM; MICHIELS, 2013). Entre os GS, encontra-se o ramnogalacturonano-II (RG-II), distinto do RG-I. O RG-II tem quatro tipos de cadeias de oligossacarídeos estruturalmente diferentes e compostas por 12 tipos de resíduos glicosídicos. Em humanos, devido à sua composição, a pectina atua como uma fibra dietética, não sendo digerida enzimaticamente no intestino delgado, mas pode ser degradada pela microbiota do cólon (LATTIMER; HAUB, 2010). Ela mantém sua ação gelificante no trato digestivo, de modo que retarda a digestão (LATTIMER; HAUB, 2010).

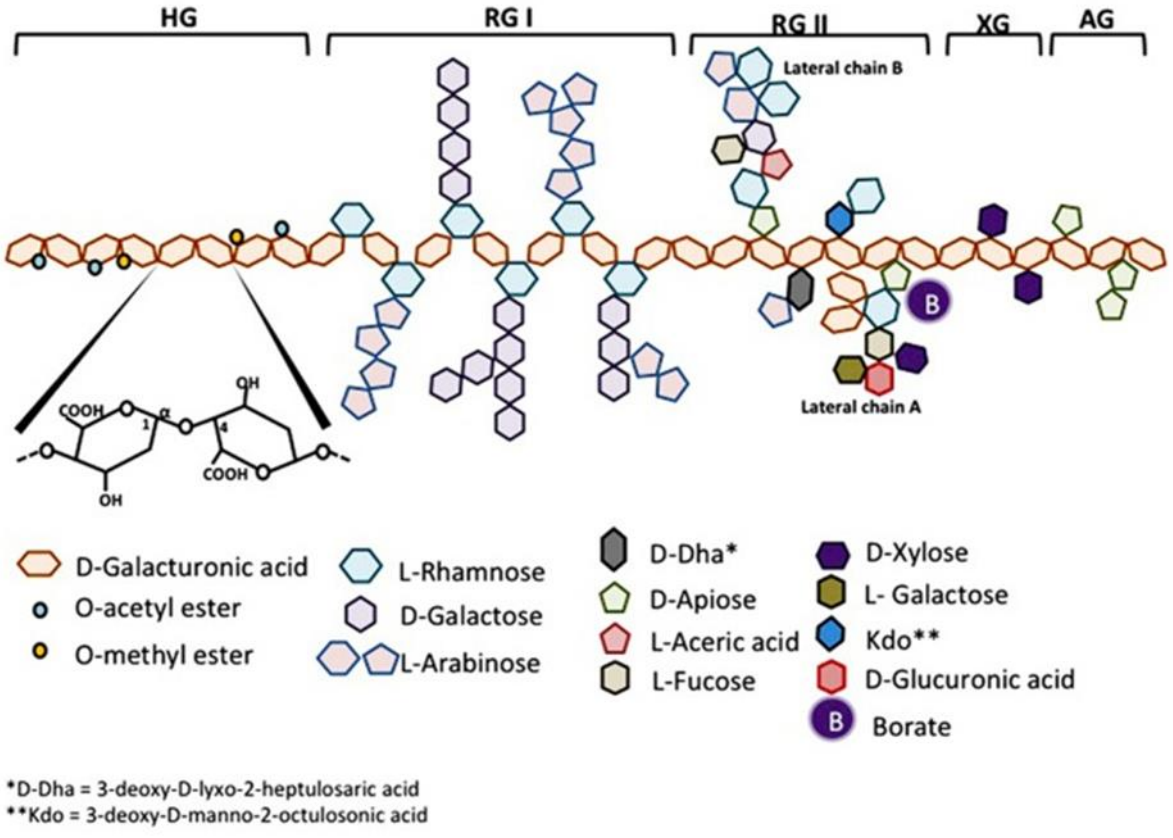


Figura 4. Esquema representativo da pectina. Polímero formado por monômeros de ácido galacturônico unidos entre si por ligações glicosídicas. **AG**, arabinogalactano; **HG**, homogalacturonano; **RG**, ramnogalacturonano; **XG**, xilogalacturonano. Figura retirada de (LECLERE; CUTSEM; MICHIELS, 2013).

Entretanto, a pectina cítrica pode sobrer modificações, tornando-se a pectina cítrica modificada (MCP). Este processo ocorre a partir de alterações de pH e reação enzimática, causando despolimerização da estrutura polissacarídica e desesterificação das regiões HG, clivagem de açúcares neutros, regiões ramificadas e remoção de resíduos de arabinose, formando assim uma molécula com baixo peso molecular (15 kDa) (LECLERE; CUTSEM; MICHIELS, 2013). Com isso, a MCP pode ser absorvida pelo epitélio intestinal e prosseguir para a corrente sanguínea (ELIAZ; RAZ, 2019; LECLERE; CUTSEM; MICHIELS, 2013).

A MCP vem sendo utilizada como tratamento preventivo de doenças cardiovasculares, renais, hepáticas, tumores e até mesmo no tratamento funcional contra a obesidade (ELIAZ; RAZ, 2019; LECLERE; CUTSEM; MICHIELS, 2013). O Pectasol-C, uma forma de MCP, tem peso molecular entre 5 e 10 kDa e é comercializado como um suplemento de saúde natural e vários estudos relatam também sua capacidade de inibir a progressão do câncer, inflamação e fibrose (ELIAZ; HOTCHKISS; FISHMAN; RODE, 2006).

Muitas destas ações protetoras da MCP estão relacionadas com sua capacidade de antagonizar a ação da proteína Gal-3, por ser uma molécula rica em resíduos β-galactosídeos que tem alta afinidade pelo CRD desta lectina (Figura 5). Assim, a MCP pode regular a bioatividade da Gal-3 no meio intra e extracelular, e consequentemente suas ações pró-inflamatória, fibrótica e metastática, atuando como um fator de proteção para doenças cardiovasculares, renais, hepáticas e diferentes tipos de tumores (DONG; ZHANG; HU; ZHENG *et al.*, 2018; ELIAZ; RAZ, 2019).

