



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA ORAL**

**AVALIAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA DAS GALECTINAS-1, -3, -4 e -7
EM CARCINOMA EPIDERMÓIDE DE LÍNGUA**

POLLIANNA MUNIZ ALVES

MARÇO/2009

NATAL/RN

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

POLLIANNA MUNIZ ALVES

**AVALIAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA DAS GALECTINAS-1, -3, -4 e -7
EM CARCINOMA EPIDERMÓIDE DE LÍNGUA**

Tese apresentada ao programa de Pós-graduação em Patologia Oral da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Doutor em Patologia Oral.

ORIENTADORA: Prof^ª Dr^ª LÉLIA MARIA GUEDES QUEIROZ

MARÇO/2009

NATAL/RN

*A **Deus**, acima de tudo, meu porto seguro, pela força em todos os momentos da minha vida.*

*A meu pai **Manoel Alves de Melo**, pelo apoio, carinho e amor verdadeiro que sempre foram muito importantes para que eu continuasse na minha caminhada.*

*A minha mãe **Cristina Muniz Alves**, uma vencedora, pelo incentivo e dedicação constante para o meu crescimento pessoal e profissional, onde muitas vezes abdicou dos seus desejos para que eu pudesse realizar os meus. Se hoje aqui cheguei, foi por seu amor incondicional.*

*Ao meu irmão **Lincoln Muniz Alves** e minha cunhada **Carol Ramalho**, que mesmo a distância, torcem incessantemente para a realização dos meus sonhos.*

*À minha linda sobrinha **Giovanna Ramalho Muniz**, que ainda na sua pequenez, transmite tamanha paz e alegria. Hoje você é a razão da minha vida.*

*Aos meus **avós e avôs**, os quais eu não tive a oportunidade de conhecer, mas sei que estão ao lado do pai, felizes com esse momento único em minha vida. Vocês são meus anjos.*

AGRADECIMENTOS

*Um especial agradecimento a minha orientadora **Prof^a. Dr^a. Lélia Maria Guedes Queiroz**, pela constante paciência, pela confiança em mim depositada e pelos ensinamentos adquiridos.*

Muitas vezes agindo também como uma verdadeira mãe me aconselhando nos momentos mais difíceis dessa caminhada.

Dra Lélia, muito obrigada pelo carinho e pela sua amizade, sem a sua competente orientação, esse trabalho não seria concluído!

*Agradeço à minha eterna **Profª Edna de Queiroz Guedes Figueiredo**, com a qual aprendi a amar a Estomatologia. Serei eternamente grata pelos seus ensinamentos e apoio, que foram essenciais para o meu crescimento profissional.*

*Ao meu amigo **Gustavo Pina Godoy**, o qual me ajudou e incentivou a trilhar os primeiros passos no caminho da Patologia Oral. És exemplo de uma juventude competente e responsável. Obrigada pelos seus conselhos.*

*À amiga **Daliana de Queiroz Castro Gomes**, pela amizade e pela imensa colaboração para a realização desta pesquisa. Eternamente grata à você.*

*À **Profª Drª Lélia Batista**, que com seu jeito de ser líder e ao mesmo tempo com seu jeito de mãe, consegue a admiração daqueles que a rodeiam. A você, meu eterno respeito. E obrigada por me aceitar como mais uma de suas afilhadas!*

*À **Profª Drª Ana Myrian Costa Medeiros**, pela sua verdadeira amizade e pela oportunidade que me deu de estar ao seu lado na clínica de Diagnóstico Oral. Seu apoio foi fundamental para o meu aprendizado. Obrigada pela competência dos ensinamentos, por se mostrar mais que uma professora, com sua forma compreensiva, sensível e engraçada de ser.*

*Aos demais professores do Programa de Pós-graduação em Patologia Oral da UFRN, **Prof. Dr. Leão Pereira Pinto, Profa. Dra. Roseana de Almeida Freitas, Dra. Hébel Cavalcanti Galvão, Prof. Dr. Antônio de Lisboa Lopes Costa, Profa. Dra. Márcia Miguel**, pelos ensinamentos científicos e pelas experiências de vida que foram de grande valia para o meu crescimento intelectual.*

