

Luciana Zaia Della Negra Povegliano

**IMUNOEXPRESSÃO DA PROTEÍNA GALECTINA-3 NO CÂNCER
COLORRETAL E SUA RELAÇÃO COM SOBREVIDA**

**Tese apresentada a Escola
Paulista de Medicina –
UNIFESP para obtenção do
Título de Doutor em Ciências.**

**São Paulo
2008**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Luciana Zaia Della Negra Povegliano

**IMUNOEXPRESSÃO DA PROTEÍNA GALECTINA-3 NO CÂNCER
COLORRETAL E SUA RELAÇÃO COM SOBREVIDA**

**Tese apresentada a Escola
Paulista de Medicina –
UNIFESP para obtenção do
Título de Doutor em Ciências.**

**Orientadora: Prof^a Dr^a. Nora Manoukian Forones
Co-orientadora: Dr^a. Celina Tizuko Fujiyama Oshima**

Povegliano, Luciana Zaia

**Imunoexpressão da Proteína Galectina-3 no Câncer Colorretal e sua
Relação com Sobrevida.**

xi, 65 folhas.

Tese de Doutorado (Gastroenterologia) – Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de Medicina. Programa de Pós-graduação em Gastroenterologia Clínica.

Immunoexpression of Galectin-3 Protein in Colorectal Cancer and its Relationship with Survival.

1:Galectina-3 2: Câncer Colorretal 3: Prognóstico
4: Marcador Tumoral 5: Imunohistoquímica.

Universidade Federal de São Paulo
Escola Paulista de Medicina
Departamento de Medicina

Chefe do Departamento:

Prof^a. Dr^a. Emilia Inoue Sato

Coordenadora do Programa de Pós-graduação:

Prof^a. Dr^a. Maria Lúcia Ferraz

Sumário

Dedicatória.....	iii
Agradecimentos.....	vi
Lista de Tabelas, Fotos e Gráficos.....	vii
Lista de Abreviaturas.....	ix
Resumo.....	x
I – INTRODUÇÃO.....	1
I.1 Objetivos.....	3
II – REVISÃO DE LITERATURA.....	4
III – CASUÍSTICA E MÉTODO.....	14
III.1 - Casuística.....	15
III.2 - Método.....	16
III.3 - Estatística.....	18
IV – RESULTADOS.....	19
IV.1 - Resultados Obtidos em Relação à Proteína Galectina-3.....	26
IV.2 - Análise de regressão múltipla de Cox.....	36
IV.3 - Curvas de Sobrevida.....	37
V – DISCUSSÃO.....	41
VI – CONCLUSÕES.....	48
VII – ANEXOS.....	50
VII.1 - Carta de Aprovação do Comitê de Ética Institucional.....	51
VII.2 - Características dos pacientes com câncer colorretal estudados.....	54
VIII – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	56
Abstract.....	64

**Aos meus pais Pedro e Beatriz,
Aos meus irmãos Paulo e Fernanda,
Por me darem a educação, a perseverança e o amor.**

Sem vocês não teria chegado até aqui.

**Ao meu amor Sandro,
Por todos esses anos juntos. E ao meu lado.**

***“Renda-se como eu me rendi.
Mergulhe no que você não conhece como eu mergulhei.
Não se preocupe em entender.
Viver ultrapassa qualquer entendimento.”***

Clarice Lispector

Agradecimentos

À Prof^a. Dr^a. Nora Manoukian Forones, orientadora, por iniciar-me cientificamente, pela oportunidade, apoio e importantes sugestões para a realização desta tese.

À Dr^a. Celina Tizuko Fujiyama Oshima, co-orientadora, pela ajuda e sempre disposição para a realização deste trabalho.

Ao colega Frederico Rafael Moreira, pela ajuda na realização da análise estatística.

Ao colega patologista Flávio de Oliveira Lima pela leitura das lâminas de imunohistoquímica.

Ao colega pós-graduando do Departamento de Morfologia Pedro Luiz Andrade Scherholz pela digitalização das fotos da proteína galectina-3.

Aos companheiros do ambulatório de Oncologia da Disciplina de Gastroenterologia Clínica da UNIFESP-EPM, principalmente aos médicos Jaime Zaladek Gil e Nara Andrade e à psicóloga Marta Medeiros, acima de tudo amigos, que levo para a vida.

Aos docentes, pós-graduandos, residentes e enfermeiros da Disciplina de Gastroenterologia Clínica da UNIFESP-EPM, pelo companheirismo e incentivo durante a elaboração da tese.

Aos colegas e funcionários da Disciplina de Gastroenterologia da UNIFESP/EPM, sempre presentes e acolhedores.

Finalmente, a todos aqueles que, direta ou indiretamente, participaram da construção desta tese.

Lista de Tabelas, Fotos e Gráficos

TABELA 1 - Comparação entre os estadiamentos TNM, Dukes e Astler-Coller.....	9
TABELA 2 - Distribuição dos pacientes com câncer colorretal segundo sexo.....	20
TABELA 3 - Média e outras variáveis da idade dos pacientes com câncer colorretal.....	21
TABELA 4 - Distribuição quanto à localização do tumor colorretal.....	22
TABELA 5 - Distribuição quanto à classificação histopatológica da diferenciação do tumor colorretal.....	23
TABELA 6 - Distribuição dos pacientes com câncer colorretal segundo estágio clínico.....	24
TABELA 7 - Distribuição dos pacientes com câncer colorretal pelo estado atual.....	25
FOTOMICROGRAFIA 1 – Tecido neoplásico colorretal corado com HE mostrando imunopositividade para a proteína galectina-3	26
FOTOMICROGRAFIA 2 – Tecido neoplásico colorretal corado com HE mostrando imunopositividade para a proteína galectina-3.....	27
TABELA 8 - Distribuição dos tumores colorretais quanto à classificação da proteína galectina-3.....	28
TABELA 9 - Relação da idade dos pacientes com câncer colorretal e a expressão da proteína galectina-3.....	29

TABELA 10 - Relação entre a proteína galectina-3 e sexo dos pacientes com câncer colorretal.....	30
TABELA 11 - Relação entre a proteína galectina-3 e local do tumor.....	31
TABELA 12 - Relação da proteína galectina-3 com a classificação histológica.....	32
TABELA 13 - Relação entre a proteína galectina-3 e estágio clínico da doença.....	33
TABELA 14 - Relação da proteína galectina-3 com a sobrevida dos pacientes com câncer colorretal.....	34
TABELA 15 - Relação da galectina-3 com a presença ou ausência de metástases.....	35
TABELA 16 - Análise de regressão múltipla de Cox.....	36
GRÁFICO 1 - Curva de sobrevida em 5 anos em relação à localização da neoplasia dos pacientes com câncer colorretal.....	37
GRÁFICO 2 - Curva de sobrevida em 5 anos em relação ao sexo dos pacientes com câncer colorretal.....	38
GRÁFICO 3 - Curva de sobrevida em 5 anos em relação ao estágio clínico...	39
GRÁFICO 4 - Curva de sobrevida em 5 anos em relação a classificação da galectina-3.....	40

Lista de abreviaturas

INCA: Instituto Nacional de Câncer

PAF: Polipose Adenomatosa Familiar

HNPC: *Hereditary Non Polyposis Colon Câncer* (Câncer Colorretal Não Polipóide)

DNA: *Deoxyribonucleic Acid* (Ácido Desoxiribonucleico)

MMR: *Mismatch Repair*

5FU: 5- fFuorouracil

AF: Ácido Folínico

RNA: *Ribonucleic Acid* (Ácido Ribonucléico)

VEGF: *Vascular Endothelial Growth Factor* (Fator de Crescimento do Endotélio Vascular)

EGFR: *Epithelial Growth Factor Receptor* (Receptor do Fator de Crescimento Epitelial)

T: Tamanho do Tumor

N: Número de Linfonodos Acometidos

M: Presença de Metástases

BSA: *Bovin Serum Albumin* (Soro de Albumina Bovina)

PBS: *Phosphate Buffered Salin* (Tampão Salina Fosfato)

UNIFESP: Universidade Federal de São Paulo

EPM: Escola Paulista de Medicina

CEA: *Carcinoembryonic Antigen* (Antígeno Carcinoembrionário)

HE: Hematoxilina-Eosina

Cólon D: Cólon Direito

Cólon E: Cólon Esquerdo

VCD: Vivo Com Doença

VSD: Vivo Sem Doença

OPD: Óbito Pela Doença

RR: Risco Relativo

IC: Intervalo de Confiança

Resumo

Introdução: O câncer colorretal é um dos tumores mais comuns no mundo atual. A sobrevida e o tempo livre de doença estão sendo cada vez maiores graças ao surgimento de novas drogas quimioterápicas. Marcadores teciduais de prognóstico poderão contribuir para o melhor tratamento desta doença. As galectinas são proteínas pertencentes à família das lecitinas, que se ligam a galactoses, contendo glicoconjugados através de sua afinidade por β -galactosídeo. Sua distribuição em tecidos sugere que têm função importante nos processos fisiológicos, como diferenciação celular, adesão celular, regulação do crescimento celular, e inibição ou indução da apoptose. A galectina-3, já estudada no câncer de tireóide, parece também ter um papel importante no câncer colorretal.

Objetivos: Avaliar a imunoexpressão tissular da proteína galectina-3 em pacientes com câncer colorretal submetidos à ressecção cirúrgica e tratamento quimioterápico adjuvante ou paliativo e correlacionar a expressão tissular desta proteína com aspectos clínicos e de evolução da doença.

Casuística e Método: Estudamos a imunoexpressão citoplasmática da galectina-3 em setenta e cinco adenocarcinomas colorretais. Os tumores foram classificados quanto à coloração citoplasmática em 1 (menos que 50% de células coradas) ou 2 ($\geq 50\%$ de células coradas). A positividade citoplasmática deste marcador foi comparada aos parâmetros clínicos e de evolução.

Resultados: Entre os pacientes, 40 eram do sexo feminino, a média de idade foi de 61,98 anos (variando de 29 a 86 anos). Quanto à localização do tumor, 42,6% eram de reto, 24% de cólon esquerdo e 33,4% de cólon direito. Em relação ao estágio clínico, 33 eram estágio II, 32 estágio III e 10 estágio IV.

A imunoexpressão da proteína galectina-3 foi classificada como 1 em 57,33% dos tumores e 2 em 42,67%. Quanto maior o estágio clínico, maior o percentual de células tumorais coradas (score 2 em 60% dos tumores IV, 40,63% nos tumores estágio III e 39,39% nos estágios II, sendo $p=0,4899$). Em relação à sobrevida, pacientes com tumores com imunoexpressão 1 da galectina-3 mostraram uma maior sobrevida (65,96% dos doentes vivos sem doença com galectina-3 coloração 1 e 34,04% coloração 2). Em contrapartida entre os pacientes que evoluíram com metástase ou recorrência 52,63%

apresentaram positividade das células com coloração 1 e 47,37% coloração 2 ($p=0.0465$). Nos pacientes que faleceram pela doença, 77,8% apresentaram imunoexpressão da galectina-3 moderada a fortemente coradas.

Conclusão: Pacientes com imunoexpressão forte ou moderada da proteína galectina-3 (classificação 2) em maiores proporções faleceram ou evoluíram com recorrência. Observou-se redução marginalmente significativa no risco de morte entre os pacientes com galectina-3 fraca ou nula (classificação 1) quando comparado com tumores de pacientes com galectina-3 forte ou moderada. O estudo da imunoexpressão citoplasmática da proteína galectina-3 parece ser um fator prognóstico nos tumores colorretais.

I - INTRODUÇÃO

O câncer colorretal é um dos tumores mais comuns na humanidade perdendo apenas para pele, pulmão, próstata e mama. Porém, comparado aos outros tumores a incidência está aumentando gradativamente, tanto em homens quanto em mulheres (Jemal e cols, 2007 e INCA, 2008).

O tratamento de escolha no câncer de cólon é a ressecção cirúrgica, e nos casos de tumores com acometimento linfonodal ou metástases à distância, a quimioterapia faz parte do tratamento adjuvante. Nos tumores de reto médio e baixo a quimioterapia e a radioterapia são tratamentos pré-operatórios, no sentido de minimizar as seqüelas de colostomias definitivas (Horn e cols, 1990). Também no pós-operatório a quimioterapia e a radioterapia são feitas como tratamentos adjuvantes.

Os marcadores biológicos são eficazes no sentido de antever o prognóstico, a resposta ao medicamento e em alguns casos os efeitos colaterais.