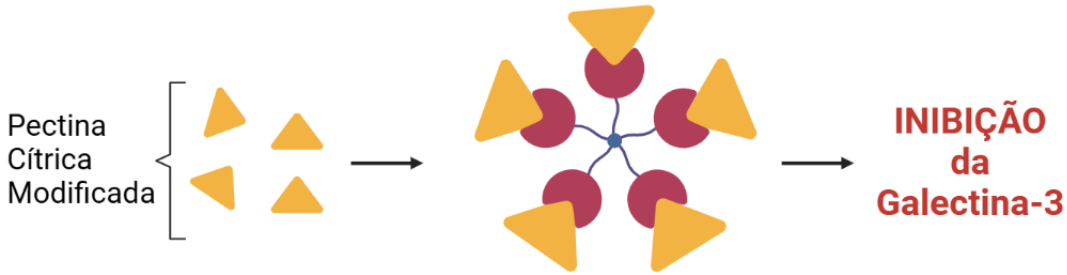


Figura 5. Mecanismo de inibição da proteína galectina-3 pela pectina cítrica modificada. Figura autoral (2022).

A administração de MCP em modelos experimentais de tumorigênese *in vivo* e *in vitro*, envolvendo tumores de bexiga urinária (FANG; LIU; NING; DAN LIU *et al.*, 2018), cólon (LIU; HUANG; YANG; LU *et al.*, 2008), ovário (HOSSEIN; HALVAEI; HEIDARIAN; DEHGHANI-GHOBADI *et al.*, 2019; HOSSEIN; KESHAVARZ; AHMADI; NADERI, 2013; WANG; LI; YU; ZHANG *et al.*, 2020), pele (INOHARA; RAZ, 1994), próstata (CONTI; VEXLER; HAGOEL; KALICH-PHILOSOPH *et al.*, 2018; PIENTA; NAIK; AKHTAR; YAMAZAKI *et al.*, 1995) e tireoide (MENACHEM; BODNER; PASTOR; RAZ *et al.*, 2015), evidenciaram a ação inibitória deste composto via Gal-3 nos processos de metástase e proliferação celular. Além disso, a segurança e eficácia da terapia com MCP (Pectasol-C) foi demonstrada em estudo prospectivo de fase II em pacientes com câncer de próstata não metastático com base nos níveis do antígeno prostático específico (PSA) (KEIZMAN; FRENKEL; PEER; KUSHNIR *et al.*, 2021). Os pacientes (n = 59) receberam 4,8 gramas de MCP em cápsulas 3 x ao dia, por seis meses. Após seis meses, 78% responderam à terapia, com PSA diminuído/estável em 58% (n = 34), ou melhora de duplicação do PSA em 75% (n = 44). A progressão da doença durante os primeiros 6 meses foi observada em apenas 22% (n = 13), com progressão do PSA em 17% (n = 10) e PSA e progressão radiológica em 5% (n = 3). Nenhum paciente desenvolveu toxicidade de grau 3 ou 4.

Outro ensaio clínico examinou a eficácia do bloqueio da Gal-3 com Pectasol-C em pacientes que sofrem de osteoartrite (OA) de joelho (ANDREWS; FERNANDES; BROWNMILLER; HANNA *et al.*, 2020). Os pacientes (n = 50) foram randomizados para receber MCP ou placebo (n = 25/cada) na dose de 4 g em cápsulas duas vezes ao dia por 12 semanas. Os pacientes de ambos os grupos apresentaram características basais semelhantes quanto à gravidade da OA, níveis séricos de Gal-3 e controle da dor, indicando que a terapia de 12 semanas com MCP não melhorou significativamente a doença em comparação com o placebo.

Já estudos relacionados com a fibrose miocárdica mostram que o tratamento com a MCP melhora a disfunção cardíaca, inibindo efeitos inflamatórios que ocorrem por meio da regulação negativa da expressão de Gal-3, e pela supressão da

ativação da via de sinalização TLR4/MyD88/NF-κB (XU; ZHANG; YANG; SUN *et al.*, 2020). Também, estudos pré-clinicos relacionados com a progressão da fibrose hepática induzida por tetracloreto de carbono em ratos, mostraram que a terapia com MCP atenua esse processo (ABU-ELSAAD; ELKASHEF, 2016). O tratamento com MCP nas doses de 400 ou 1200 mg/dia atenuaram a fibrose hepática por meio de efeito antioxidante (redução dos níveis de malondialdeído), da inibição de ativação de células estreladas hepáticas mediada por Gal-3 e indução de apoptose (ABU-ELSAAD; ELKASHEF, 2016).

Nesse sentido, estratégias terapêuticas que visem a inibição das ações deletérias da Gal-3, e possível modulação de Gal-1 e Gal-9, tais como o uso da MCP, são promissoras e têm sido mostradas na literatura em diferentes modelos experimentais de obesidade (MARTÍNEZ-MARTÍNEZ; CALVIER; ROSSIGNOL; ROUSSEAU *et al.*, 2016; MARTÍNEZ-MARTÍNEZ; LÓPEZ-ÁNDRES; JURADO-LÓPEZ; ROUSSEAU *et al.*, 2015), hipertensão (IBARROLA; MARTÍNEZ-MARTÍNEZ; SÁDABA; ARRIETA *et al.*, 2017; MARTÍNEZ-MARTÍNEZ; CALVIER; FERNÁNDEZ-CELIS; ROUSSEAU *et al.*, 2015; MARTÍNEZ-MARTÍNEZ; IBARROLA; FERNÁNDEZ-CELIS; CALVIER *et al.*, 2018), fibrose cardiorrenal e hepática (ABU-ELSAAD; ELKASHEF, 2016; CALVIER; MARTINEZ-MARTINEZ; MIANA; CACHOFEIRO *et al.*, 2015; KOLATSI-JOANNOU; PRICE; WINYARD; LONG, 2011), em especial na toxicidade induzida pela cisplatina (LI; YANG; LI; FENG, 2018). Neste último estudo, as análises de creatinina sérica e histológicas mostraram que o pré-tratamento dos camundongos com MCP a 1% diluída em água aumentou a função renal e atenuou a fibrose renal após lesão induzida por cisplatina. Além disso, o papel protetor da inibição de Gal-3 na lesão renal foi mediado pela proteína quinase C-α (PKC-α), que promoveu apoptose celular e síntese de colágeno I pelas células epiteliais humnas renais da linhagem HEK293.

Apesar de vários estudos contribuírem para a compreensão do papel da Gal-3 na inflamação e lesão hepática, os mecanismos moleculares pelos quais essa proteína modula as respostas celulares, particularmente na toxicidade hepática induzida pela cisplatina, ainda não são conhecidos.