*Ao **Prof. Dr. Ângelo Giuseppe Roncalli** pela valiosa contribuição na realização da análise estatística deste trabalho.*

*Aos amigos da minha turma do doutorado **Cristina Ruan Ferreira de Araújo, Karuza Maria Alves Pereira e George João Ferreira do Nascimento**, onde juntos passamos momentos de alegria, de aprendizado, e conseguimos superar diversos obstáculos. Sucesso a todos nós!*

*Aos amigos do doutorado, **Marta, Janaina, Ruth, Bruna Rafaela, Bruna Amaral, Adriana, Alexandre, Valéria, Cassiano, Débora, Marcelo e Pedro Paulo**, pela troca de experiências e pelo apoio durante esse período de convivência. Juntos vivemos tantos momentos de estudos, bem como momentos de descontração que ficarão guardados pra sempre em meu coração.*

*Aos novos amigos do mestrado **Cynthia, Joabe, Emeline, Thaís, Maiara, Felipe e Marianne**, que apesar do pouco contato percebi a integridade de cada um. E você **Marianne**, minha irmã do coração, companheira de apartamento, de farras, que compartilhou comigo todos os momentos de conquistas e dificuldades no ano que se passou. Você não foi a irmã que Deus me concebeu, mas sim a irmã que pude escolher.*

*Aos funcionários **Sandrinha, Canindé e Hévio**, cuja colaboração foi indispensável para a realização da parte experimental deste trabalho.*

*À **Gracinha, Idelzuite e Lurdinha**, pela presteza com que sempre atenderam as minhas solicitações. Agradeço de coração! À **Andréa**, pela amizade, pela paciência e disponibilidade no atendimento com os pacientes na clínica de Diagnóstico Oral.*

*À equipe de trabalho do Setor de Prevenção ao Câncer Oral do **Hospital da FAP**, em Campina Grande, em especial **Assunção, Rosa, Dra. Edna Figueiredo e Dr. Rogério**, e a equipe do **Hospital Dr. Napoleão Laureano**, em João Pessoa, **Dr. João e Daliana**, que tiveram uma importante participação na execução desta pesquisa. Meus sinceros agradecimentos.*

*Ao Laboratório **UNILAP**, em especial **Dra. Maria Fátima Celino**, pela concessão dos blocos parafinados que foram essenciais para a realização deste trabalho.*

*A **CAPES** e ao **CNPq** pelo apoio financeiro concedido.*

*Aos **amigos e familiares distantes** que compreenderam a necessidade da minha ausência durante esses 3 anos...*

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram e torceram para a concretização deste meu sonho.

*“Nenhum caminho é longo demais quando
um amigo nos acompanha”
(Autor desconhecido)*

*“Tudo é do pai... toda honra e
toda glória... É dele a vitória
alcançada em minha vida”
(Frederico Cruz)*