A galectina-3 é uma proteína marcadora de bom ou mau prognóstico, dependendo do tipo de tumor e local acometido. No caso de tumores de tiróide já está bem estudada (Matsuo e cols, 2004), e nestes desempenha múltiplas funções biológicas, tais como, adesão celular, proliferação, diferenciação e progressão tumoral (Liu e cols, 2002). Os trabalhos iniciais em tiróide mostraram que mais de 90% das lesões malignas expressavam galectina-3, expressão esta observada quase que exclusivamente em carcinomas folicular e papilífero. Desta forma os autores sugerem que a proteína galectina-3 é um marcador tumoral para câncer de tiróide (Xu e cols, 1995). Estudos recentes mostram que a expressão da proteína galectina-3 não é exclusiva de tumores malignos de tiróide, e está expressa em tumores de estômago, pâncreas e esôfago (Okada e cols, 2006, Shibata e cols, 2005 e Legendre e cols, 2003).

Nosso objetivo foi estudar a proteína galectina-3 e sua relação com câncer colorretal, prognóstico e sobrevida.

I.1 - Objetivos

Avaliar a imunexpressão tissular da proteína galectina-3 em pacientes com câncer colorretal submetidos à ressecção cirúrgica e tratamento quimioterápico adjuvante ou paliativo.

Correlacionar a imunexpressão tissular da proteína galectina-3 com aspectos clínicos e de evolução da doença.

II - REVISÃO DE LITERATURA

Os cânceres de cólon e reto são muito comuns nos países ocidentais, como nos Estados Unidos, e menos comuns em regiões do sul e leste da Europa. É pouco freqüente na Grécia, África, Ásia e em algumas populações Latino-Americanas (Mincis, 2002).

Mundialmente, é a terceira neoplasia mais letal e a quarta causa de morte entre os cânceres. Quando analisamos apenas os países desenvolvidos, o câncer colorretal ocupa o segundo lugar em morte, provavelmente devido ao estilo de vida dos países em desenvolvimento (Jemal e cols, 2007 e INCA, 2008).

No Brasil o câncer colorretal figura entre as cinco primeiras causas de morte por câncer, tendo-se observado um aumento consistente ao longo das últimas décadas (INCA, 2008). Nos homens é a quarta causa de morte por neoplasia ocupando o quinto lugar em casos novos. A estimativa para 2008 é de 12.490 casos novos em homens, 13,23/100.000 homens. Com relação às mulheres, em 2008 o câncer colorretal ocupará o quarto lugar em casos novos com 14.500 casos em estimativa (15 casos/100.000 mulheres).

Aproximadamente 95% das lesões malignas colorretais são do tipo adenocarcinoma; os 5% restantes são carcinóides, leiomiossarcomas ou liposarcomas.

Os adenocarcinomas são subdivididos em bem diferenciados, moderadamente diferenciados e pouco diferenciados.

Quanto à localização, cerca de 40% dos cânceres localizam-se no reto, 30% no cólon sigmóide, 15% no cólon direito, 6-7% no transverso e 6-7% no cólon descendente. O câncer do ânus representa somente 1% do total (Boyle, 1997).

Como Berg cita em 2002, os principais fatores de risco para o desenvolvimento do câncer colorretal são:

- a) Idade acima de 50 anos;
- b) História familiar de câncer de cólon e/ou reto;
- c) História pessoal pregressa de câncer de ovário, endométrio e/ou mama;
- d) Dieta com alto conteúdo de gordura e de carne vermelha e baixo teor de cálcio;
- e) Obesidade;

- f) Sedentarismo.
- g) Doenças inflamatórias como a Retocolite Ulcerativa Crônica e a Doença de Crohn.
- h) Síndromes hereditárias.

Dentre as síndromes hereditárias que cursam com alterações intestinais, a Polipose Adenomatosa Familiar (PAF) e o Câncer Colorretal Hereditário sem Polipose (HNPCC) também estão na lista de fatores de risco (Lynch, 1998).

A polipose adenomatosa familiar é um distúrbio hereditário autossômico dominante onde os indivíduos afetados desenvolvem grande número de pólipos desde a juventude havendo transformação maligna em idade precoce. Na síndrome de Gardner estão presentes múltiplos pólipos associados a achados ósseos e cutâneos específicos, como tumores desmóides, lipomas, cistos sebáceos e osteomas do íleo e da mandíbula. Até 6% dos cânceres colorretais terão origem em famílias portadoras de HNPCC, havendo uma predisposição para tumores colônicos localizados no cólon ascendente. O padrão de herança é autossômico dominante com alta penetrância (Lynch, 1998). Porém a maioria dos tumores colorretais é casual, ou seja, ocorre sem nenhuma herança genética, sem nenhum familiar acometido anteriormente.

Em pacientes portadores de doença intestinal inflamatória prolongada, o risco de câncer colorretal é aumentado de acordo com sua extensão, intensidade e duração da doença. O risco é aumentado em 10% a cada década na Retocolite Ulcerativa. Na Doença de Crohn o risco é de 4 a 20 vezes o da população geral (Forones, 2007).

O câncer colorretal é fruto do acúmulo de mutações genéticas em um determinado clone de células epiteliais do cólon ou reto que resultam numa vantagem de crescimento, ou mais especificamente, em uma falta de resposta aos determinantes intercelulares e intracelulares de divisão, diferenciação e morte celular. O oncogene K-ras, os genes supressores tumorais (APC, DCC e p53) e os genes reparadores do DNA ou MMR (mismatch repair) que compreendem MSH2, MLH1, PMS1, PMS2 e MSH6) são considerados de participação central no aparecimento de câncer colorretal (Lynch, 1998).

Podemos diagnosticar o câncer colorretal através de exames diretos e indiretos. Como exemplo de exame indireto temos a pesquisa de sangue oculto nas fezes e de métodos diretos temos os exames de detecção por imagem, sejam elas de raios-X ou endoscópicas.

A pesquisa de sangue oculto nas fezes é sem dúvida o mais barato de todos os métodos diagnósticos, porém apresenta pouca sensibilidade e especificidade (US Preventive Services Task Force, 2002). A baixa acurácia se deve ao fato de que existem tumores malignos que não sangram, e em contrapartida existem várias lesões benignas que sangram. Mas sem dúvida tem seu valor, quando o usamos combinado a outro método diagnóstico e como rastreamento em trabalhos populacionais (Vernon, 1996).

Um método direto de visualização do câncer colorretal é o raio-x contrastado (enema opaco). No caso de haver lesões tumorais do segmento de tubo intestinal estudado, se notará uma imagem negativa da lesão. A imagem clássica da neoplasia é a chamada “mordida da maçã”. Este exame foi o primeiro utilizado, e em algumas regiões do Brasil ainda é o único método de imagem diagnóstico. Também é o mais barato se compararmos com os outros exames de imagem. O enema opaco possui baixa sensibilidade na detecção de lesões pequenas.

A colonoscopia, feita com aparelho endoscópico, é o exame padrão de diagnóstico do câncer colorretal. Quando bem indicada, enquadra-se também nos exames chamados preventivos (no caso de serem encontrados pólipos adenomatosos).

Existem três principais classificações para câncer colorretal: o estadiamento TNM, o estadiamento de Dukes, e o de Astler-Coller.

O estadiamento clínico é feito a partir da peça obtida através da ressecção cirúrgica e dos exames pré-operatórios para análise de metástases à distância.

O estadiamento TNM é realizado através da combinação do tamanho do **Tumor**, **Número** de linfonodos acometidos e se existem **Metástases** à distância. (UICC, 1992, Compton, 2003).

Classificação TNM

Tumor primário (T)

T_x Tumor primário não pode ser avaliado

T₀ Sem evidência do tumor primário

T_{is} Carcinoma in situ: intraepitelial ou invasão da lâmina própria

T₁ Tumor invade a submucosa

T₂ Tumor invade a muscular própria

T₃ Tumor invade a subserosa ou tecidos não-peritonizados pericólicos ou perirretais

T₄ Tumor invade outros órgãos ou estruturas / perfuração

Linfonodos (N)

N_x Linfonodos regionais não podem ser avaliados

N₀ Ausência de metástases linfonodais

N₁ Até três linfonodos regionais perirretais acometidos

N₂ Mais do que três linfonodos regionais perirretais ou pericólicos acometidos

N₃ Linfonodo(s) acometidos em troncos vasculares identificados ou linfonodos(s) apical (is) acometidos(s)

Metástases (M)

M₀ Sem metástases

M₁ Metástase à distância

O estadiamento de Dukes é um estadiamento patológico baseado na ressecção do tumor e nas medidas de profundidade e invasão da mucosa e da parede do tecido. Foi elaborado por C. E. Dukes em 1932 inicialmente para câncer de reto (Dukes, 1932). Já o estágio de Astler-Coller é uma adaptação do de Dukes, revisto por Astler e Coller em 1953, englobando também os tumores à distância, metastáticos (Astler e cols 1954).

Classificação Dukes

A tumor limitado à mucosa e muscular

B tumor invade todas as camadas do intestino

C metástase em linfonodo independente da penetração tumoral

Classificação Astler-Coller

A tumor localizado na mucosa

B₁ tumor limitado a muscular da mucosa

B₂ tumor invade até a subserosa

B₃ tumor invade outros órgãos por continuidade

C₁ tumor limitado a muscular da mucosa, porém com linfonodos acometidos

C₂ tumor invade até a subserosa, porém com linfonodos acometidos

C₃ tumor invade outros órgãos por continuidade, porém com linfonodos acometidos

D metástases a distância

A tabela 1 mostra a comparação entre os três estadiamentos existentes.

TABELA 1 - Comparação entre os estadiamentos TNM, Dukes e Astler-Coller

Estádio	TNM	Dukes	Astler-Coller
0	Tis	A	A
I	T1 N0 M0 T2 N0 M0	A	A B1
IIA	T3 N0 M0	B	B2
IIB	T4 N0 M0	B	B3
IIIA	T1 – T2 N1 M0	C	C1
IIIB	T3 – T4 N1 M0	C	C2 - C3
IIIC	Tq N2 M0	C	C1 - C2 – C3
IV	Tq Nq M1	Sem definição	D

Tq/Nq – qualquer tamanho ou número de linfonodos

Macroscopicamente, os tumores colorretais são lesões polipóides, friáveis, que sangram facilmente, úlceras com bordas elevadas, duras e invertidas ou lesões deprimidas.

O fator mais importante, em termos de prognóstico é o grau de acometimento dos linfonodos no momento da ressecção primária. Pacientes com tumores confinados à parede intestinal e nódulos linfáticos negativos têm uma chance de cura de 90%, no entanto, se gânglios linfáticos estão envolvidos, a taxa de sobrevida em cinco anos cai para 40%. Se mais do que três gânglios estão envolvidos, a sobrevida em cinco anos é de 15 a 26% (Brasileiro Filho, 1998).

A maior parte destas neoplasias é passível de ressecção cirúrgica. A partir do laudo anátomo-patológico podemos estabelecer o tratamento adjuvante baseado em quimioterapia e/ou radioterapia, e o prognóstico do doente.

A combinação de 5-fluorouracil (5FU) e Ácido Folínico (AF) é a primeira escolha em tratamento quimioterápico em nosso ambulatório. O 5-fluorouracil foi o primeiro quimioterápico a ser usado em câncer colorretal. O 5FU é da família das fluoropirimidinas, antimetabólitos que inibem a enzima timidilato sintetase dentro da célula, que é uma das responsáveis pela síntese de DNA celular. Com isso ocorre uma inibição da síntese de DNA e síntese e função do RNA (Grem, 1996).

O Irinotecano, que foi primeiramente chamado de CPT-11, é um análogo da camptotecina, um alcalóide natural que inibe a enzima topoisomerase. A inibição desta enzima leva à parada da replicação de DNA e a morte celular (Takimoto e cols, 1996).

Outra droga muito usada é a oxaliplatina, o único análogo da platina com demonstrada ação anti-neoplásica no câncer colorretal. Seu mecanismo de ação é semelhante ao da cisplatina, também um agente alquilante com o DNA sendo o principal alvo, causando hidrólise intracelular (Diaz e cols, 1996).

As drogas mais modernas são as chamadas alvo moleculares, que são imunoproteínas capazes de reconhecer e se ligar a antígenos tumorais específicos (alvos) e desencadear respostas imunológicas, poupando células normais e provocando efeitos menos tóxicos que a quimioterapia tradicional. Esses novos agentes terapêuticos foram criados a partir dos avanços ocorridos

nas técnicas de biologia celular e molecular. Uma das classes de drogas alvo moleculares são os antiangiogênicos, como o bevacizumabe (Avastin®).