4. CONCLUSÃO

Os resultados deste trabalho mostram que o modelo experimental de toxicidade hepática induzida pela cisplatina:

1. Altera o perfil leucocitário evidenciado pelo aumento e diminuição significativos da proporção de neutrófilos e linfócitos, respectivamente, nos grupos CIS e MCP+CIS;
2. Induz resposta inflamatória sistêmica e hepatotoxicidade evidenciadas pelo aumento significativo dos níveis plasmáticos de IL-6, IL-10, ARG1, GTSα e SDH nos grupos CIS e MCP+CIS;
3. Induz alteração morfológica hepática caracterizada por desorganização e degeneração dos cordões de hepatócitos, com aumento dos corpos apoptóticos, influxo de leucócitos, bem como redução do armazenamento de glicogênio nos hepatócitos após administração da cisplatina;
4. Aumenta a ativação da STAT3 produção de ROS nos hepatócitos dos grupos CIS e MCP+CIS;
5. Reduz a expressão de Gal-3 nos hepatócitos, especialmente nas mitocôndrias;

Além dos efeitos acima, o tratamento com a MCP no modelo experimental de toxicidade hepática induzida pela cisplatina:

6. Exacerba a resposta inflamatória sistêmica e hepatotoxicidade pelo aumento dos níveis plasmáticos de IL-1β, TNF-α e GOT1 no grupo MCP+CIS;
7. Reduz os níveis hepáticos totais de Gal-3 no fígado nos grupos MCP e MCP+CIS;
8. Causa um desbalanço na respiração mitocondrial pelo aumento da expressão do complexo enzimático I no grupo MCP+CIS;
9. Aumenta os níveis de MDA no fígado, evidenciando ativação do processo de peroxidação lipídica;
10. Aumenta os níveis hepáticos totais de Gal-1 e reduz os de Gal-9 nos grupos MCP e MCP+CIS.

Por fim, nossos achados revelaram que Gal-3 é um agente hepatoprotetor chave contra os efeitos deletérios da cisplatina (Figura 7). Além disso, a terapia com

MCP antagoniza eficientemente Gal-3 e Gal-9 no fígado, uma nova descoberta que terá utilidade em estudos futuros que buscam direcionar os efeitos da Gal-9.

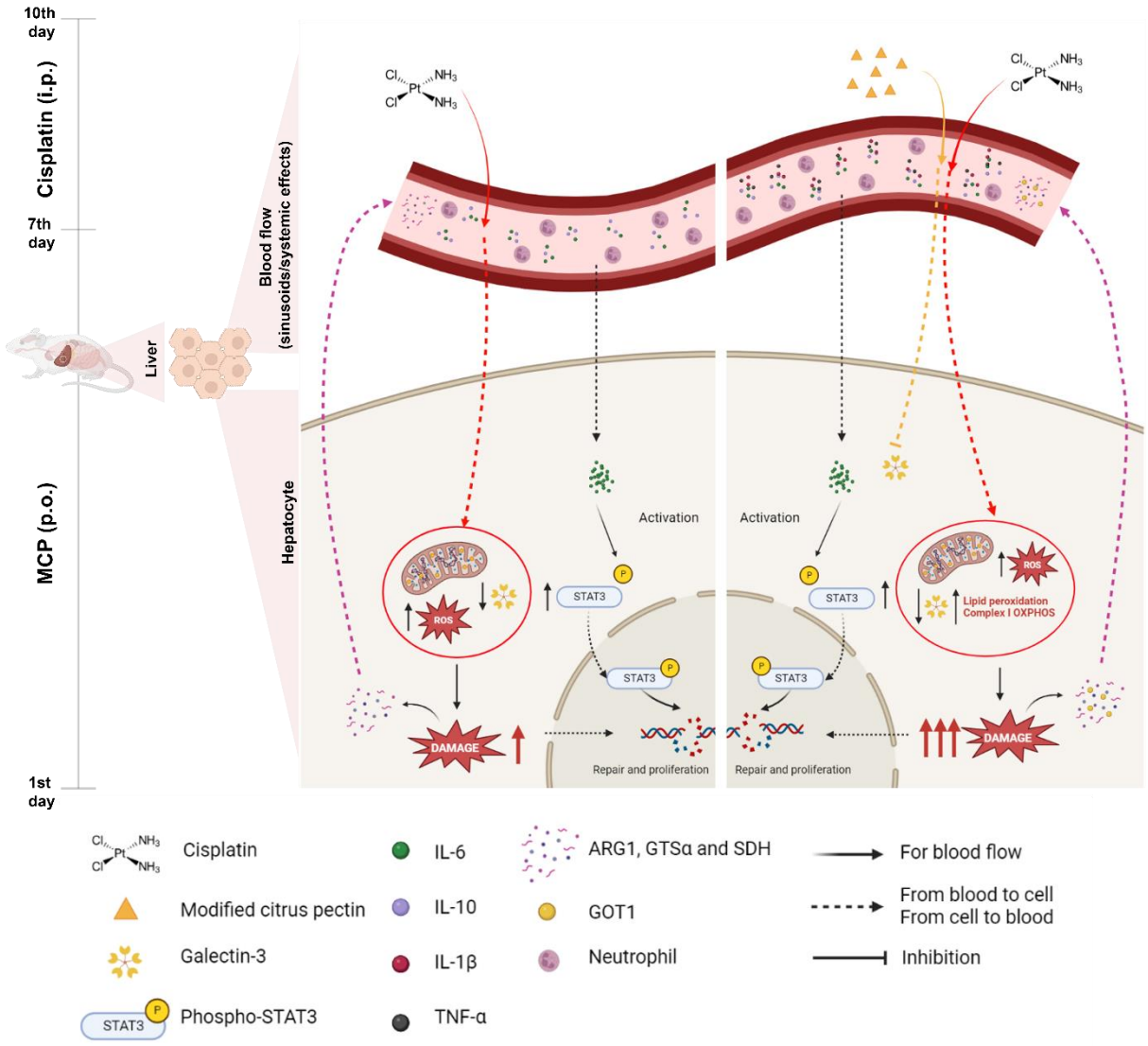


Figura 7. Efeitos do modelo de toxicidade hepática induzida pela cisplatina e do tratamento com MCP. A: A administração da cisplatina aumenta o influxo de neutrófilos periféricos e nos sinusoides hepáticos, bem como dos níveis de citocinas (IL-6, IL-10) e biomarcadores de lesão hepática (ARG1, GTSα e SDH). Nos hepatócitos, ativa a STAT3, aumenta a produção de ROS e diminui os níveis de Gal-3 na mitocôndria, efeitos associados a dano celular. **B:** O tratamento prévio com MCP além de não anular os efeitos da cisplatina, aumenta os níveis de outras

citocinas (IL-1β, TNF-α), GOT1, MDA (peroxidação lipídica) e do complexo I mitocondrial, elevando os danos celulares.