RESUMO

Diversos estudos são desenvolvidos com o intuito de se estabelecer parâmetros para determinar o comportamento biológico do carcinoma epidermóide oral, tendo em vista que esta neoplasia apresenta altas taxas de morbidade e mortalidade. O objetivo do presente trabalho foi realizar uma análise clínica, morfológica e imuno-histoquímica através da expressão das galectinas 1, 3, 4 e 7 em 65 casos de carcinoma epidermóide de língua, correlacionando essa expressão à parâmetros clínicos (desfecho da doença, metástase, estadiamento clínico) e morfológicos (sistema de gradação histológica de malignidade). Os parâmetros clínicos e morfológicos analisados e a expressão das galectinas 1, 3, 4 e 7 foram submetidos a análise estatística (teste do Qui²), observando-se que os mesmos podem ser utilizados como indicadores do comportamento biológico do carcinoma epidermóide de língua. A galectina 1 foi expressa em 87,7% dos casos, apresentando correlação estatisticamente significativa com a metástase ($p=0,033$) e o estadiamento clínico ($p=0,016$), localizando-se principalmente no citoplasma das células estromais. A imunomarcção da galectina 3, em 87,7% dos casos, correlacionou-se com a presença de metástases ($p=0,033$) e a gradação histológica de malignidade ($p=0,031$), sendo encontrada, na maioria dos casos, em carcinoma epidermóide de língua de alto grau de malignidade. A galectina 4 não exibiu significância estatística com nenhum dos parâmetros avaliados. A marcação da galectina 7, em 73,8% dos casos, exibiu correlação estatisticamente significativa com a gradação histológica de malignidade ($p=0,005$), sendo esta marcação exclusivamente encontrada nas células neoplásicas, e na maioria dos casos, encontrada no citoplasma e membrana (50%). A expressiva imunomarcção das galectinas 1, 3 e 7, verificada em nossa pesquisa, nos leva a sugerir uma ampla participação dessas proteínas na carcinogênese oral, bem como a sua possível utilização como marcadores do comportamento biológico e da progressão tumoral em carcinoma epidermóide de língua.

Palavras-chave: Neoplasias bucais, carcinoma epidermóide, galectinas, imuno-histoquímica.

ABSTRACT

ABSTRACT

Several studies are carried out with aim to establish parameters to determine biologic behavior of oral squamous cell carcinoma, in order this neoplasm presents high rates of morbidity and mortality. The purpose of present research was to performe a clinic, morphologic and immunohistochemical analysis by the expression of galectins 1, 3, 4 and 7 in 65 cases of tongue squamous cell carcinoma, correlating this expression with clinics (outcome of the disease, metastasis and clinical staging) and morphologic parameters (malignancy histologic gradation system). The clinical and morphologic parameters analysed and expression of galectins 1, 3, 4 and 7 were submitted to statistical analysis (Qui² test), observing that can be utilized as indicators of the biological behavior of the tongue squamous cell carcinoma. The galectin 1 was expressed in 87,7% of cases studied and it exhibit statistically significant correlation with metastasis ($p=0,033$) and clinical staging ($p=0,016$), it is located mostly in the citoplasm of the stomal cells. The immunoexpression of galectin 3 in 87,7% of cases was correlated with the presence of metastasis ($p=0,033$) and malignancy histological gradation system ($p=0,031$), observed, mostly of cases, in tongue squamous cell carcinoma of malignancy high grading. The galectin 4 showed no statistical significance to any of the parameters evaluated. The expression of galectin 7 in 73,8% of cases showed statistically significant correlation with the malignancy histologic grading ($p=0,005$), which is marking exclusively found in neoplastic epithelial cells, in the mostly of cases, it is found in cytoplasm and membrane (50%). The expressive immunopositivity of the galectins 1, 3 and 7, observed in this research, leads us to suggest a broad participation of these proteins in oral carcinogenesis, and its possible use as markers of biological behavior and tumor progression in cases of squamous cell carcinoma of the tongue.

Key-words: mouth neoplasms, squamous cell carcinoma, galectins, immunohistochemistry.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

QUADROS

Quadro 1: Sistema de gradação histológico de malignidade “ <i>front</i> de invasão”.....	60
Quadro 2: Quadro evidenciando especificidade para os anticorpos que foram utilizados, diluição, tempo de incubação e fabricante.....	63
Quadro 3: Quadro evidenciando as variáveis analisadas, bem como sua classificação e categorização.....	64