Todo tumor, para se desenvolver, necessita de suprimento sangüíneo para receber oxigênio e nutrientes, que chegam ao tumor através de rica vascularização. A formação dos vasos recebe o nome de angiogênese e as substâncias que a estimulam são denominadas fatores de crescimento endotelial vascular, o VEGF (do inglês, vascular endothelial growth factor). A angiogênese está envolvida na formação tumoral, crescimento e metástase e o VEGF tem um papel central na angiogênese normal e anormal. O bevacizumabe é um anticorpo monoclonal humanizado recombinante que neutraliza seletivamente a atividade biológica do VEGF. O bevacizumabe contém regiões estruturais humanas, com regiões de complementaridade de um anticorpo murino humanizado, que se ligam ao VEGF, reduzindo a vascularização de tumores, inibindo assim o crescimento tumoral (Tonon e cols, 2007).

O outro exemplo de droga alvo molecular é o cetuximabe (Erbix®). O cetuximabe é um anticorpo quimérico, que age como um antagonista competitivo, ligando-se ao domínio extracelular do *Epithelial Growth Factor Receptor* (EGFR), sendo que por meio dessa interação ocorre a regulação do crescimento e proliferação celular. A ligação da droga ao EGFR impede a ativação do receptor e a via subsequente de transmissão do sinal, o que resulta na redução, tanto da invasão de tecidos normais pelas células tumorais, como na expansão do tumor para outros locais (Alekschum e cols, 2005).

Avanços no estudo da genética do câncer de cólon mostram que este tipo de câncer resulta de um acúmulo de diversas transformações genéticas, algumas responsáveis pelos resultados clínicos desfavoráveis e que podem ser sugeridos como marcadores de tendência a uma recorrência tumoral.

Uma das novas descobertas da medicina é o uso da família das galectinas na avaliação do prognóstico e na diferenciação dos tumores quanto ao grau de malignidade (Schoeppner e cols, 1995).

Uma das neoplasias mais estudadas com relação à galectina é o câncer de tiróide, principalmente o do tipo epitelial. Existem vários estudos mostrando essa relação, como em Matsuo e cols em 2004 e Rosa e cols,

2005. Além disso, existem estudos em neoplasias de ovário (Castronovo e cols, 1996) e de mama (Van den Brule e cols, 1994).

Família das Galectinas

As galectinas são proteínas pertencentes à família das lecitinas, que se ligam a galactoses contendo glicoconjugados através de sua afinidade por β -galactosídeo (Barondes e cols, 1994). As galectinas estão presentes em todos os vertebrados mamíferos em vários tipos de células. Dentro das células, foram identificadas no citoplasma, núcleo, superfície celular e no meio extracelular. São secretadas pelas células por mecanismos independentes da clássica secreção através do retículo endoplasmático/ complexo de Golgi (Krzeslak e cols, 2004).

Sua distribuição em tecidos sugere que têm função importante nos processos fisiológicos, como na diferenciação celular, na adesão celular, na regulação do crescimento celular, e na inibição ou indução da apoptose (Legendre e cols, 2003).

Foram identificados quatorze tipos de galectinas nos mamíferos. De acordo com o tipo de ligação pelo carboidrato, as galectinas foram distribuídas em três subtipos: subtipo protótipo, subtipo tandem e subtipo quimera. (Hirabayashi e cols, 1993). O subtipo protótipo agrupa as galectinas 1, 2, 5, 7, 10, 13 e 14, e o subtipo tandem agrupa as galectinas 4, 6, 8, 9 e 12. O subtipo quimera é composto apenas da galectina-3, pois é a única a apresentar um carboidrato seguido de um domínio rico em prolina/glicina.

A galectina-3 que anteriormente foi chamada de “proteína ligante de IgE”, “CBP-35”, “BP epsilon”, “MAC-2”, “L-29”, “hL-31” e “mL-34”, entre outros nomes, é expressa universalmente em tecidos normais e tecidos neoplásicos (Shiro e cols, 1997).

A galectina-3 tem sido alvo de muitos estudos por apresentar uma multifunção, estando associada a diversos mecanismos moleculares relacionados ao crescimento, diferenciação e adesão celular, ao ciclo celular, à resposta inflamatória, à resposta imune, à apoptose, e ao crescimento e metastatização tumoral (Liu e Rabinovich, 2005 e Inohara e Raz, 1995).

Existem evidências de que a expressão da galectina-3 está relacionada a progressão, invasão e metástase tumoral em uma série de tumores. Além da

intensidade de expressão, sua distribuição na célula também está relacionada ao seu efeito no tumor. Enquanto a galectina-3 está presente no núcleo, seu efeito aparentemente é anti-tumoral (Paron e cols, 2003). Já quando se encontra no citoplasma seu efeito potencializa a progressão do tumor (Dumic e cols, 2006).

Aparentemente, a galectina-3 é uma proteína oncogênica multifuncional, encontrada no núcleo, no citoplasma e também no meio extracelular. Apesar de alguns estudos atuais mostrarem uma correlação positiva da expressão da galectina-3 com a agressividade do tumor e metastatização no cólon (Schoeppner, 1995), outros estudos mostram uma regulação contrária (Castronovo e cols, 1992).

No câncer colorretal os estudos estão em fase inicial, com resultados conflitantes.

III - CASUÍSTICA E MÉTODO

III.1 - Casuística

O estudo foi realizado a partir da análise retrospectiva de prontuários de 75 (setenta e cinco) pacientes portadores de câncer colorretal atendidos no Ambulatório de Gastro-Oncologia da Disciplina de Gastroenterologia Clínica do Departamento de Medicina, da UNIFESP/EPM. Os pacientes selecionados tiveram seu diagnóstico entre 1997 e 2001, e posteriormente foram acompanhados por 5 anos quanto à evolução da doença.

Esses pacientes foram submetidos à ressecção cirúrgica do tumor e o material retirado foi o estritamente necessário.

Todos os pacientes que fizeram parte do estudo tinham realizado cirurgia e após estadiamento foram submetidos à quimioterapia adjuvante e/ou paliativa. O esquema quimioterápico realizado foi o mesmo em todos os pacientes, com 5FU e AF nas doses padronizadas pelo esquema Mayo (Haller e cols, 2005). Os pacientes que estavam em tratamento adjuvante, após o término de seis ciclos de quimioterapia, foram acompanhados cada três meses no ambulatório com exame clínico geral, análise do CEA e ultrassom e/ou tomografia computadorizada de abdome/pelve. Os pacientes com diagnóstico de tumor metastático não ressecável recebiam tratamento paliativo até progressão da doença, perda de condições clínicas ou toxicidade.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP-EPM), sob número 0827/05.

Critérios de inclusão

- Diagnóstico de câncer colorretal tipo adenocarcinoma confirmado por laudo anátomo-patológico;
- Pacientes com dados acessíveis de idade, sexo, localização do tumor, grau de diferenciação, estágio clínico e evolução;
- Ausência de outros tumores sincrônicos;
- Estádio II, III ou IV;
- Tratamento com esquema quimioterápico adjuvante e/ou paliativo com esquema Mayo.

Critérios de exclusão

- Não confirmação de adenocarcinoma por anátomo-patológico;
- Pacientes nos quais os dados de acompanhamento não puderam ser encontrados;
- Presença de tumores sincrônicos;
- Ressecção do tumor sem tratamento quimioterápico;
- Tratamento com outras drogas quimioterápicas além de 5FU e AF.

III.2 - Método

As 75 amostras de tecidos tumorais de foram fixadas em formalina a 10% e emblocadas rotineiramente em parafina. Foram realizados novos cortes histológicos, corados com hematoxilina-eosina (HE), revistos e revisados histologicamente através de microscopia óptica comum e o anátomo-patológico confirmado.

Imunohistoquímica

Cortes histológicos de aproximadamente 4 μ m de espessura foram aderidos em lâminas tratadas com 3-aminopropiltriétoxisilano (Sigma, Co.-USA-A3648) deixadas em estufa a 60° C por 24 horas para melhor adesão do tecido.

Os cortes foram desparafinizados através de dois banhos de xilol a temperatura ambiente por 15 minutos cada e hidratação em concentrações decrescentes de etanol absoluto até água corrente. Posteriormente, a recuperação antigênica foi realizada através do uso da panela a vapor, em tampão citrato, pH 6,0 por 30 minutos. As lâminas foram resfriadas à temperatura ambiente por pelo menos 20 minutos.

Após lavagem em água corrente, foi realizado o bloqueio da peroxidase endógena utilizando-se solução de peróxido de hidrogênio a 10 volumes, quatro banhos de 5 minutos cada, e posterior lavagem de 10 minutos

em água corrente e com solução tampão PBS pH 7,4.

A seguir, foi realizada a incubação com o anticorpo primário antigalectina-3 (G5170, Sigma), diluído em título pré-estabelecido de 1:100, em solução BSA 1% em PBS, pH 7,4, em câmara úmida a 4 ° C por 18 horas. Após lavagem em tampão PBS por 3 vezes, foi utilizado o método da estreptavidina ligada à biotina seguindo com incubação com anticorpo secundário biotilado (kit LSAB – Dako, Glostrup, Denmark) em câmara úmida à temperatura ambiente por 30 minutos. Após a nova lavagem em tampão PBS, pH 7,4 por 3 vezes, foi realizada a incubação com o complexo streptavidina-biotina peroxidase (kit LSAB-Dako, Glostrup, Denmark) em câmara úmida à temperatura ambiente por 30 minutos.

As lâminas foram lavadas com solução tampão PBS pH 7,4 e a reação revelada com 60mg de Diaminobenzidina (DAB – Sigma, USA) diluído em 100mL de PBS pH 7,2-7,6, acrescido de 2mL de peróxido de hidrogênio a 3% à temperatura ambiente por 5 minutos.

Posteriormente, foram lavadas em água corrente e contra-coradas utilizando-se hematoxilina de Harris. As lâminas foram lavadas em água corrente, passadas em três banhos de etanol absoluto, três banhos de xilol e montadas com lamínulas e resina Entellan (Sigma) para análise em microscopia óptica comum.

Foram utilizados controles positivos e negativos para cada reação realizada.

A imunoexpressão positiva para galectina-3 foi identificada pela presença de precipitado castanho-escuro no citoplasma das células do tecido colorretal. Os casos foram classificados quanto à quantidade de células positivas em 1 e 2, sendo:

- 1 (negativo a fraco): de nulo até 50% das células do total da lâmina apresentando coloração castanho-escuro.
- 2 (moderado a forte): mais de 50% das células apresentando a mesma pigmentação.

III.3 - Estatística

As variáveis categóricas foram apresentadas de forma descritiva em tabelas contendo freqüências absolutas e relativas. As variáveis contínuas de distribuição Normal foram descritas utilizando-se média e desvio padrão. O teste de Kolmogorov-Smirnov (Zar, 1984) foi aplicado para testar a normalidade de variáveis quantitativas. Associação entre duas variáveis categóricas foi testada utilizando-se teste Qui-Quadrado (Walker, 2002). Variáveis quantitativas foram comparadas entre dois grupos independentes utilizando-se teste t de Student para amostras independentes (Walker, 2002).

Todas as probabilidades de significância (valores de p) apresentadas são do tipo bilateral e valores menores que 0,05 são considerados estatisticamente significantes. Valores de p entre 0,05 e 0,10 foram considerados marginalmente significantes. O software SAS 9.1.3 (Statistical Analysis System, Cary, NC, USA) foi utilizado na análise estatística de dados.

IV - RESULTADOS

Sexo dos Pacientes

No que se refere à distribuição quanto ao sexo, a amostra consiste em 75 pacientes, 35 (46,67%) do sexo masculino e 40 (53,33%) do sexo feminino.

A Tabela 2 apresenta a distribuição dos pacientes por sexo.

TABELA 2 - Distribuição dos pacientes com câncer colorretal segundo sexo

Sexo	N	%
masculino	35	46,67
feminino	40	53,33
total	75	100

Idade dos Pacientes

As idades dos pacientes variaram, entre 29 e 86 anos, com média de 61,98 anos. A Tabela 3 apresenta a média, maior e menor idade e diferença entre grupos de maior e menor idade que 50 anos.

TABELA 3 - Média e outras variáveis da idade dos pacientes com câncer colorretal

	N	%
≤ 50 anos	16	21,33
> 50 anos	59	78,67
maior idade	86	
menor idade	29	
média	61,98	
mediana	64	
desvio padrão	12,24	

Kolmogorov-Smirnov test: aceito Normal ($p= 0,485$)

Localização do tumor

Quanto à distribuição dos tumores no cólon e reto, 25 (33,4%) eram de cólon direito, 18 (24%) de cólon esquerdo, e 32 eram de reto (42,6%). A tabela 4 mostra os valores e as porcentagens.

TABELA 4 - Distribuição quanto à localização do tumor colorretal

Localização no Cólon	N	%
direito	25	33,4
esquerdo	18	24,0
reto	32	42,6
total	75	100

Classificação histopatológica

A amostra foi classificada também pelo grau de diferenciação: 30 (40%) adenocarcinomas bem diferenciados, 40 (53,33%) moderadamente e 5 (6,66%) pouco diferenciados. A tabela 5 mostra a distribuição quanto a classificação histopatológica.