REFERÊNCIAS

ABD RASHID, N.; ABD HALIM, S. A. S.; TEOH, S. L.; BUDIN, S. B. *et al.* The role of natural antioxidants in cisplatin-induced hepatotoxicity. **Biomed Pharmacother**, 144, p. 112328, Dec 2021.

ABU-ELSAAD, N. M.; ELKASHEF, W. F. Modified citrus pectin stops progression of liver fibrosis by inhibiting galectin-3 and inducing apoptosis of stellate cells. **Can J Physiol Pharmacol**, 94, n. 5, p. 554-562, May 2016.

ABUZINADAH, M. F.; AHMAD, A. Pharmacological studies on the efficacy of a thymoquinone-containing novel polyherbal formulation against cisplatin-induced hepatorenal toxicity in rats. **J Food Biochem**, 44, n. 2, p. e13131, Feb 2020.

ADEMOWO, O. S.; DIAS, H. K. I.; BURTON, D. G. A.; GRIFFITHS, H. R. Lipid (per) oxidation in mitochondria: an emerging target in the ageing process? **Biogerontology**, 18, n. 6, p. 859-879, Dec 2017.

AKAHANI, S.; NANGIA-MAKKER, P.; INOHARA, H.; KIM, H. R. *et al.* Galectin-3: a novel antiapoptotic molecule with a functional BH1 (NWGR) domain of Bcl-2 family. **Cancer Res**, 57, n. 23, p. 5272-5276, Dec 01 1997.

AMMER, U.; NATOCHIN, Y.; DAVID, C.; RUMRICH, G. *et al.* Cisplatin nephrotoxicity: site of functional disturbance and correlation to loss of body weight. **Ren Physiol Biochem**, 16, n. 3, p. 131-145, 1993 May-Jun 1993.

ANDRADE, F. E. C.; COVRE, J. L.; RAMOS, L.; HAZARBASSANOV, R. M. *et al.* Evaluation of galectin-1 and galectin-3 as prospective biomarkers in keratoconus. **Br J Ophthalmol**, 102, n. 5, p. 700-707, 05 2018.

ANDREWS, A. R.; FERNANDES, A. D.; BROWNMILLER, S. E.; HANNA, Y. *et al.* Blocking extracellular Galectin-3 in patients with osteoarthritis. **Contemp Clin Trials Commun**, 17, p. 100500, Mar 2020.

BAILEY, W. J.; HOLDER, D.; PATEL, H.; DEVLIN, P. *et al.* A performance evaluation of three drug-induced liver injury biomarkers in the rat: alpha-glutathione S-transferase, arginase 1, and 4-hydroxyphenyl-pyruvate dioxygenase. **Toxicol Sci**, 130, n. 2, p. 229-244, Dec 2012.

BAKIR, S.; YAZGAN, Ü.; İBILOĞLU, İ.; ELBEY, B. *et al.* The protective effect of pomegranate extract against cisplatin toxicity in rat liver and kidney tissue. **Arch Physiol Biochem**, 121, n. 4, p. 152-156, 2015.

BEGRICHE, K.; MASSART, J.; ROBIN, M. A.; BONNET, F. *et al.* Mitochondrial adaptations and dysfunctions in nonalcoholic fatty liver disease. **Hepatology**, 58, n. 4, p. 1497-1507, Oct 2013.

BENTLI, R.; PARLAKPINAR, H.; POLAT, A.; SAMDANCI, E. *et al.* Molsidomine prevents cisplatin-induced hepatotoxicity. **Arch Med Res**, 44, n. 7, p. 521-528, Oct 2013.

BERK, P. D.; WADA, H.; HORIO, Y.; POTTER, B. J. *et al.* Plasma membrane fatty acid-binding protein and mitochondrial glutamic-oxaloacetic transaminase of rat liver are related. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 87, n. 9, p. 3484-3488, May 1990.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal Biochem**, 72, p. 248-254, May 07 1976.

BROWN, A.; KUMAR, S.; TCHOUNWOU, P. B. Cisplatin-Based Chemotherapy of Human Cancers. **J Cancer Sci Ther**, 11, n. 4, 2019.

BROZOVIC, A.; AMBRIOVIĆ-RISTOV, A.; OSMAK, M. The relationship between cisplatin-induced reactive oxygen species, glutathione, and BCL-2 and resistance to cisplatin. **Crit Rev Toxicol**, 40, n. 4, p. 347-359, Apr 2010.

CALLEJO, A.; SEDÓ-CABEZÓN, L.; JUAN, I. D.; LLORENS, J. Cisplatin-Induced Ototoxicity: Effects, Mechanisms and Protection Strategies. **Toxics**, 3, n. 3, p. 268-293, Jul 2015.

CALVIER, L.; MARTINEZ-MARTINEZ, E.; MIANA, M.; CACHOFEIRO, V. *et al.* The impact of galectin-3 inhibition on aldosterone-induced cardiac and renal injuries. **JACC Heart Fail**, 3, n. 1, p. 59-67, Jan 2015.

CARO, A. A.; CEDERBAUM, A. I. Oxidative stress, toxicology, and pharmacology of CYP2E1. **Annu Rev Pharmacol Toxicol**, 44, p. 27-42, 2004.

CHENG, Y. L.; HUANG, W. C.; CHEN, C. L.; TSAI, C. C. *et al.* Increased galectin-3 facilitates leukemia cell survival from apoptotic stimuli. **Biochem Biophys Res Commun**, 412, n. 2, p. 334-340, Aug 26 2011.

CHURCH, R. J.; KULLAK-UBLICK, G. A.; AUBRECHT, J.; BONKOVSKY, H. L. *et al.* Candidate biomarkers for the diagnosis and prognosis of drug-induced liver injury: An international collaborative effort. **Hepatology**, 69, n. 2, p. 760-773, Feb 2019.

COLNOT, C.; RIPOCHE, M. A.; MILON, G.; MONTAGUTELLI, X. *et al.* Maintenance of granulocyte numbers during acute peritonitis is defective in galectin-3-null mutant mice. **Immunology**, 94, n. 3, p. 290-296, Jul 1998.

CONTI, S.; VEXLER, A.; HAGOEL, L.; KALICH-PHILOSOPH, L. *et al.* Modified Citrus Pectin as a Potential Sensitizer for Radiotherapy in Prostate Cancer. **Integr Cancer Ther**, 17, n. 4, p. 1225-1234, Dec 2018.