FIGURAS

Figura 1: Membros da família das galectinas.....	43
Figura 2: Funções intracelulares e extracelulares das galectinas relacionadas ao desenvolvimento e progressão tumoral.....	44
Figura 3: Carcinoma epidermóide de baixo grau evidenciando-se ninhos tumorais com pérolas de ceratina, permeando intenso infiltrado inflamatório (H/E-100X).....	69
Figura 4: Carcinoma epidermóide de baixo grau evidenciando-se ninhos tumorais com intensa ceratinização (H/E-200X).....	69
Figura 5: Carcinoma epidermóide de alto grau evidenciando-se mitose atípicas, pleomorfismo celular e desgarramento de células dos ninhos tumorais (H/E-200X).....	70
Figura 6: Carcinoma epidermóide de alto grau evidenciando-se intenso pleomorfismo celular e hiper cromatismo nuclear nos lençóis tumorais (H/E-200X).....	70
Figura 7: Imunomarcção intensa da galectina 1 em fibroblastos ao redor dos ninhos tumorais (SABC – 100X).....	73
Figura 8: Controle interno positivo representado por fragmentos de glândula salivar menor (SABC-200X).....	73
Figura 9: Imunomarcção intensa da galectina 3 nos ninhos tumorais, pérolas córneas e fibroblastos (SABC-100X).....	74
Figura 10: Imunomarcção da galectina 3 nos fibroblastos, células endoteliais e feixes nervosos (SABC-200X).....	74

Figura 11: Ausência de imunomarcção da galectina 4 em carcinoma epidermóide de alto grau (SABC-100X).....	75
Figura 12: Imunomarcção moderada e citoplasmática da galectina 4 no estroma e em ninhos tumorais (SABC-200X).....	75
Figura 13: Imunomarcção intensa citoplasmática e membranar da galectina 7 apenas nos ninhos tumorais (SABC-100X).....	76
Figura 14: Detalhe da intensa imunomarcção membranar da galectina 7 em ninho tumoral de carcinoma de baixo grau de malignidade (SABC-200X).....	76

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Distribuição dos casos de carcinoma epidermóide segundo o sexo, raça, faixa etária e hábitos dos pacientes.....	67
Tabela 2: Distribuição das variáveis TNM, desfecho e metástases em números absolutos (n) e relativos (%).	68
Tabela 3: Relação entre estadiamento clínico e desfecho da doença. Significância obtida pelo teste Qui ² . Natal, RN, 2009.....	77
Tabela 4: Relação entre metástase e desfecho da doença. Significância obtida pelo teste Qui ² . Natal, RN, 2009.....	77
Tabela 5: Relação entre metástase e estadiamento clínico. Significância obtida pelo teste Qui ² . Natal, RN, 2009.	78
Tabela 6: Relação entre gradação histológica e desfecho da doença. Significância obtida pelo teste Qui ² . Natal, RN, 2009.....	78
Tabela 7: Relação entre gradação histológica e estadiamento clínico. Significância obtida pelo teste Qui ² . Natal, RN, 2009.....	79
Tabela 8: Relação entre gradação histológica e metástase. Significância obtida pelo teste Qui ² . Natal, RN, 2009.....	79
Tabela 9: Matriz de significância estatística, contendo os valores de “p”para as combinações entre as variáveis. Significância obtida pelo teste Qui ² . Natal, RN, 2009..	79
Tabela 10: Relação entre as variáveis da galectina-1 e o desfecho da doença. Significância obtida pelo teste Qui ² . Natal, RN, 2009.....	80
Tabela 11: Relação entre as variáveis da galectina-1 e a metástase. Significância obtida pelo teste Qui ² . Natal, RN, 2009.....	81
Tabela 12: Relação entre as variáveis da galectina-1 e o estadiamento clínico. Significância obtida pelo teste Qui ² . Natal, RN, 2009.....	82
Tabela 13: Relação entre as variáveis da galectina-1 e a gradação histológica. Significância obtida pelo teste Qui ² . Natal, RN, 2009.....	83
Tabela 14: Relação entre as variáveis da galectina-3 e o desfecho. Significância obtida pelo teste Qui ² . Natal, RN, 2009.....	84
Tabela 15: Relação entre as variáveis da galectina-3 e a metástase. Significância obtida pelo teste Qui ² . Natal, RN, 2009.....	84