TABELA 5 - Distribuição quanto à classificação histopatológica da diferenciação do tumor colorretal

Classificação	N	%
bem diferenciado	30	40
mod. diferenciado	40	53,33
pouco diferenciado	5	6,66
total	75	100

Estádio dos Pacientes

Na amostra estudada 33 pacientes eram estágio II (44%), 32 estágio III (42,67%) e 10 pacientes estágio IV (13,33%). A tabela 6 apresenta os dados.

TABELA 6 - Distribuição dos pacientes com câncer colorretal segundo estágio clínico

Estádio	N	%
II	33	44,0
III	32	42,67
IV	10	13,33
total	75	100

Situação atual dos pacientes

A Tabela 7 apresenta a situação atual dos pacientes ao final do estudo: 47 (62,67%) estão vivos sem doença (VSD), 19 (25,33%) vivos com doença (VCD) e 9 (12%) faleceram. A média de tempo de acompanhamento foi de 39 meses, variando de 1 a 84 meses.

TABELA 7 - Distribuição dos pacientes com câncer colorretal pelo estado atual

Sobrevida	N	%
VSD	47	62,67
VCD	19	25,33
OPD	9	12
total	75	100

VSD: vivo sem doença

VCD: vivo com doença

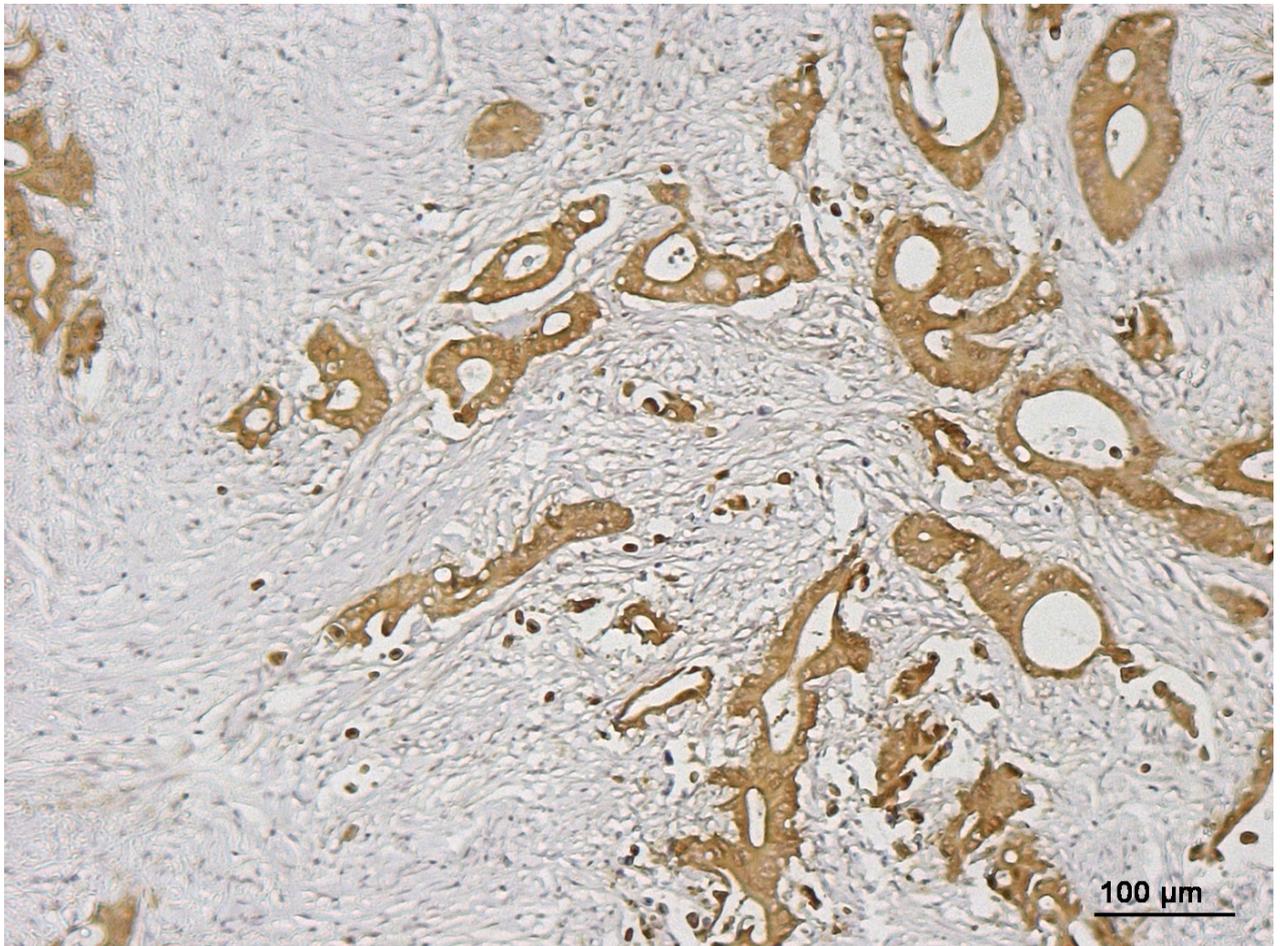
OPD: óbito pela doença

IV.1 - Resultados Obtidos em relação a proteína galectina-3

FOTOMICROGRAFIA 1 – Tecido neoplásico colorretal corado com HE mostrando imunopositividade para proteína galectina-3.

A imunopositividade é identificada pela presença de precipitado castanho escuro no citoplasma das células.

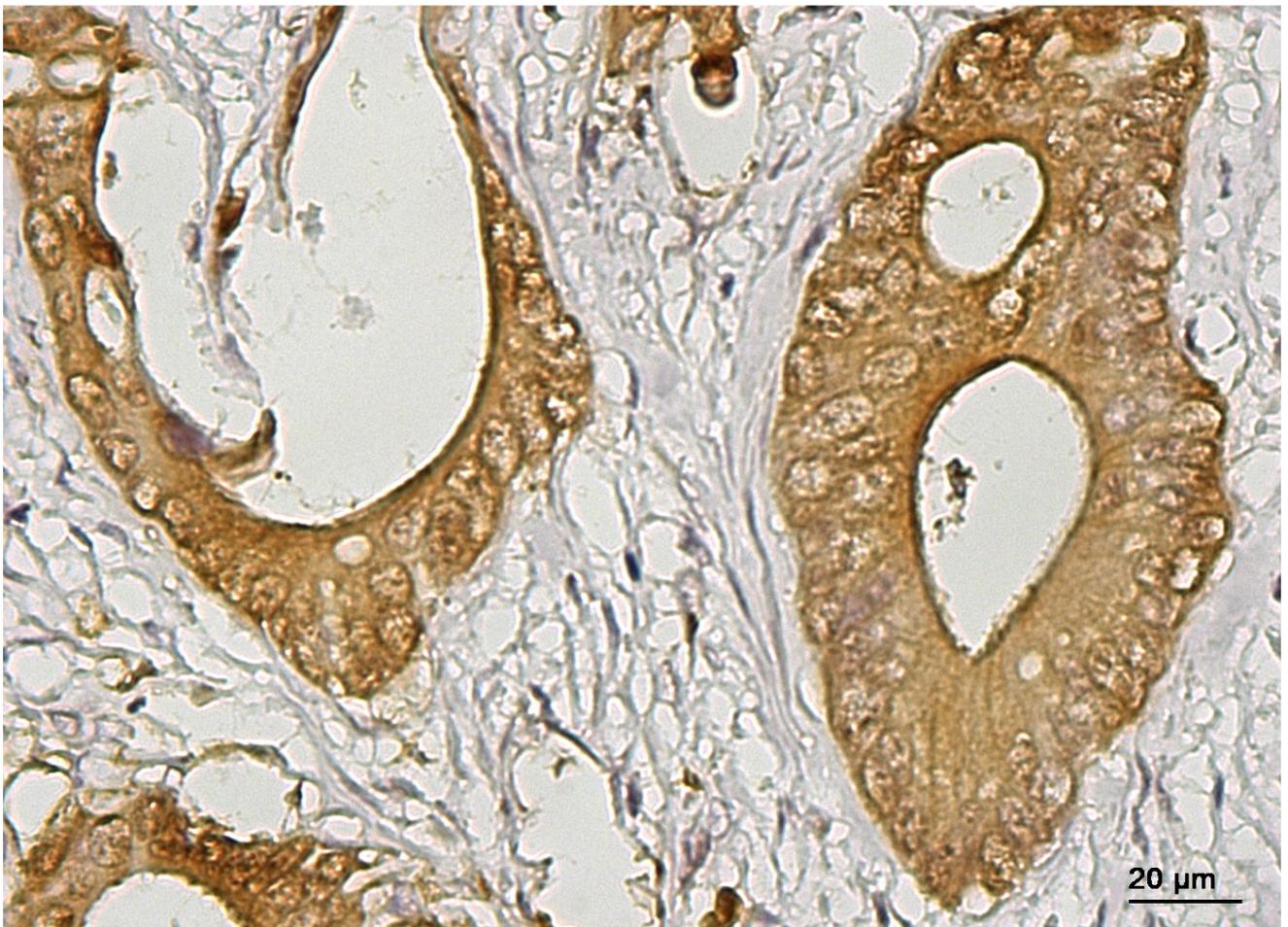
Aumento de 100x em microscopia óptica comum.



FOTOMICROGRAFIA 2 – Tecido neoplásico colorretal corado com HE mostrando imunexpressão positiva para proteína galectina-3.

A imunexpressão positiva é identificada pela presença de precipitado castanho escuro no citoplasma das células.

Aumento de 400x em microscopia óptica comum.



Distribuição da proteína galectina-3 na amostra

Na tabela 8 observa-se a distribuição da galectina-3 entre os pacientes. Quarenta e três (57,33%) tumores apresentaram coloração negativa ou fraca (classificadas como 1) e 32 (42,67%) classificação 2, ou moderado a forte.

TABELA 8 - Distribuição dos tumores colorretais quanto à classificação da proteína galectina-3

Classificação	N	%
1	43	57,33
2	32	42,67
total	75	100

Relação da proteína galectina-3 com idade

A proteína galectina-3 não apresentou associação ($p=0,2155$) com a idade (maior ou menor que 50 anos), como mostramos na Tabela 9.

TABELA 9 - Relação da idade dos pacientes com câncer colorretal e a expressão da proteína galectina-3

Idade	Classificação				Total
	1		2		
	N	%	N	%	N
≤ 50	7	43,75	9	56,25	16
> 50	36	61,02	23	38,98	59
total	43		32		75

Teste qui-quadrado $p= 0,2155$

Relação da proteína galectina-3 com sexo

A tabela 10 mostra a relação da proteína galectina-3 com os sexos, sem mostrar diferença estatística.

TABELA 10 - Relação entre a proteína galectina-3 e sexo dos pacientes com câncer colorretal

Sexo	Classificação				Total
	1		2		
	N	%	N	%	
masculino	19	54,29	16	45,71	35
feminino	24	60,0	16	40,0	40
total	43		32		75

Teste qui-quadrado $p=0,6177$

Relação da proteína galectina-3 com local do tumor

A tabela 11 mostra a relação da proteína galectina-3 com a localização do tumor, sem mostrar diferença estatística.

TABELA 11 - Relação entre a proteína galectina-3 e local do tumor

Local	Classificação				Total
	1		2		
	N	%	N	%	N
cólon D	16	64,0	9	36,0	25
cólon E	11	61,12	7	38,88	18
reto	16	50	16	50	32
total	43		32		75

Teste qui-quadrado p= 0,532

Relação da proteína galectina-3 com a classificação histológica do tumor

A tabela 12 mostra a relação da proteína galectina-3 com o grau de diferenciação do tumor sem mostrar diferença estatística.

TABELA 12 - Relação da proteína galectina-3 com a classificação histológica

Classificação	Classificação				Total
	1		2		
	N	%	N	%	
bem dif.	19	63,33	11	36,66	30
mod. dif.	21	52,50	19	47,50	40
pouco dif.	3	60	2	40	5
total	43		32		75

Teste qui-quadrado $p=0,583$

Relação da proteína galectina-3 com estágio clínico dos pacientes com câncer colorretal

A relação da galectina-3 e o estágio da doença não mostrou relação estatística significativa (tabela 13).