COOPER, D.; ILARREGUI, J. M.; PESOA, S. A.; CROCI, D. O. *et al.* Multiple functional targets of the immunoregulatory activity of galectin-1: Control of immune cell trafficking, dendritic cell physiology, and T-cell fate. **Methods Enzymol**, 480, p. 199-244, 2010.

COPPIN, L.; JANNIN, A.; AIT YAHYA, E.; THUILLIER, C. *et al.* Galectin-3 modulates epithelial cell adaptation to stress at the ER-mitochondria interface. **Cell Death Dis**, 11, n. 5, p. 360, May 12 2020.

CORADINI, P. P.; CIGANA, L.; SELISTRE, S. G.; ROSITO, L. S. *et al.* Ototoxicity from cisplatin therapy in childhood cancer. **J Pediatr Hematol Oncol**, 29, n. 6, p. 355-360, Jun 2007.

CUNHA, E. O.; REIS, A. D.; MACEDO, M. B.; MACHADO, M. S. *et al.* Ototoxicity of cypermethrin in Wistar rats. **Braz J Otorhinolaryngol**, 86, n. 5, p. 587-592, 2020 Sep - Oct 2020.

D'ORIA, R.; SCHIPANI, R.; LEONARDINI, A.; NATALICCHIO, A. *et al.* The Role of Oxidative Stress in Cardiac Disease: From Physiological Response to Injury Factor. **Oxid Med Cell Longev**, 2020, p. 5732956, 2020.

DELACOUR, D.; KOCH, A.; JACOB, R. The role of galectins in protein trafficking. **Traffic**, 10, n. 10, p. 1405-1413, Oct 2009.

DI CIAULA, A.; CALAMITA, G.; SHANMUGAM, H.; KHALIL, M. *et al.* Mitochondria Matter: Systemic Aspects of Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) and Diagnostic Assessment of Liver Function by Stable Isotope Dynamic Breath Tests. **Int J Mol Sci**, 22, n. 14, Jul 19 2021.

DILRUBA, S.; KALAYDA, G. V. Platinum-based drugs: past, present and future. **Cancer Chemother Pharmacol**, 77, n. 6, p. 1103-1124, Jun 2016.

DONG, R.; ZHANG, M.; HU, Q.; ZHENG, S. *et al.* Galectin-3 as a novel biomarker for disease diagnosis and a target for therapy (Review). **Int J Mol Med**, 41, n. 2, p. 599-614, Feb 2018.

DONG, T.; LI, H.; WANG, S.; CHEN, W. Efficacy evaluation of serum galectin-3 in hypertension complicated with diastolic dysfunction. **Exp Ther Med**, 19, n. 1, p. 147-152, Jan 2020.

DRAGOMIR, A. C.; SUN, R.; MISHIN, V.; HALL, L. B. *et al.* Role of galectin-3 in acetaminophen-induced hepatotoxicity and inflammatory mediator production. **Toxicol Sci**, 127, n. 2, p. 609-619, Jun 2012.

ELCHANINOV, A.; VISHNYAKOVA, P.; MENYAILO, E.; SUKHIKH, G. *et al.* An Eye on Kupffer Cells: Development, Phenotype and the Macrophage Niche. **Int J Mol Sci**, 23, n. 17, Aug 30 2022.

ELIAZ, I.; HOTCHKISS, A. T.; FISHMAN, M. L.; RODE, D. The effect of modified citrus pectin on urinary excretion of toxic elements. **Phytother Res**, 20, n. 10, p. 859-864, Oct 2006.

ELIAZ, I.; RAZ, A. Pleiotropic Effects of Modified Citrus Pectin. **Nutrients**, 11, n. 11, Nov 01 2019.

FANG, T.; LIU, D. D.; NING, H. M.; DAN LIU *et al.* Modified citrus pectin inhibited bladder tumor growth through downregulation of galectin-3. **Acta Pharmacol Sin**, 39, n. 12, p. 1885-1893, Dec 2018.

FERNÁNDEZ, G. C.; ILARREGUI, J. M.; RUBEL, C. J.; TOSCANO, M. A. *et al.* Galectin-3 and soluble fibrinogen act in concert to modulate neutrophil activation and survival: involvement of alternative MAPK pathways. **Glycobiology**, 15, n. 5, p. 519-527, May 2005.

FLOREA, A. M.; BÜSSELBERG, D. Cisplatin as an anti-tumor drug: cellular mechanisms of activity, drug resistance and induced side effects. **Cancers (Basel)**, 3, n. 1, p. 1351-1371, Mar 2011.

FUKUMORI, T.; OKA, N.; TAKENAKA, Y.; NANGIA-MAKKER, P. *et al.* Galectin-3 regulates mitochondrial stability and antiapoptotic function in response to anticancer drug in prostate cancer. **Cancer Res**, 66, n. 6, p. 3114-3119, Mar 2006.

GAO, B.; WANG, H.; LAFDIL, F.; FENG, D. STAT proteins - key regulators of anti-viral responses, inflammation, and tumorigenesis in the liver. **J Hepatol**, 57, n. 2, p. 430-441, Aug 2012.

GAO, D.; YU, H.; LI, B.; CHEN, L. *et al.* Cisplatin Toxicology: The Role of Pro-inflammatory Cytokines and GABA Transporters in Cochlear Spiral Ganglion. **Curr Pharm Des**, 25, n. 45, p. 4820-4826, 2019.

GE, X. N.; BAHAIE, N. S.; KANG, B. N.; HOSSEINKHANI, M. R. *et al.* Allergen-induced airway remodeling is impaired in galectin-3-deficient mice. **J Immunol**, 185, n. 2, p. 1205-1214, Jul 15 2010.

GE, X. N.; HA, S. G.; LIU, F. T.; RAO, S. P. *et al.* Eosinophil-expressed galectin-3 regulates cell trafficking and migration. **Front Pharmacol**, 4, p. 37, 2013.

GHOSH, S. Cisplatin: The first metal based anticancer drug. **Bioorg Chem**, 88, p. 102925, 07 2019.

GIL, C. D.; COOPER, D.; ROSIGNOLI, G.; PERRETTI, M. *et al.* Inflammation-induced modulation of cellular galectin-1 and -3 expression in a model of rat peritonitis. **Inflamm Res**, 55, n. 3, p. 99-107, Mar 2006.

GIL, C. D.; LA, M.; PERRETTI, M.; OLIANI, S. M. Interaction of human neutrophils with endothelial cells regulates the expression of endogenous proteins annexin 1, galectin-1 and galectin-3. **Cell Biology International**, 30, n. 4, p. 338-344, Apr 2006.