Tabela 16: Relação entre as variáveis da galectina-3 e estadiamento clínico. Significância obtida pelo teste Qui ² . Natal, RN, 2009.....	85
Tabela 17: Relação entre as variáveis da galectina-3 e gradação histológica. Significância obtida pelo teste Qui ² . Natal, RN, 2009.....	86
Tabela 18: Relação entre as variáveis da galectina-4 e o desfecho. Significância obtida pelo teste Qui ² . Natal, RN, 2009.....	87
Tabela 19: Relação entre as variáveis da galectina-4 e a metástase. Significância obtida pelo teste Qui ² . Natal, RN, 2009.....	87
Tabela 20: Relação entre as variáveis da galectina-4 e o estadiamento clínico. Significância obtida pelo teste Qui ² . Natal, RN, 2009.....	88
Tabela 21: Relação entre as variáveis da galectina-4 e a gradação histológica. Significância obtida pelo teste Qui ² . Natal, RN, 2009.....	89
Tabela 22: Relação entre as variáveis da galectina-7 e o desfecho. Significância obtida pelo teste Qui ² . Natal, RN, 2009.....	90
Tabela 23: Relação entre as variáveis da galectina-7 e a metástase. Significância obtida pelo teste Qui ² . Natal, RN, 2009.....	90
Tabela 24: Relação entre as variáveis da galectina-7 e o estadiamento clínico. Significância obtida pelo teste Qui ² . Natal, RN, 2009.....	91
Tabela 25: Relação entre as variáveis da galectina-7 e a gradação histológica. Significância obtida pelo teste Qui ² . Natal, RN, 2009.....	92

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	26
2 REVISÃO DA LITERATURA	29
2.1 Carcinoma epidermóide	29
2.1.1 Considerações iniciais.....	29
2.1.2 Epidemiologia.....	30
2.1.3 Características clínicas e histopatológicas.....	31
2.1.4 Etiopatogenia	32
2.1.5 Tratamento e prognóstico	37
2.2 Galectinas	42
2.2.1 Galectina 1	45
2.2.2 Galectina 3	47
2.2.3 Galectina 4	51
2.2.4 Galectina 7	52
3 PROPOSIÇÃO	56
4 MATERIAL E MÉTODOS	58
4.1 Caracterização do estudo	58
4.2 População	58
4.3 Amostra	58
4.3.1 Critérios de inclusão da amostra	58
4.3.2 Critérios de exclusão da amostra	59
4.4 Estudo clínico	59
4.5 Estudo morfológico	59
4.6 Estudo imuno-histoquímico	61
4.7 Análise das células imunomarcadas	63
4.8 Análise estatística	64
4.8.1 Delineamento da análise	64
4.8.2 Variáveis estudadas	64
4.8.3 Definição do teste estatístico	65
4.9 Implicações éticas	65
5 RESULTADOS	67
5.1 Análise descritiva dos aspectos clínicos	67
5.2 Análise descritiva dos aspectos morfológicos	68

5.3 Análise descritiva da imunorreatividade às galectinas 1, 3, 4 e 7	71
5.3.1 Galectina 1	71
5.3.2 Galectina 3	71
5.3.3 Galectina 4	72
5.3.4 Galectina 7	72
5.4 Resultados da análise estatística	77
5.4.1 Galectina 1.....	80
5.4.2 Galectina 3.....	83
5.4.3 Galectina 4.....	86
5.4.4 Galectina 7.....	89
6 DISCUSSÃO	94
7 CONCLUSÕES	110
REFERÊNCIAS	112
APÊNDICES	129
ANEXOS	133

1 INTRODUÇÃO

O câncer oral corresponde a aproximadamente 7% de todos os tipos de câncer no mundo, somando um total de 270 mil novos casos anualmente. Em países desenvolvidos, corresponde ao quinto tipo de câncer mais comum nos homens e ao sétimo tipo de câncer nas mulheres. Dos diversos tipos de câncer oral, o carcinoma epidermóide representa cerca de 90 a 95% (CHOI et al, 2006, SAHEB-JAMEE et al., 2008).

O carcinoma epidermóide oral ocorre mais freqüentemente em indivíduos do sexo masculino, entre a sexta e sétima década de vida e a localização mais acometida, relatada pela maioria dos estudos, é a língua (ARIYOSHI et al., 2008, RIBEIRO et al., 2008), na qual apresenta um alto potencial de invasão e grande probabilidade de desenvolver metástase para os linfonodos regionais (O-CHAROENRAT et al., 2003; OKADA et al., 2003).