TABELA 13 - Relação entre a proteína galectina-3 e estágio clínico da doença

Estádio	Classificação				Total
	1		2		
	N	%	N	%	
II	20	60,61	13	39,39	33
III	19	59,38	13	40,63	32
IV	4	40,0	6	60,0	10
total	43		32		75

Teste qui-quadrado p= 0,4899

Relação da proteína galectina-3 com a sobrevida dos pacientes com câncer colorretal

A tabela 14 mostra a relação da sobrevida clínica dos doentes (Vivo Sem Doença, Vivo Com Doença e Óbito) com a classificação da proteína galectina-3. Notamos associação entre as variáveis galectina-3 e sobrevida dos pacientes. Os pacientes com classificação 1 (fraca ou nula) tiveram sobrevida maior (65,96%). Em comparação os classificados como galectina-3 forte ou moderado (2) tiveram maior porcentagem de óbito pela doença (77,78%).

TABELA 14 - Relação da proteína galectina-3 com sobrevida dos pacientes com câncer colorretal

Sobrevida	Classificação				Total
	1		2		
	N	%	N	%	
VSD	31	65,96	16	34,04	47
VCD	10	52,63	9	47,37	19
OPD	2	22,22	7	77,78	9
total	43		32		75

Teste qui-quadrado p= 0,0465

VSD – vivo sem doença
VCD – vivo com doença
OPB – óbito pela doença

Relação da proteína galectina-3 com a presença ou ausência de metástases

Do total de pacientes, 30 apresentaram metástases (sendo que a distribuição da galectina-3 foi proporcional para ambos os valores). Dos doentes que não apresentavam metástases, 28 eram negativos ou fracamente positivos (1) e 17 eram forte ou moderadamente positivos (2). A tabela 15 mostra esses valores e suas porcentagens.

TABELA 15 - Relação da proteína galectina-3 com a presença ou ausência de metástases

Metástases	Classificação				Total
	1		2		
	N	%	N	%	N
sim	15	50	15	50	30
não	28	62,22	17	37,78	45
total	43		32		75

Teste qui-quadrado $p=0,2944$

IV.2 - Análise de regressão múltipla de Cox

Ao nível de significância de 5% observou-se redução marginalmente significativa no risco de morte para pacientes com classificação 1 comparando-os com pacientes com classificação 2 após ajustar pelas variáveis idade, sexo, local, estágio em análise de regressão múltipla de Cox.

(RR_{ajustado}=0.210 IC 95%_{0.037 – 1.202} p=0,0795).

TABELA 16 - Análise de regressão múltipla de Cox

Variável	Desvio Padrão	Qui-quadrado	P	RR	Intervalo de Confiança (IC 95%)	
idade	0,03320	2,4034	0,1211	0,950	0,890	1,014
sexo	0,79945	0,0381	0,8452	1,169	0,244	5,601
cólon D	1,09445	0,0489	0,8250	0,785	0,092	6,706
cólon E	0,94152	0,6086	0,4353	2,084	0,329	13,195
estádio II	0,85335	0,4311	0,5114	0,571	0,107	3,041
estádio III	1,17653	0,1266	0,7220	1,520	0,151	15,250
galectina-3	0,88991	3,0753	0,0795	0,210	0,037	1,202

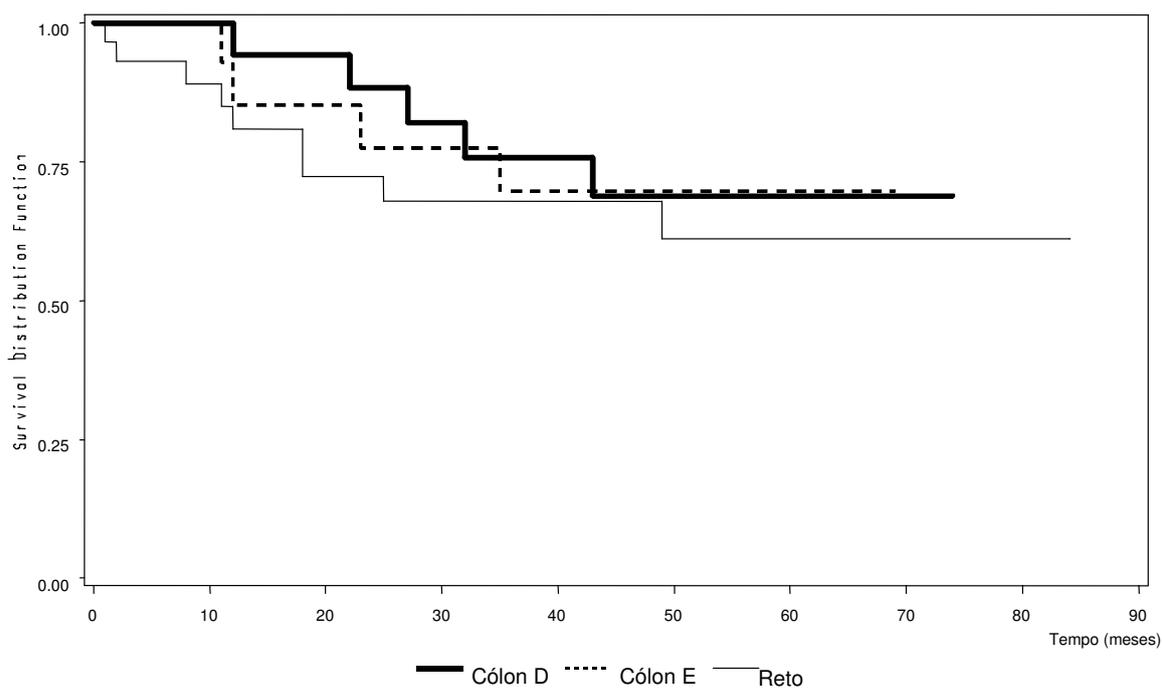
RR: razão de risco

IV.3 - Curvas de Sobrevida

Curva de sobrevida e localização do tumor

No gráfico 1 vemos a relação entre a localização da neoplasia (cólon direito, esquerdo e reto) e a sobrevida em 5 anos dos pacientes com câncer colorretal. Não houve diferença estatística ($p= 0,6361$).

GRÁFICO 1 – Curva de sobrevida em 5 anos em relação à localização da neoplasia dos pacientes com câncer colorretal

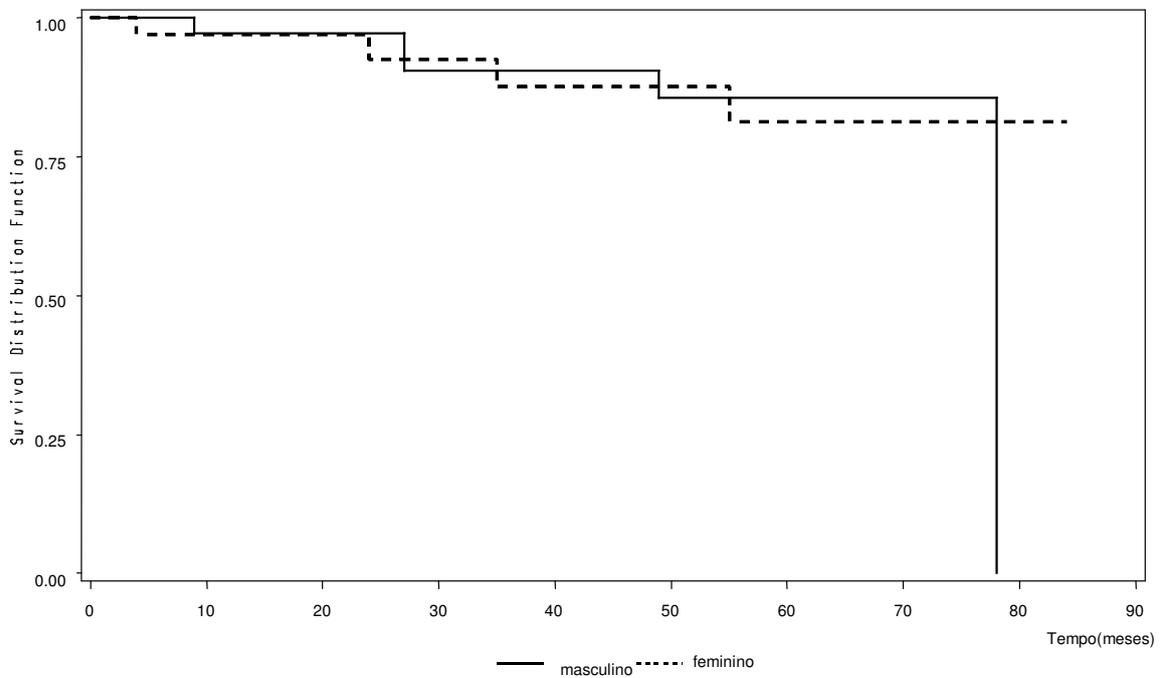


Curva de sobrevida de Kaplan-Meier $p = 0,6361$

Curva de sobrevida em relação ao sexo

Em relação ao sexo também não tivemos diferença estatística quanto à sobrevida, $p= 0,9828$.

GRÁFICO 2 – Curva de sobrevida em 5 anos em relação ao sexo dos pacientes com câncer colorretal

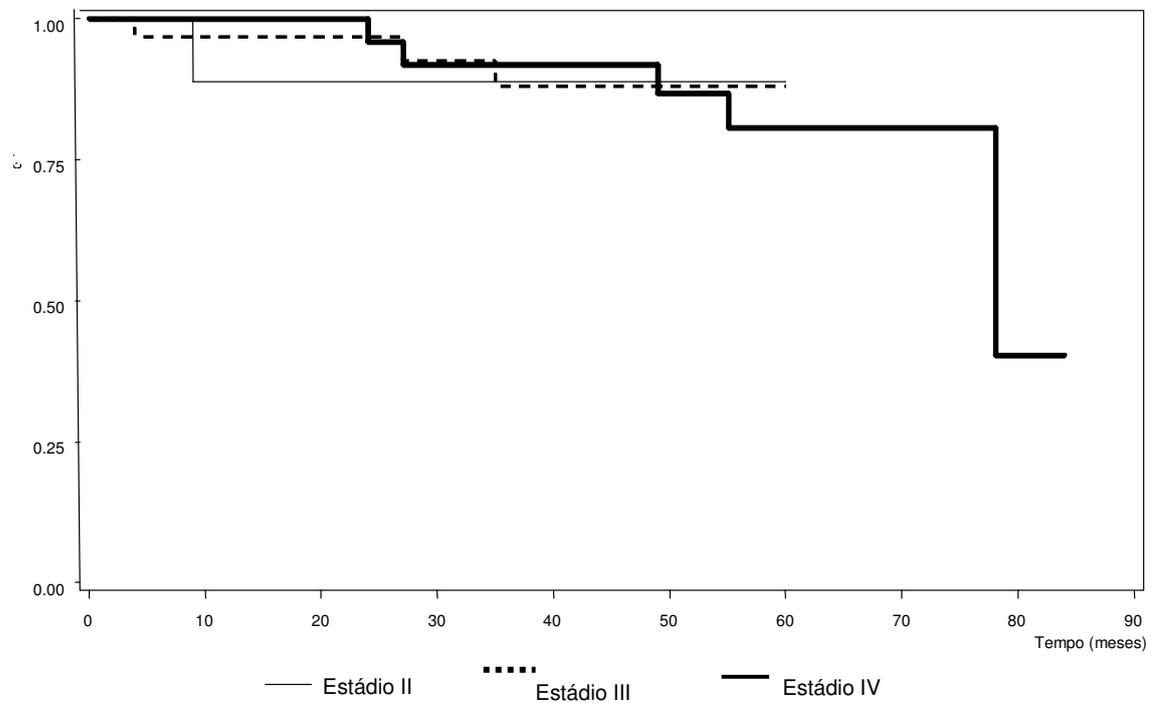


Curva de sobrevida de Kaplan-Meier $p = 0,828$

Curva de sobrevida em relação ao estágio clínico

O gráfico 3 mostra que não foi observada diferença estatística entre o estágio clínico dos pacientes e a sobrevida.