GRUSON, D.; KO, G. Galectins testing: new promises for the diagnosis and risk stratification of chronic diseases? **Clin Biochem**, 45, n. 10-11, p. 719-726, Jul 2012.

GÓTH, L. A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. **Clin Chim Acta**, 196, n. 2-3, p. 143-151, Feb 15 1991.

HARRISON, S. A.; MARRI, S. R.; CHALASANI, N.; KOHLI, R. *et al.* Randomised clinical study: GR-MD-02, a galectin-3 inhibitor, vs. placebo in patients having non-alcoholic steatohepatitis with advanced fibrosis. **Aliment Pharmacol Ther**, 44, n. 11-12, p. 1183-1198, 12 2016.

HIRABAYASHI, J.; HASHIDATE, T.; ARATA, Y.; NISHI, N. *et al.* Oligosaccharide specificity of galectins: a search by frontal affinity chromatography. **Biochim Biophys Acta**, 1572, n. 2-3, p. 232-254, Sep 19 2002.

HIRAO, H.; UCHIDA, Y.; KADONO, K.; TANAKA, H. *et al.* The protective function of galectin-9 in liver ischemia and reperfusion injury in mice. **Liver Transpl**, 21, n. 7, p. 969-981, Jul 2015.

HORIGUCHI, N.; ISHAC, E. J.; GAO, B. Liver regeneration is suppressed in alcoholic cirrhosis: correlation with decreased STAT3 activation. **Alcohol**, 41, n. 4, p. 271-280, Jun 2007.

HOSSEIN, G.; HALVAEI, S.; HEIDARIAN, Y.; DEHGHANI-GHOBADI, Z. *et al.* Pectasol-C Modified Citrus Pectin targets Galectin-3-induced STAT3 activation and synergize paclitaxel cytotoxic effect on ovarian cancer spheroids. **Cancer Med**, 8, n. 9, p. 4315-4329, Aug 2019.

HOSSEIN, G.; KESHAVARZ, M.; AHMADI, S.; NADERI, N. Synergistic effects of PectaSol-C modified citrus pectin an inhibitor of Galectin-3 and paclitaxel on apoptosis of human SKOV-3 ovarian cancer cells. **Asian Pac J Cancer Prev**, 14, n. 12, p. 7561-7568, 2013.

HSU, D. K.; YANG, R. Y.; PAN, Z.; YU, L. *et al.* Targeted disruption of the galectin-3 gene results in attenuated peritoneal inflammatory responses. **Am J Pathol**, 156, n. 3, p. 1073-1083, Mar 2000.

HUGHES, R. C. The galectin family of mammalian carbohydrate-binding molecules. **Biochem Soc Trans**, 25, n. 4, p. 1194-1198, Nov 1997.

IACOBINI, C.; MENINI, S.; RICCI, C.; BLASETTI FANTAUZZI, C. *et al.* Galectin-3 ablation protects mice from diet-induced NASH: a major scavenging role for galectin-3 in liver. **J Hepatol**, 54, n. 5, p. 975-983, May 2011.

IBARROLA, J.; MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, E.; SÁDABA, J. R.; ARRIETA, V. *et al.* Beneficial Effects of Galectin-3 Blockade in Vascular and Aortic Valve Alterations in an Experimental Pressure Overload Model. **Int J Mol Sci**, 18, n. 8, Jul 31 2017.

INOHARA, H.; RAZ, A. Effects of natural complex carbohydrate (citrus pectin) on murine melanoma cell properties related to galectin-3 functions. **Glycoconj J**, 11, n. 6, p. 527-532, Dec 1994.

JENG, K. C.; FRIGERI, L. G.; LIU, F. T. An endogenous lectin, galectin-3 (epsilon BP/Mac-2), potentiates IL-1 production by human monocytes. **Immunol Lett**, 42, n. 3, p. 113-116, Oct 1994.

KASEMBELI, M. M.; BHARADWAJ, U.; ROBINSON, P.; TWEARDY, D. J. Contribution of STAT3 to Inflammatory and Fibrotic Diseases and Prospects for its Targeting for Treatment. **Int J Mol Sci**, 19, n. 8, Aug 05 2018.

KEIZMAN, D.; FRENKEL, M.; PEER, A.; KUSHNIR, I. *et al.* Modified Citrus Pectin Treatment in Non-Metastatic Biochemically Relapsed Prostate Cancer: Results of a Prospective Phase II Study. **Nutrients**, 13, n. 12, Nov 28 2021.

KHOMICH, O.; IVANOV, A. V.; BARTOSCH, B. Metabolic Hallmarks of Hepatic Stellate Cells in Liver Fibrosis. **Cells**, 9, n. 1, Dec 20 2019.

KIM, D. W.; KIM, K. H.; YOO, B. C.; HONG, S. H. *et al.* Identification of mitochondrial F(1)F(0)-ATP synthase interacting with galectin-3 in colon cancer cells. **Cancer Sci**, 99, n. 10, p. 1884-1891, Oct 2008.

KIM, H. J.; SO, H. S.; LEE, J. H.; PARK, C. *et al.* Role of proinflammatory cytokines in cisplatin-induced vestibular hair cell damage. **Head Neck**, 30, n. 11, p. 1445-1456, Nov 2008.

KOLATSI-JOANNOU, M.; PRICE, K. L.; WINYARD, P. J.; LONG, D. A. Modified citrus pectin reduces galectin-3 expression and disease severity in experimental acute kidney injury. **PLoS One**, 6, n. 4, p. e18683, Apr 2011.

KREMER, D. M.; NELSON, B. S.; LIN, L.; YAROSZ, E. L. *et al.* GOT1 inhibition promotes pancreatic cancer cell death by ferroptosis. **Nat Commun**, 12, n. 1, p. 4860, 08 11 2021.

LATTIMER, J. M.; HAUB, M. D. Effects of dietary fiber and its components on metabolic health. **Nutrients**, 2, n. 12, p. 1266-1289, Dec 2010.

LECLERE, L.; CUTSEM, P. V.; MICHIELS, C. Anti-cancer activities of pH- or heat-modified pectin. **Front Pharmacol**, 4, p. 128, Oct 08 2013.

LEFFLER, H.; CARLSSON, S.; HEDLUND, M.; QIAN, Y. *et al.* Introduction to galectins. **Glycoconj J**, 19, n. 7-9, p. 433-440, 2002.