Os métodos terapêuticos aplicáveis ao carcinoma epidermóide oral são a cirurgia, radioterapia e quimioterapia, isolados ou em associação, dependendo do estadiamento clínico da lesão (AMAR et al., 2003). O grau histológico de malignidade, tamanho da lesão, comprometimento dos tecidos vizinhos, presença de metástase no momento do diagnóstico e localização anatômica da lesão, podem ser considerados como indicadores de agressividade desta neoplasia (BRYNE, 1998; KADEMANI et al., 2005; MASSANO et al, 2006).

O entendimento da progressão dos tumores tem recebido contribuições a partir de estudos utilizando a imuno-histoquímica que objetiva analisar alterações específicas de proteínas relacionadas as lesões tumorais. Nesse sentido, mudanças qualitativas e quantitativas nos componentes glicoprotéicos das células exibem amplo significado no desenvolvimento e progressão de muitos processos neoplásicos.

Dentro desse contexto, as galectinas têm recebido especial atenção devido seus diversos papéis biológicos não só na glicobioquímica, mas também na medicina com possível ação farmacológica (ARAÚJO FILHO et al, 2006). As galectinas, membros da família das

lectinas, são proteínas ligantes de carboidratos que possuem uma afinidade por β -galactosídeos (FUKUMURI, KANAYAMA, AVRAHAM, 2007). Até o momento são reconhecidos 15 membros das galectinas, os quais estão subdivididos em 3 subgrupos, de acordo com sua estrutura em: protótipo (galectina 1, -2, -5, -7, -10, -11, -13 e -14), tipo químera (galectina 3) e tipo *tandem* repetido (galectina 4, 6, -8,-9 e -12) (HIRABAYASHI et al., 2002, LIU et al., 2002, NAKAHARA et al., 2005).

As galectinas estão sendo largamente utilizadas como ferramentas sensíveis, estáveis e de fácil utilização, para descrever alterações na superfície das células tumorais. Essas alterações estão associadas ao crescimento celular, à indução de apoptose e metástase devido seu envolvimento na angiogênese, na interação com a matriz extracelular e na disseminação hematogênica (DUMIC et al., 2006, ELOLA et al., 2005).

Considerando o papel multifuncional das galectinas nos processos biológicos e a escassez de estudos das mesmas no carcinoma epidermóide oral, o objetivo dessa pesquisa é avaliar a expressão qualitativa das galectinas 1, 3, 4 e 7 em uma série de casos de carcinoma epidermóide de língua, estabelecendo uma análise comparativa desta expressão, com o estadiamento clínico, gradação histológica, desfecho da doença e presença ou não de metástase, visando trazer informações que possam contribuir para o entendimento do comportamento biológico desta neoplasia, bem como da possível utilização das galectinas como indicadores de progressão tumoral no carcinoma epidermóide oral.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Carcinoma epidermóide

2.1.1 Considerações iniciais

A mortalidade por doenças crônico-degenerativas vem mostrando uma ascensão progressiva, destacando-se, entre elas, as neoplasias malignas, que correspondem à segunda causa de morte no Brasil, excluindo-se as causas externas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008). Entende-se por neoplasia “uma massa anormal de tecido cujo crescimento excede aquele dos tecidos normais e não está sincronizado com ele, persistindo de forma excessiva após o termino do estímulo que induziu a alteração” (KUMAR, ABBAS, FAUSTO, 2005).

A palavra câncer é o termo comum utilizado para referir-se a todos os tumores malignos. O Ministério da Saúde (2008) define o câncer como um grupo de doenças caracterizado pela perda do controle da divisão celular e pela capacidade de invadir estruturas orgânicas.