GRÁFICO 3 – Curva de sobrevida em 5 anos em relação ao estágio clínico

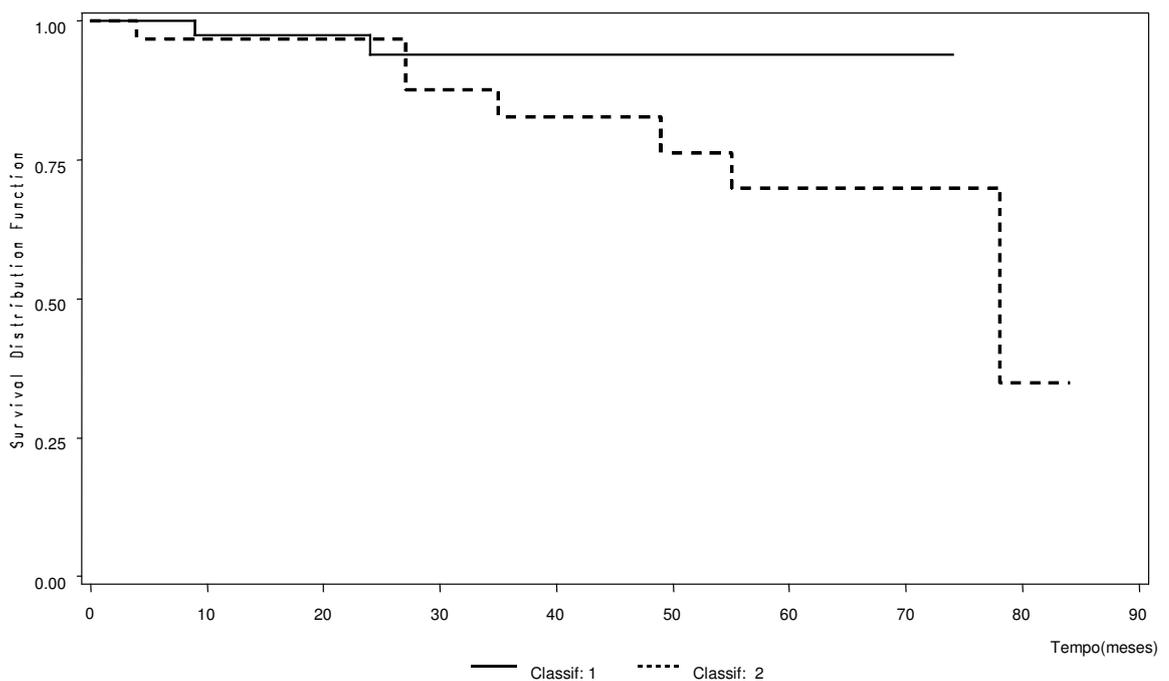


Curva de sobrevida de Kaplan-Meier $p = 0.8143$

Curva de sobrevida em relação à imunexpressão da galectina-3

Em relação à classificação da proteína galectina-3 com a sobrevida dos doentes notamos, no gráfico 4, uma diferença marginalmente significativa entre os grupos de galectina negativa ou pouco positiva (1) e o grupo de galectina fortemente positiva (2).

GRÁFICO 4 – Curva de sobrevida em 5 anos em relação à classificação da galectina-3



Curva de sobrevida de Kaplan-Meier $p = 0.0566$

V – DISCUSSÃO

O câncer colorretal é um das neoplasias mais freqüentes do mundo ocidental. A sua incidência é provavelmente associada a fatores dietéticos, como alta ingestão de gorduras e álcool, e baixa ingestão de fibras. Em associação, fatores genéticos e as doenças inflamatórias do intestino (Retocolite ulcerativa e doença de Crohn) aumentam os riscos de algumas pessoas desenvolverem câncer colorretal (Kayser e cols, 2002).

Analisando-se os prontuários, os pacientes do estudo estavam em fases de tratamento diferentes, alguns se encontravam em quimioterapia adjuvante ou paliativa, alguns já tinham recebido alta ambulatorial após cinco anos de acompanhamento e outros haviam falecido.

Neste estudo analisamos a imunoexpressão da proteína galectina-3 no câncer colorretal pela técnica de imunohistoquímica e sua relação com evolução clínica e sobrevida. A grande vantagem da imunohistoquímica é a realização com tecidos já retirados e emblocados em parafina, ao contrário de outras técnicas, como as de biologia molecular, que necessitam de armazenamento em nitrogênio líquido ou em freezers a - 80º C. Além disso, o custo de um estudo utilizando este método é menor. Por outro lado, as variações encontradas na expressão de cada proteína em um mesmo tecido, as dificuldades de padronização das técnicas de preservação dos tecidos, assim como da maioria dos testes de imunohistoquímica, dificultam a comparação entre os estudos.

Não foram incluídos pacientes estágio I pela padronização do grupo de pacientes estudado, uma vez que só utilizamos os dados de pacientes que realizaram tratamento quimioterápico.

A população estudada foi constituída de 75 indivíduos com câncer colorretal, os pacientes estudados tiveram em média 61,98 anos, que equivale à média apresentada na literatura, como sendo a sexta década de vida a mais incidente de câncer colorretal (INCA, 2008 e Jemal e cols, 2007). A proporção entre os sexos foi semelhante, com uma variação não estatisticamente significativa, como observamos em outros estudos publicados, inclusive na própria instituição (Jemal e cols, 2007; Roque e Forones, 2006). Essa igualdade é possivelmente explicada pelas semelhanças entre dietas e hábitos de vida de ambos os sexos.

Quanto à localização do tumor, em nosso estudo, verificamos que a maioria localizou-se no lado esquerdo (cólon esquerdo e reto), mantendo a proporção estudada também por outros autores, como Goldberg (2000) e DeVita e cols (2005).

Em relação ao grau de diferenciação celular obtivemos amostras semelhantes em número de bem diferenciadas e moderadamente diferenciadas. Apenas 7% da nossa amostra foram pouco diferenciadas. Os dados de literatura sobre as diferenças em relação à diferenciação celular dos tecidos tumorais é um tema controverso devido à variação observada entre patologistas quanto à avaliação. Como Harms e cols em 2000 descreveram, numa mesma amostra de tumor, a concordância quanto ao grau de diferenciação entre três patologistas diferentes será apenas de 44%.

A média de tempo de acompanhamento de nossos pacientes foi de 39 meses, tendo variado de 1 mês a 84 meses.

Em nosso estudo, obtivemos uma amostra semelhante de pacientes com tumores estádios II e III, e 13,33% estágio IV, metastáticos ao diagnóstico. A alta sobrevida no estágio IV foi em decorrência do grupo escolhido de pacientes para o estudo. Todos os pacientes com tumores estágio IV tinham tido o tumor primário e a(s) metástase(s) ressecados para manter a igualdade em relação à realização de quimioterapia com os estádios II e III. A sobrevida mostrada pelo nosso grupo estágio IV vai de encontro ao estudado por Fong e cols em seu trabalho de 1999, onde mostra que os tumores de cólon estágio IV com ressecção da metástase hepática têm melhor sobrevida comparada aos pacientes estágio IV sem ressecção da metástase. Fong e cols obtiveram sobrevida em 5 anos de 37%, e em 10 anos de 22%.

Todos os indivíduos foram submetidos à quimioterapia com 5-fluorouracil e ácido folínico por 5 dias a cada 28 dias, por infusão em bolus, por 6 meses. Embora outros esquemas quimioterápicos com drogas mais ativas como a oxaliplatina e o irinotecano foram aos poucos sendo prescritas em nosso serviço, optamos por incluir pacientes que tivessem usado as mesmas drogas para que se evitasse analisar de forma equivocada resultados entre imunexpressão da proteína galectina-3 e evolução da doença. Este fator de inclusão não foi difícil de ser mantido, porque durante muito tempo, estas

drogas eram as únicas padronizadas nas instituições públicas no tratamento do câncer colorretal avançado.

A galectina-3 foi estudada também em outros tumores, como tireóide, e no sistema digestório, em pâncreas, esôfago e estômago. Sendo útil em alguns casos na confirmação diagnóstica e em outras como marcador de prognóstico. Na maioria das vezes esta proteína é estudada no tecido tumoral, por imunohistoquímica ou por biologia molecular, mas alguns autores como Iurisci e cols (2000) pesquisaram os níveis desta proteína no soro.

Iurisci e cols (2000) determinaram os níveis de galectina-3 no soro de pacientes com diversos tipos de câncer (mama, gastrointestinal, pulmão, ovário, melanoma e linfoma não Hodgkin) e compararam aos níveis encontrados em pacientes saudáveis. Entre os 99 indivíduos estudados, baixos níveis de galectina-3 foram observados na população sem câncer (média de 62ng/ml) quando comparados a indivíduos com câncer ($p=0,014$). Também pacientes com doença metastática tinham níveis mais altos desta proteína sérica (média de 320 ng/ml) em relação aos pacientes com doença localizada. Os autores concluem que a galectina-3 circulante possa ser útil no diagnóstico de progressão tumoral e sugerem a possibilidade de se estudar a galectina-3 sérica na detecção precoce de tumores.

Rosa e cols em 2005 mostraram associação entre carcinoma de tireóide e expressão de galectina-3 no tecido. O estudo foi feito analisando-se 66 casos de neoplasias epiteliais foliculares e os resultados mostraram sensibilidade de 60%, especificidade de 83%, 91% de valor preditivo positivo e 42% de valor preditivo negativo. Com esse trabalho Rosa e cols concluíram que o estudo desta proteína pode ajudar no diagnóstico de carcinoma de tireóide de interpretação duvidosa, possibilitando diagnóstico diferencial entre adenomas e câncer.

Em esôfago foi demonstrado que a expressão de galectina-3 no núcleo de células tumorais pode ser um parâmetro biológico importante relacionado ao prognóstico. Tumores indiferenciados ($p=0,0064$) e com invasão vascular ($p=0.030$) apresentaram maior expressão da proteína em pacientes com câncer de células escamosas (Shimamura e cols, 2002).

No adenocarcinoma de pâncreas, Shimamura e cols, em 2002 estudaram 104 tumores ressecados cirurgicamente e analisaram a expressão

da proteína galectina-3 de acordo com a intensidade da coloração citoplasmática. A expressão da mesma foi menor nos tumores avançados. Os autores correlacionaram esta proteína com o estágio T ($p=0.01$), com o comprometimento linfonodal ($p=0.04$), com a presença de linfonodos ($p=0.001$) e com a diferenciação tumoral ($p=0.006$). A sobrevida também foi pior no grupo com expressão baixa de galectina-3 ($p=0.004$).

No câncer colorretal, à semelhança do observado no câncer de esôfago, e ao contrário do observado no câncer de pâncreas, a maior expressão da galectina-3 parece estar relacionada à pior prognóstico. Legendre e cols (2003) em um trabalho com câncer colorretal mostraram que o valor prognóstico da galectina-3 está no componente epitelial do tumor em estádios iniciais deste câncer. Estudaram 99 tecidos tumorais, e mostraram que níveis aumentados de galectina-3 foram associados a pior prognóstico em estádios clínicos iniciais de câncer colorretal, Dukes A e B ($p=0,002$), mas não nos estádios clínicos mais avançados (Dukes C e D).

Na análise da distribuição dos tumores de nosso estudo, em relação à positividade da galectina-3, verificamos que pouco mais que a metade (57,33%) teve coloração fraca ou nula e o restante moderada ou forte. Não observamos relação entre a imunoexpressão de galectina e sexo, idade, localização ou grau de diferenciação. Em relação ao estágio clínico, 60% dos tumores estágio II tiveram coloração fraca ou nula 1 de galectina-3 enquanto entre os tumores estágio IV este percentual foi de 40%. Entre os pacientes que não desenvolveram metástases também observamos menor percentual de tumores com coloração forte ou moderada da proteína. No entanto estas diferenças não foram estatisticamente significantes ($p=0,4899$ e $p=0,6620$ respectivamente). A relação entre o estágio clínico dos pacientes e o resultado obtido na coloração da galectina-3 mostrou que os tumores estádios II e III apresentaram uma coloração citoplasmática mais clara ou nula mais freqüentemente enquanto no estágio IV, ocorreu o inverso. Possivelmente não houve significância estatística devido ao número pequeno de tumores estágio IV, ou ainda pelo fato destes tumores embora metastáticos, serem lesões únicas e passíveis de ressecção, portanto de melhor prognóstico.

Nossos resultados foram semelhantes aos descritos anteriormente por Sanjuán e cols de 1997 e Schoeppner e cols em 1995.

SanJuán e cols em 1997 estudaram a galectina-3 no núcleo e no citoplasma de tecidos de câncer colorretal e também em tecidos de adenoma e de mucosa normal. Os achados foram discordantes aos descritos para câncer de pâncreas. A expressão no citoplasma foi maior nos tumores avançados. Porém no núcleo ocorreu o inverso, quanto mais tardio o estágio do tumor, mais negativa foi a expressão da galectina-3. Seus resultados indicaram que as expressões da galectina-3 no citoplasma e no núcleo não são paralelas na progressão do câncer colorretal e que possivelmente tenham significados biológicos diferentes. Os autores encontraram imunopositividade no citoplasma (fortemente positivo) em 64% dos cânceres colorretais estudados, representando um percentual maior quando comparado com a mucosa normal. Também quando os carcinomas foram estratificados de acordo com o estágio houve relação estatisticamente significativa entre estágio clínico, e expressão da galectina-3 no citoplasma. Nos estádios mais avançados (III e IV) a expressão da galectina-3 foi mais freqüente (76%) quando comparada com os estádios iniciais (I e II) e esta diferença foi estatisticamente significativa. No entanto, não houve diferença entre imunexpressão da proteína galectina-3 e tempo livre de doença ou sobrevida.