LI, H. Y.; YANG, S.; LI, J. C.; FENG, J. X. Galectin 3 inhibition attenuates renal injury progression in cisplatin-induced nephrotoxicity. **Biosci Rep**, 38, n. 6, 12 2018.

LIU, F. T.; RABINOVICH, G. A. Galectins: regulators of acute and chronic inflammation. **Ann N Y Acad Sci**, 1183, p. 158-182, Jan 2010.

LIU, H. Y.; HUANG, Z. L.; YANG, G. H.; LU, W. Q. *et al.* Inhibitory effect of modified citrus pectin on liver metastases in a mouse colon cancer model. **World J Gastroenterol**, 14, n. 48, p. 7386-7391, Dec 2008.

LUCCHI, D. B. M.; SASSO, G. R. S.; SENA, L. S.; SANTOS, D. D. *et al.* The role of annexin A1-derived peptide Ac. **Life Sci**, 304, p. 120677, Sep 01 2022.

MANCO, R.; ITZKOVITZ, S. Liver zonation. **J Hepatol**, 74, n. 2, p. 466-468, Feb 2021.

MARBACK, P. M.; DE FREITAS, D.; PARANHOS JUNIOR, A.; BELFORT JUNIOR, R. [Epidemiological and clinical features of allergic conjunctivitis in a reference center]. **Arq Bras Oftalmol**, 70, n. 2, p. 312-316, 2007 Mar-Apr 2007.

MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, E.; CALVIER, L.; FERNÁNDEZ-CELIS, A.; ROUSSEAU, E. *et al.* Galectin-3 blockade inhibits cardiac inflammation and fibrosis in experimental hyperaldosteronism and hypertension. **Hypertension**, 66, n. 4, p. 767-775, Oct 2015.

MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, E.; CALVIER, L.; ROSSIGNOL, P.; ROUSSEAU, E. *et al.* Galectin-3 inhibition prevents adipose tissue remodelling in obesity. **Int J Obes (Lond)**, 40, n. 6, p. 1034-1038, Jun 2016.

MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, E.; IBARROLA, J.; FERNÁNDEZ-CELIS, A.; CALVIER, L. *et al.* Galectin-3 pharmacological inhibition attenuates early renal damage in spontaneously hypertensive rats. **J Hypertens**, 36, n. 2, p. 368-376, Feb 2018.

MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, E.; LÓPEZ-ÁNDRES, N.; JURADO-LÓPEZ, R.; ROUSSEAU, E. *et al.* Galectin-3 Participates in Cardiovascular Remodeling Associated With Obesity. **Hypertension**, 66, n. 5, p. 961-969, Nov 2015.

MASARONE, M.; ROSATO, V.; DALLIO, M.; GRAVINA, A. G. *et al.* Role of Oxidative Stress in Pathophysiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. **Oxid Med Cell Longev**, 2018, p. 9547613, 2018.

MATARRESE, P.; FUSCO, O.; TINARI, N.; NATOLI, C. *et al.* Galectin-3 overexpression protects from apoptosis by improving cell adhesion properties. **Int J Cancer**, 85, n. 4, p. 545-554, Feb 15 2000.

MENACHEM, A.; BODNER, O.; PASTOR, J.; RAZ, A. *et al.* Inhibition of malignant thyroid carcinoma cell proliferation by Ras and galectin-3 inhibitors. **Cell Death Discov**, 1, p. 15047, 2015.

OZKOK, A.; EDELSTEIN, C. L. Pathophysiology of cisplatin-induced acute kidney injury. **Biomed Res Int**, 2014, p. 967826, 2014.

PERILLO, N. L.; MARCUS, M. E.; BAUM, L. G. Galectins: versatile modulators of cell adhesion, cell proliferation, and cell death. **J Mol Med (Berl)**, 76, n. 6, p. 402-412, May 1998.

PIENTA, K. J.; NAIK, H.; AKHTAR, A.; YAMAZAKI, K. *et al.* Inhibition of spontaneous metastasis in a rat prostate cancer model by oral administration of modified citrus pectin. **J Natl Cancer Inst**, 87, n. 5, p. 348-353, Mar 01 1995.

PINGILI, R. B.; PAWAR, A. K.; CHALLA, S. R.; KODALI, T. *et al.* A comprehensive review on hepatoprotective and nephroprotective activities of chrysin against various drugs and toxic agents. **Chem Biol Interact**, 308, p. 51-60, Aug 01 2019.

POTIKHA, T.; ELLA, E.; CERLIANI, J. P.; MIZRAHI, L. *et al.* Galectin-1 is essential for efficient liver regeneration following hepatectomy. **Oncotarget**, 7, n. 22, p. 31738-31754, May 2016.

POWIS, G. Effect of human renal and hepatic disease on the pharmacokinetics of anticancer drugs. **Cancer Treat Rev**, 9, n. 2, p. 85-124, Jun 1982.

PROTZER, U.; MAINI, M. K.; KNOLLE, P. A. Living in the liver: hepatic infections. **Nat Rev Immunol**, 12, n. 3, p. 201-213, Feb 24 2012.

PUCHE, J. E.; SAIMAN, Y.; FRIEDMAN, S. L. Hepatic stellate cells and liver fibrosis. **Compr Physiol**, 3, n. 4, p. 1473-1492, Oct 2013.

QU, K.; LIN, T.; WANG, Z.; LIU, S. *et al.* Reactive oxygen species generation is essential for cisplatin-induced accelerated senescence in hepatocellular carcinoma. **Front Med**, 8, n. 2, p. 227-235, Jun 2014.

RABINOVICH, G. A.; TOSCANO, M. A. Turning 'sweet' on immunity: galectin-glycan interactions in immune tolerance and inflammation. **Nat Rev Immunol**, 9, n. 5, p. 338-352, May 2009.

RADOSAVLJEVIC, G.; VOLAREVIC, V.; JOVANOVIC, I.; MILOVANOVIC, M. *et al.* The roles of Galectin-3 in autoimmunity and tumor progression. **Immunol Res**, 52, n. 1-2, p. 100-110, Apr 2012.

RAO, S. P.; WANG, Z.; ZUBERI, R. I.; SIKORA, L. *et al.* Galectin-3 functions as an adhesion molecule to support eosinophil rolling and adhesion under conditions of flow. **J Immunol**, 179, n. 11, p. 7800-7807, Dec 01 2007.

SANJURJO, L.; BROEKHUIZEN, E. C.; KOENEN, R. R.; THIJSSEN, V. L. J. L. Galectokines: The Promiscuous Relationship between Galectins and Cytokines. **Biomolecules**, 12, n. 9, Sep 13 2022.