O câncer oral é considerado como um dos maiores problemas de saúde pública, em muitas partes do mundo, inclusive no Brasil. Na maioria dos casos, a detecção do câncer oral acontece tardiamente, verificando-se que no momento do diagnóstico, a doença já se encontra em estágio considerado avançado. Feito um diagnóstico precoce, as complicações no tratamento ou pós-tratamento, como as recidivas, poderiam ser minimizadas, assim como os resultados estéticos e funcionais levariam a resultados menos mutiladores, e o índice de sobrevida do paciente seria maior (AMAR et al., 2003, LIMA et al., 2005).

Esses dados, portanto, reforçam a efetiva participação dos profissionais da odontologia de forma mais direta no diagnóstico precoce do carcinoma epidermóide, proporcionando um aumento significativo da sobrevida dos pacientes (ALVES, GOMES, PEREIRA, 2004).

2.1.2 Epidemiologia

As taxas de incidência e mortalidade para o câncer oral variam de um país para outro, e mesmo dentro de uma mesma região. Essas variações ocorrem, principalmente, pelas diferenças de hábitos, características socio-econômicas, expectativa de vida, fatores ambientais, raça, educação preventiva e qualidade de assistência médica nas diversas regiões (BRENER et al., 2007). Choi et al. (2006) acrescentaram que essas altas taxas de mortalidade podem ser atribuídas a uma diminuição da resposta as modalidades terapêuticas, como radioterapia e quimioterapia, diagnóstico tardio das lesões, e a ausência de marcadores disponíveis para detecção precoce.

O câncer oral acomete cerca de 7% da população mundial, estando o Brasil no 4º lugar em incidência no mundo. Neste grupo estão incluídas as neoplasias malignas dos lábios, sítios intra-orais e da orofaringe (LLEWELLYN, JOHNSON, WARNAKULASURIYA, 2001). Nos últimos anos, esses dados aumentaram em função da mudança dos hábitos, observando-se também aumento da incidência em pessoas jovens, abaixo de 45 anos de idade. Cerca de 4 a 6% de todos os casos relatados têm sido encontrados em pacientes jovens (RIBEIRO et al., 2008).

O carcinoma epidermóide, considerado o tipo de câncer oral mais frequente, encontra-se como a 8ª causa de morte nos Estados Unidos, com aproximadamente 8000 mortes anuais (GARAVELLO et al., 2008). Ariyoshi et al. (2008) observaram em estudo multicêntrico, em 148 instituições, realizado no Japão, registros, em apenas um ano, de 1816 casos de câncer oral. Na América do Sul, o Brasil exibe os maiores índices de câncer oral em homens (MARQUES et al., 2008). No Nordeste, estima-se que no ano de 2008, surjam 14.160 novos casos de câncer oral, ocupando assim o 7ª lugar na região. Nos homens, o câncer oral ocupará a quarta posição, com 10.380 novos casos, e nas mulheres, ocupará a sétima posição, com 3.780 novos casos. No Rio Grande do Norte estima-se 160 novos casos, sendo 70 deles

em Natal. Na Paraíba, estima-se 190 novos casos, com uma média de 10,36 casos por 100.000 habitantes (INCA, 2008).

2.1.3 Características clínicas e histopatológicas

Segundo Brener et al. (2007), Simonato e Miyahara (2007) o carcinoma epidermóide oral representa 90% a 95% das neoplasias malignas da cavidade oral, localizando-se principalmente na língua, sobretudo na borda lateral posterior, acometendo, em geral, homens, com idade acima dos 50 anos de idade.

Embora esta neoplasia ocorra principalmente na língua, pode afetar outros sítios como assoalho, mucosa jugal, lábios, gengiva e palato (KERDPON, SRIPLUNG, 2001; MAGRINI et al, 2000). Ariyoshi et al. (2008) observaram que em 1816 casos de câncer oral, o carcinoma epidermóide correspondia a 88,7% de todos os casos, e destes, 59,2% acometeram homens, com idade média de 65,2 anos, e a localização mais freqüente foi a língua (40,2%), seguida pela gengiva (32,7%), mucosa jugal (10,1%) e assoalho bucal (9,0%). Amorim, Amorim e Freitas (2002), avaliando 85 casos de carcinoma epidermóide, observaram que o palato foi a localização mais acometida (22,3%), seguido pelo rebordo alveolar (21,1%) e pelo assoalho bucal (14,1%). Na Índia, a mucosa jugal é a localização mais afetada em decorrência do hábito de mascar produtos derivados do tabaco (GHOSHAL et al., 2006).