Optamos pelo estudo da galectina-3 no citoplasma porque é a forma mais comumente estudada desta proteína nos tumores. Para comparação com o trabalho de SanJuán e cols, fizemos a análise da proteína galectina-3 no núcleo das células dos tecidos de câncer colorretal de nosso estudo. Como SanJuán e cols (1997) não obtivemos significância estatística em relação à sobrevida ($p=0,311$). A relação entre a proteína galectina-3 e o estágio clínico da doença em nosso trabalho, porém, não apresentou significância estatística ($p=0,133$).

Em nosso estudo observamos uma diferença marginalmente significativa na diminuição do risco de morte entre os doentes com tumores classificação 1 quando comparado com os de classificação 2 ($p=0,0795$). Em relação à expressão da galectina-3 e evolução da doença, o percentual de tumores positivos fortes e moderados entre os óbitos foi de 78%, contra 47% nos vivos com doença e menor nos vivos sem doença (34%), sendo estatisticamente significativa com $p=0,0465$.

Nossos resultados também vão de encontro ao mostrado por Schoeppner e cols em 1995 que encontraram maior sobrevida nos pacientes com tumores grau 1 em relação aos graus 2 e 3 ($p= 0,021$). Estes autores atribuem a dificuldade de se obter resultados estatisticamente significantes à heterogeneidade da expressão da galectina-3 no câncer colorretal. Essa heterogeneidade, enfatizam os mesmos, é freqüente no câncer colorretal humano, e por isso os estudos realizados com esse material devem ser realizados com um grande número de amostras de tecido. Também dão como explicação para o fato de terem obtido dados estatísticos significativos o fato de terem usado um método semiquantitativo de classificação histopatológica, com uma média numérica da coloração apresentada pelo tecido.

Apesar dos avanços, no câncer colorretal o estágio clínico é na prática diária o único determinante do prognóstico e da necessidade de tratamento quimioterápico e/ou radioterápicos complementares. Novos marcadores teciduais que possam auxiliar na avaliação prognóstica ou mesmo contribuir na elaboração de medicações alvo poderão auxiliar o médico e o paciente.

VI – CONCLUSÕES

1. A imunexpressão de galectina-3 foi moderada ou forte em 42% dos tumores colorretais, sendo nas demais fraca ou nula.
2. Não se observou correlação entre a imunexpressão de galectina-3 e sexo, idade, estágio, local e presença de metástases.
3. Pacientes com imunexpressão forte ou moderada de galectina-3 em maiores proporções foram a óbito ou evoluíram com recorrência.
4. Observou-se redução marginalmente significativa do risco de morte entre os pacientes com galectina-3 fraca ou nula quando comparado com tumores de pacientes com galectina-3 forte ou moderada.

VII.1 - Carta de Aprovação do Comitê de Ética Institucional



Universidade Federal de São Paulo
Escola Paulista de Medicina

Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital São Paulo

São Paulo, 29 de julho de 2005
CEP 0827/05

Ilmo(a). Sr(a).

Pesquisador(a) LUCIANA ZAIA DELLA NEGRA POVEGLIANO

Co-Investigadores: Ricardo Artigiani Neto, Nora Monoukian Forones (orientadora)
Disciplina/Departamento: Gastroenterologia/Medicina da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo

Patrocinador: Recursos Próprios.

PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA INSTITUCIONAL

Ref: Projeto de pesquisa intitulado: “**Estudo da expressão de TS, p-53 e E2F-1 em pacientes com câncer colorretal**”.

CARACTERÍSTICA PRINCIPAL DO ESTUDO: Retrospectivo, com material estocado.

RISCOS ADICIONAIS PARA O PACIENTE: Sem risco, desconforto mínimo, sem procedimento invasivo.

OBJETIVOS: Avaliar a expressão da timidilato sintase, p53, DPD e E2F-1 em tecidos tumorais de pacientes com câncer colorretal. Correlacionar os níveis desses marcadores com o grau de resposta ao 5FU em pacientes com câncer colorretal.

RESUMO: Serão avaliados, retrospectivamente, 100 pacientes com câncer colorretal (CCR), quanto à evolução clínica após 3 anos e sub-divididos em 5 grupos, de acordo com o estágio da doença (estádio II, III, IV), submetidos à quimioterapia adjuvante com 5FU, com ou sem sinais de recorrência. Doentes com CCR em estágio IV será avaliado o percentual de resposta e a sobrevida. Será empregado o método imuno-histoquímico para avaliação de TS, p53 e E2F-1. A expressão das proteínas TS e p53 serão quantificadas pelo percentual de células positivas e as características das expressões das proteínas, se focal ou difusa. A expressão de E2F-1 será quantificada contando-se 2000 células por caso. Apenas o padrão nuclear é considerado positivo. As células tumorais mostrando padrão amarronzado serão consideradas positivas, independente da coloração.

FUNDAMENTOS E RACIONAL: Estudo fundamentado, visando avaliar a expressão de marcadores tumorais e correlacionar com a resposta à quimioterapia.

MATERIAL E MÉTODO: Serão utilizados blocos de parafina de material tumoral (apresenta carta de autorização do Departamento de Patologia da UNIFESP).

TCLE: Não apresenta TCLE.

DETALHAMENTO FINANCEIRO: Sem financiamento externo - R\$ 2000,00.

CRONOGRAMA: 12 meses.

OBJETIVO ACADÊMICO: Doutorado.

ENTREGA DE RELATÓRIOS PARCIAIS AO CEP PREVISTOS PARA: **29/7/2006 e 29/7/2007.**



O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo **ANALISOU** e **APROVOU** o projeto de pesquisa referenciado.

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e termo de consentimento livre e esclarecido. Nestas circunstâncias a inclusão de pacientes deve ser temporariamente interrompida até a resposta do Comitê, após análise das mudanças propostas.
2. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento do estudo.
3. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.

Atenciosamente,

Prof. Dr. José Osmar Medina Pestana
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da
Universidade Federal de São Paulo/ Hospital São Paulo

-

-



São Paulo, 1 de abril de 2008.

CEP 0827/05
CONEP

Ilmo(a). Sr(a).

Pesquisador(a) LUCIANA ZAIA DELLA NEGRA POVEGLIANO

Disciplina/Departamento: Gastroenterologia/Medicina da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo

Ref: Projeto de pesquisa agora intitulado: **“Imunoexpressão da proteína galectina-3 no câncer colorretal e sua relação com sobrevida”**.

Prezado(a) Pesquisador(a),

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo **ANALISOU** e **APROVOU Emenda 1 (versão de 26/fev/2008)** do projeto de pesquisa acima referenciado.

Atenciosamente,

Prof. Dr. José Osmar Medina Pestana

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da
Universidade Federal de São Paulo/ Hospital São Paulo

OBS: Informamos que, de acordo com a carta Circular nº 003-CONEP/CNS de 14 de fevereiro de 2001 não há necessidade do parecer da CONEP para emendas aos protocolos, salvo quando o CEP solicitar. Nos projetos de Grupo I e II, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las à ANVISA junto com o parecer aprobatório do CEP/UNIFESP.

"Ressaltamos que é de essencial importância que seja verificado, antes da divulgação dos processos e/ou resultados obtidos nesta pesquisa, se os mesmos são potencialmente patenteáveis ou passíveis de outras formas de proteção intelectual/industrial. A proteção por meio do depósito de patente, ou de outras formas de proteção da propriedade intelectual, evita a ação indevida de terceiros e confere maior segurança quando da publicação dos resultados da pesquisa."

VII.2 - Características dos pacientes com câncer colorretal estudados

PACIENTE	SEXO	DIAGNOSTICO	IDADE (em anos)	LOCAL	GRAU	ESTADIO	GALECTINA-3	SITUAÇÃO	T.ACOMP. (meses)
1	F	02/2000	43	R	mod	III	2	VSD	5
2	M	05/1999	70	R	bem	III	1	VSD	29
3	M	09/1998	59	R	bem	III	1	VCD	52
4	M	09/1999	75	R	mod	III	1	VSD	41
5	M	07/1998	86	R	mod	II	1	VCD	19
6	F	06/1999	71	R	pouco	IV	2	VCD	56
7	M	05/2001	55	D	mod	III	2	VSD	40
8	M	09/1997	63	E	bem	II	2	OBITO	78
9	M	08/2000	46	D	pouco	II	1	VSD	60
10	M	12/1998	69	R	mod	IV	2	VCD	17
11	M	05/1997	74	E	bem	II	2	VSD	47
12	M	11/2000	59	R	mod	III	1	VSD	13
13	F	01/2001	49	D	mod	III	1	VSD	55
14	M	09/2000	56	R	mod	II	1	VSD	6
15	F	04/1997	51	R	mod	II	1	VSD	60
16	M	04/1998	41	D	mod	IV	1	VCD	16
17	F	07/1998	71	R	bem	III	1	VCD	15
18	F	10/1998	59	E	bem	III	1	VSD	51
19	F	03/1999	50	R	pouco	III	2	OBITO	4
20	M	10/2000	73	E	bem	II	1	VSD	55
21	M	02/2000	64	E	bem	III	1	VSD	46
22	F	09/1999	66	D	bem	IV	1	VCD	1
23	F	09/1998	74	R	bem	II	1	OBITO	24
24	F	06/1997	73	R	bem	II	1	VSD	42
25	F	01/2001	49	D	mod	III	2	VSD	3
26	M	08/1999	37	E	mod	III	2	VSD	60
27	F	06/1998	69	R	mod	II	2	VSD	60
28	M	04/1998	60	E	mod	III	2	VSD	60
29	M	07/1997	74	E	mod	III	1	VSD	60
30	M	08/1998	79	E	bem	II	1	VSD	8
31	M	07/1997	68	E	bem	III	1	VCD	47
32	M	01/1998	59	E	mod	II	1	VSD	11
33	F	04/1997	63	D	mod	III	1	VCD	60
34	M	06/2000	49	R	bem	II	2	VSD	5
35	F	04/1998	51	E	mod	II	2	OBITO	55
36	F	05/1997	72	D	pouco	IV	1	VCD	60
37	F	10/1999	77	D	mod	III	1	VSD	23
38	F	10/1997	82	E	bem	III	1	VSD	4
39	M	09/1997	51	D	mod	III	1	VSD	60
40	M	06/1998	72	R	bem	III	2	VCD	15
41	M	09/1998	59	D	mod	III	1	VCD	44
42	M	04/2000	35	R	mod	IV	1	OBITO	9
43	M	08/1998	67	R	bem	II	2	VSD	18
44	M	02/2000	47	R	mod	III	2	VCD	39
45	M	11/1997	71	E	mod	III	1	VSD	60
46	M	01/2000	68	E	mod	II	2	VSD	69

PACIENTE	SEXO	DIAGNOSTICO	IDADE (em anos)	LOCAL	GRAU	ESTADIO	GALECTINA-3	SITUAÇÃO	T.ACOMP. (meses)
47	M	12/1998	48	D	bem	II	2	OBITO	49
48	M	11/1999	59	R	mod	II	1	VSD	41
49	M	11/2000	48	D	pouco	II	1	VSD	54
50	F	06/1999	75	R	bem	II	1	VSD	72
51	F	12/1999	70	D	mod	II	2	VSD	60
52	M	12/1998	73	R	mod	II	2	OBITO	27
53	M	12/1998	67	D	mod	III	2	OBITO	27
54	F	06/2000	75	D	bem	II	1	VCD	12
55	F	01/2001	51	D	bem	III	1	VSD	56
56	F	05/1999	76	D	mod	III	2	VSD	60
57	F	09/2000	51	E	bem	II	1	VSD	8
58	F	04/1998	62	R	bem	II	2	VSD	31
59	F	08/2000	50	E	mod	IV	2	VCD	10
60	F	08/1998	52	D	mod	II	1	VSD	53
61	F	07/1999	62	D	mod	II	1	VSD	74
62	F	08/1999	64	D	mod	IV	2	VCD	23
63	F	03/2001	79	D	mod	III	1	VSD	13
64	F	11/1997	73	R	bem	II	2	VSD	84
65	M	01/2000	77	R	bem	III	2	VSD	60
66	M	03/1998	78	R	bem	II	1	VSD	52
67	F	12/1996	65	R	bem	II	2	VCD	35
68	M	03/1998	70	R	bem	II	1	VSD	60
69	M	10/1998	47	R	bem	III	2	VSD	59
70	M	08/1998	29	D	mod	II	1	VSD	60
71	F	02/2000	60	R	mod	III	2	OBITO	35
72	F	01/1998	44	R	mod	III	1	VSD	60
73	F	06/1998	64	D	mod	IV	2	VCD	24
74	F	10/2000	60	D	mod	IV	2	VCD	11
75	M	11/1999	64	E	bem	II	1	VSD	60

Sexo: M – masculino F – feminino

Local: D – cólon direito E – cólon esquerdo R – reto

Grau: bem- bem diferenciado mod - moderadamente diferenciado pouco - pouco diferenciado

Situação clínica: VCD – vivo com doença VSD – vivo sem doença

T.ACOMP.: Tempo de acompanhamento

VIII – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alekshun T, Garrett C. Targeted Therapies in the treatment of colorectal cancers. *Cancer Control*. 2005;12(2):105-10.
- Astler VB, Collier FA. The prognostic significance of direct extension of carcinoma of the colon and rectum. *Ann Surg*. 1954; 139-46.
- Barondes SH, Castronovo V, Cooper DN, Cummings RD, Drickamer K, Feizi T, Gitt MA, Hirabayashi J, Hughes C, Kasai K et al. Galectins: a family of animal beta-galactoside-binding lectins. *Cell*. 1994; 76(4):597-8.
- Berg DT. *Emerging Prevention Strategies. Pocket guide to colorectal cancer*. Massachusetts. Jones and Bartlett Publishers, 2002; 69-86.
- Boyle P. Global burden of cancer. *Lancet*. 1997; 349: 23-6.
- Brasileiro Filho, G. *Bogliolo patologia geral*. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1998: 312.
- Castronovo V, Campo E, Van der Brule FA, Claysmith AP, Cioce V, Liu FR, Fernandez PL, Sobel ME. Inverse Modulation of steady-state messenger RNA levels of two non-integrin laminin-binding proteins in human colon carcinoma. *J Natl Cancer Inst*. 1992; 84: 1161-9.
- Castronovo V, Campo E, Van der Brule FA, Jackers P, Clausse N, Liu F, Gillet C, Sobel ME. Decreased expression of galectin-3 is associated with progression of human breast cancer. *J Pathol*. 1996; 179: 43-8.
- Compton CC. *The pathology report in colorectal cancer: A users guide*. Am Soc Clin Oncol, 2003, 39: 502-16.