SANO, H.; HSU, D. K.; APGAR, J. R.; YU, L. *et al.* Critical role of galectin-3 in phagocytosis by macrophages. **J Clin Invest**, 112, n. 3, p. 389-397, Aug 2003.

SANO, H.; HSU, D. K.; YU, L.; APGAR, J. R. *et al.* Human galectin-3 is a novel chemoattractant for monocytes and macrophages. **J Immunol**, 165, n. 4, p. 2156-2164, Aug 15 2000.

SCHULZE, R. J.; SCHOTT, M. B.; CASEY, C. A.; TUMA, P. L. *et al.* The cell biology of the hepatocyte: A membrane trafficking machine. **J Cell Biol**, 218, n. 7, p. 2096-2112, Jul 01 2019.

SEKI, S.; KITADA, T.; YAMADA, T.; SAKAGUCHI, H. *et al.* In situ detection of lipid peroxidation and oxidative DNA damage in non-alcoholic fatty liver diseases. **J Hepatol**, 37, n. 1, p. 56-62, Jul 2002.

SENA, L. S.; SASSO, G. R. S.; SANCHES, J. M.; FRANCO, P. C. *et al.* Pharmacological treatment with annexin A1-derived peptide protects against cisplatin-induced hearing loss. **Toxicol Lett**, 363, p. 27-35, Jun 15 2022.

SEYREK, K.; RICHTER, M.; LAVRIK, I. N. Decoding the sweet regulation of apoptosis: the role of glycosylation and galectins in apoptotic signaling pathways. **Cell Death Differ**, 26, n. 6, p. 981-993, 06 2019.

SHI, Y.; HE, B.; KUCHENBECKER, K. M.; YOU, L. *et al.* Inhibition of Wnt-2 and galectin-3 synergistically destabilizes beta-catenin and induces apoptosis in human colorectal cancer cells. **Int J Cancer**, 121, n. 6, p. 1175-1181, Sep 15 2007.

SINGH, G. K.; PATIL, V. M.; NORONHA, V.; JOSHI, A. *et al.* Weight loss and its impact on outcome in head and cancer patients during chemo-radiation. **Oral Oncol**, 122, p. 105522, 11 2021.

STOJANOVIC, B.; MILOVANOVIC, J.; ARSENIJEVIC, A.; STRAZIC GELJIC, I. *et al.* Galectin-3 Deficiency Facilitates TNF-α-Dependent Hepatocyte Death and Liver Inflammation in MCMV Infection. **Front Microbiol**, 10, p. 185, 2019.

SUMIDA, Y.; YONEDA, M. Current and future pharmacological therapies for NAFLD/NASH. **J Gastroenterol**, 53, n. 3, p. 362-376, Mar 2018.

TAKENAKA, Y.; FUKUMORI, T.; YOSHII, T.; OKA, N. *et al.* Nuclear export of phosphorylated galectin-3 regulates its antiapoptotic activity in response to chemotherapeutic drugs. **Mol Cell Biol**, 24, n. 10, p. 4395-4406, May 2004.

TREFTS, E.; GANNON, M.; WASSERMAN, D. H. The liver. **Curr Biol**, 27, n. 21, p. R1147-R1151, Nov 06 2017.

UMBAUGH, D. S.; JAESCHKE, H. Biomarkers of drug-induced liver injury: a mechanistic perspective through acetaminophen hepatotoxicity. **Expert Rev Gastroenterol Hepatol**, 15, n. 4, p. 363-375, Apr 2021.

UN, H.; UGAN, R. A.; KOSE, D.; BAYIR, Y. *et al.* A novel effect of Aprepitant: Protection for cisplatin-induced nephrotoxicity and hepatotoxicity. **Eur J Pharmacol**, 880, p. 173168, Aug 2020.

VASTA, G. R.; AHMED, H.; NITA-LAZAR, M.; BANERJEE, A. *et al.* Galectins as self/non-self recognition receptors in innate and adaptive immunity: an unresolved paradox. **Front Immunol**, 3, p. 199, 2012.

WANG, H.; LIANG, X.; GRAVOT, G.; THORLING, C. A. *et al.* Visualizing liver anatomy, physiology and pharmacology using multiphoton microscopy. **J Biophotonics**, 10, n. 1, p. 46-60, Jan 2017.

WANG, J. L.; GRAY, R. M.; HAUDEK, K. C.; PATTERSON, R. J. Nucleocytoplasmic lectins. **Biochim Biophys Acta**, 1673, n. 1-2, p. 75-93, Jul 06 2004.

WANG, L.; LI, Y. S.; YU, L. G.; ZHANG, X. K. *et al.* Galectin-3 expression and secretion by tumor-associated macrophages in hypoxia promotes breast cancer progression. **Biochem Pharmacol**, 178, p. 114113, Aug 2020.

WONGKHAM, S.; JUNKING, M.; WONGKHAM, C.; SRIPA, B. *et al.* Suppression of galectin-3 expression enhances apoptosis and chemosensitivity in liver fluke-associated cholangiocarcinoma. **Cancer Sci**, 100, n. 11, p. 2077-2084, Nov 2009.

XU, G. R.; ZHANG, C.; YANG, H. X.; SUN, J. H. *et al.* Modified citrus pectin ameliorates myocardial fibrosis and inflammation via suppressing galectin-3 and TLR4/MyD88/NF-κB signaling pathway. **Biomed Pharmacother**, 126, p. 110071, Jun 2020.

XU, Y.; GU, X.; GONG, M.; GUO, G. *et al.* Galectin-3 inhibition sensitizes human renal cell carcinoma cells to arsenic trioxide treatment. **Cancer Biol Ther**, 14, n. 10, p. 897-906, Oct 01 2013.

YU, F.; FINLEY, R. L.; RAZ, A.; KIM, H. R. Galectin-3 translocates to the perinuclear membranes and inhibits cytochrome c release from the mitochondria. A role for synexin in galectin-3 translocation. **J Biol Chem**, 277, n. 18, p. 15819-15827, May 03 2002.

ZHAO, J.; QI, Y. F.; YU, Y. R. STAT3: A key regulator in liver fibrosis. **Ann Hepatol**, 21, p. 100224, 2021 Mar-Apr 2021.

ZUBERI, R. I.; FRIGERI, L. G.; LIU, F. T. Activation of rat basophilic leukemia cells by epsilon BP, an IgE-binding endogenous lectin. **Cell Immunol**, 156, n. 1, p. 1-12, Jun 1994.