- DeVita V, Hellman S, Rosenberg S. Cancer: Principles and Practices of Oncology. 7 ed. Philadelphia, PA: Lippincott-Raven, 2005.
- Diaz R E, Zaniboni A, Gastiaburu J. Phase II multicentric trial of oxaliplatin as first line chemotherapy in metastatic colorectal cancer. Proc Am Soc Clin Oncol 1996; 15: 468.
- Dukes CE. The classification of cancer of the rectum. J Pathol Bacteriol. 1932; 35:323-32.
- Dunic J, Dabelic S, Flogel M. Galectin-3: an open-ended story. Biochim Biophys Acta. 2006; 1760 (4): 616-35.
- Fong Y, Fortner J, Sun RL, Brennan MF, Blumgart LH. Clinical Score for Predicting Recurrence After Hepatic Resection for Metastatic Colorectal Cancer: Analysis of 1001 Consecutive Cases. Ann Surg 1999; 230(3): 309-21.
- Forones N, Giovanoni M. Câncer colorretal. Guia de Gastroenterologia. São Paulo. Editora Manole, 2007; 347-54.
- Goldberg RM. Gastrointestinal Tract Cancers. In Casciato DA, Lowitz BB. Manual of Clinical Oncology, 4 ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins. 2000: 182-94.
- Grem J. 5-Fluoropyrimidines. Cancer Chemotherapy and Biotherapy Principles and Practice. Philadelphia. Lippincott Raven, 1996; 149-211.
- Haller DG, Catalano PJ, Macdonald JS, et al. Phase III study of fluorouracil, leucovorin, and levamisole in high-risk stage II and III colon cancer: final report of Intergroup 0089. J Clin Oncol. 2005; 23:8671-8678.

- Harms BA, Grochow L, Niederhuber JE, Rittter MA. Colon and Rectum. In *Clinical Oncology*. 2 ed. Philadelphia. Churchill Livingstone. 2000: 1611-60.
- Hirabayashi J, Kasai K. The family of metazoan metal-independent beta-galactoside-binding lectins: structure, function and molecular evolution. *Glycobiology*. 1993; 3(4):297-304.
- Horn A, Morid I, Dahl O. Tumor shrinkage and down staging after preoperative radiation of rectal adenocarcinomas. *Radiother Oncol*. 1990; 18: 19-28.
- Instituto Nacional de Câncer – INCA (estimativa de incidência de câncer no Brasil para 2008) Rio de Janeiro. 2008. Citado em 20 de fevereiro de 2008. Disponível em <http://www.inca.gov.br/estimativa/2008>
- Inohara H, Raz A. Functional evidence that cell surface galectin-3 mediates homotypic cell adhesion. *Cancer Res*. 1995; 55 (15): 3267-71.
- Iurisci I, Tinari N, Natoli C, Angelucci D, Cianchetti E, Iacobelli S. Concentrations of galectin-3 in the sera of normal controls and cancer patients. *Clin Cancer Res*. 2000; 6: 1389-93.
- Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Thun MJ. Cancer Statistics, 2007. *CA Cancer J Clin*. 2007; 57: 43-66.
- Kayser K, Zink S, André S, Schuring MP, Hecker E, Klar E, Bovin NV, Kaltner H, Gabius HJ. Primary colorectal carcinomas and their intrapulmonary metastases: Clinical, glyco-, immuno- and lectin histochemical, nuclear and syntactic structure analysis with emphasis on correlation with period of occurrence of metastases and survival. *APMIS*. 2002; 110: 435-46.

- Kzreslak, A and Lipinska, A. Galectin-3 as a multifunctional protein (review). *Cell. Mol. Biol. Lett.* 2004; 9: 305-28.
- Legendre H, Decaestecker C, Nagy N, Hendlisz A, Scuring MP. Prognostic Values of Galectin-3 and the Macrophage Migration Inhibitory Factor (MIF) in Human Colorectal Cancers. *Mod Pathol.* 2003; 16 (5): 491-504.
- Liu FT, Patterson RJ, Wang JL. Intracellular functions of galectins. *Biochim Biophys Acta* 2002;1572: 263-73.
- Liu FT, Rabinovich GA. Galectins as modulators of tumour progression. *Nat Rev Cancer.* 2005; 5 (1): 297-41.
- Lynch P. Biology of colorectal cancer: an overview of genetic factors. *Management of colorectal cancer.* London. Martin Dunitz Ltd, 1998; 1-18.
- Martins L, Matsuo SE, Ebina KN, Kulcsar MA, Friguglietti CU, Kimura ET. Galectin-3 messenger ribonucleic acid and protein are expressed in benign thyroid tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 4806-10.
- Matsuo S E, Martins L, Leoni S, Hajjar D, Ricarte - F i l h o JCM, Ebina K, Kimura E. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2004; 48(1): 114-125.
- Mincis M. Câncer colorretal. *Gastroenterologia e Hepatologia: Diagnóstico e tratamento.* São Paulo. Lemos editora, 2002; 429-42.
- Okada K, Shimura T, Suehiro T, Mochiki E, Kuwano H. Reduced galectin-3 expression is an indicator of unfavorable prognosis in gastric cancer. *Anticancer Res.* 2006; 26(2B):1369-76.
- Paron I, Scaloni A, Pines A, Bachi A, Liu FT, Puppini C, Pandolfi M, Ledd L, Di Loreto C, Damante G, Tell G. Nuclear localization of

galectina-3 in transformed thyroid cells: a role in transcriptional regulation. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003; 302 (3): 545-53.

- Roque VMN, Forones NM. Avaliação da qualidade de vida e toxicidades em pacientes com câncer colorretal tratados com quimioterapia adjuvante baseada em fluoropirimidinas. *Arq. Gastroenterol.* 2006; 43 (2): 94-101.
- Rosa MP, Kanamura CB, Carvalho MB. Expressão de galectina-3 e citoqueratina 19 nas neoplasias epiteliais da glândula tireóidea e correlação histopatológica. *J Bras Patol Med Lab.* 2005; 4 (1): 61-70.
- SAS Institute. SAS 9.1.3 Help and Documentation. Cary, NC: SAS Institute; 2000–2004.
- SanJúan X, Fernández PL, Castells A, Castronovo V, Van den Brule F, Liu FT, Cardesa A, Campo E. Differential Expression of galectin 3 and galectin 1 in colorectal cancer progression. *Gastroenterology.* 1997; 113: 1906-15.
- Schoeppner HL et al. Expression of an endogenous galactose-binding lectin correlates with neoplastic progression in the colon. *Cancer.* 1995; 75: 2818-26.
- Shibata T, Noguchi T, Takeno S, Takahashi Y, Fumoto S, Kawahara K. Impact of nuclear galectin-3 expression on histological differentiation and vascular invasion in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Oncol Rep* 2005; 13(2):235-9.
- Shimamura T, Sakamoto M, Ino Y, Shimafu K, Kosuge T, Sato Y, Tanaka K, Sekihara H, Hirobashi S. Clinicopathological Significance of Galectin-3 Expression in Ductal Adenocarcinoma of the Pancreas. *Clin Can Res.* 2002; 8: 2570-5.

- Shiro A, Inohara H, Nangia MP, Raz A. Galectin-3 in Tumor Metastasis. *Trends in Glycoscience and Glycotechnology*. 1997; 9 (45): 69-75.
- Takimoto C, Arbuck S. *The Camptothecins. Cancer Chemotherapy and Biotherapy Principles and Practice*. Philadelphia. Lippincott Raven, 1996; 463-84.
- Tonon LM, Secoli SR e Caponero R. Bevacizumabe no tratamento do câncer colorretal. *Revista Brasileira de Cancerologia* 2007; 53(2): 173-182.
- U.S. Preventive Services Task Force. Screening for colorectal cancer: recommendations and rationale. *Ann Intern Med* 2002 Jul 16;137(2):129-31.
- UICC International Union Against Cancer. 1992. *Atlas TNM*. São Paulo, Fundação Oncocentro de São Paulo.
- Van den Brule FA, Berchuck A, Bast RC, Liu FT, Gillet C, Sobel ME, Castronovo V. Differential expression of the 67-kD laminin receptor and 31-kD human laminin-binding protein in human ovarian carcinomas. *Eur J Cancer*. 1994; 30A: 1096-9.
- Vernon CC. Complementary therapies. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*. 1996; 8 (1):1-2.
- Walker G. 2002. *Common Statistical Methods for Clinical Research with SAS Examples*. SAS Institute, Cary, NC, USA.
- Xu XC, el-Naggar AK, Lotan R. Differential expression of galectin-1 and galectin-3 in thyroid tumors. Potential diagnostic implications. *Am J Pathol* 1995; 147: 815-22.

- Zar JH 1984 Biostatistical Analysis, 2nd Ed. Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ.

Abstract

Backgrounds: Colorectal cancer is one of most common tumors nowadays. The survival and the disease-free survival are enhanced because of new chemotherapy drugs. Tumor biological markers will contribute for a better treatment. Galectin-3 is an endogenous galactose-binding protein that is expressed in a wide range of normal and neoplastic tissues and is thought to be involved in cellular adhesion, growth regulation and apoptosis. Galectin-3 is already studied in thyroid cancer, and seems to have an important role in colorectal cancer.

Objective: Evaluate the immunoexpression of galectin-3 protein in patients with colorectal cancer under surgery and resection of the tumor and chemotherapy treatment and the relationship of galectin-3 expression and tumor evolution and clinical aspects.

Methods: We studied the expression of galectin-3 in 75 colorectal tissues. An immunohistochemical scoring system was used to evaluate the cytoplasmic cells color. We divided the tumor's cells in two groups: group 1, absent or weak (less than 50% staining cells) and group 2 strong or moderate ($\geq 50\%$ staining cells).

Results: Among the 75 patients, 40 were female; the average age was 61.98 years old (from 29 to 86 years old). According to the site, 42.6% was of rectum, 33.4% right colon and 24% left colon. 33 tumors were stage II, 32 stage III and 10 stage IV.

Galectin-3 immunoexpression was classified as 1 in 57.33% of tumors. The highest stage appears in the most staining cells (score 2 in 60% of tumors IV, 40.63% in tumors stage III and 39.39% in stage II, $p=0.4899$). In addition, galectin-3 immunoexpression group 1 showed higher survival (65.96% of no disease patient with galectin-3 group 1 and 34.04% group 2). On the other hand, in the group of patients with metastatic disease the results were 52.63% in group 1 and 47.37% in group 2 ($p=0.0465$).

Conclusion: The immunoexpression of galectin-3 was strong or moderate in 42% of the colorectal tumors. Correlation among sex, age, stage, site or metastases and galectin-3 were not observed. Patients with strong or moderate immunoexpression of the protein in higher proportions died or had recurrence

more frequently. The risk of death was marginally reduced in patients with negative or low grade galectin-3.

Galectin-3 cytoplasmatic immunoexpression seems to be a prognostic factor in colorectal cancer.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)