De acordo com Garavello et al (2008) é evidente o aumento da proporção de mulheres, especialmente mulheres mais jovens, acometidas pelo carcinoma epidermóide, na grande maioria localizados na língua, o que pode ser explicado pelas mudanças de hábitos, em diversas regiões.

Ribeiro et al. (2008) analisaram 46 casos de carcinomas epidermóides em pacientes jovens, com idade inferior a 45 anos, e observaram que 83% eram indivíduos do gênero masculino, o assoalho bucal foi o local mais acometido (14,3%), seguido da língua (13,2%), e

65% dos casos foram diagnosticados nos estágios III e IV da doença, sugerindo que essas características não diferem dos casos que acometem os indivíduos de faixa etária mais avançada, e observaram ainda que a maioria dos jovens era tabagista (76%) e etilista (70%). Mackenzie et al. (2000) sugeriram que estes tradicionais fatores de risco não são encontrados com grande frequência em pacientes jovens.

Clinicamente o carcinoma epidermóide oral apresenta-se na forma de ulcerações, em estágios iniciais, as quais ocorrem devido à dificuldade de irrigação sanguínea das camadas mais superficiais da mucosa e conseqüente necrose tecidual, provocada pela diminuição dos espaços intercelulares, que são decorrentes do crescimento tumoral. Estas úlceras geralmente exibem bordas endurecidas, podendo estar associada a manchas avermelhadas ou esbranquiçadas. Esta neoplasia também pode se apresentar com crescimento exofítico ou verrucoso (PONTES et al., 2001).

Histologicamente caracteriza-se por uma desordem proliferativa de células da camada espinhosa do epitélio, que expressa graus variados de similaridade com suas células de origem (DANTAS et al, 2003; NEVILLE et al, 2004). As células podem exibir citoplasma bastante eosinofílico, núcleo vesicular de tamanho aumentado com hiper cromatismo, pontes intercelulares proeminentes, pérolas de ceratina, pleomorfismo celular e figuras de mitose atípicas. Dependendo do grau de diferenciação, o carcinoma epidermóide pode ser classificado em bem diferenciado, moderadamente e pobremente diferenciado (BARNES et al., 2005).

2.1.4 Etiopatogenia

Diversos fatores intrínsecos tais como alterações genéticas, deficiências nutricionais e imunossupressão, e fatores extrínsecos como tabaco, álcool e alguns vírus têm sido apontados dentre os agentes relacionados a sua etiopatogenia, e ainda a radiação solar, em

relação ao carcinoma epidermóide do lábio (CAMPISI et al, 2006; NAGPAL, BIBHU, 2003). Não há um fator causador isolado claramente definido ou aceito, mas tanto os fatores extrínsecos quanto os intrínsecos podem estar em atividade, sendo provavelmente necessário que mais de um fator seja responsável pelo desenvolvimento da referida neoplasia (NEVILLE et al., 2004).

A carcinogênese oral está associada a alterações genéticas acumulativas (NAGPAL; BIBHU, 2003), a qual reflete a susceptibilidade e tendência do genoma de adquirir múltiplas alterações, as quais levam ao desequilíbrio no ciclo celular que controla suas funções tais como divisão, diferenciação e morte celular (VICENTE et al., 2002). O desenvolvimento do carcinoma epidermóide oral relaciona-se diretamente a alterações na estrutura e regulação genética, principalmente nos genes reguladores do processo de divisão celular (RAMALHO et al., 2002). As mutações no gene p53 são as alterações genéticas mais comuns, podendo ser utilizada como indicador de prognóstico nos carcinomas epidermóides orais (YAMAZAKI et al., 2003).

Balassiano (2004) avaliou a expressão da p53 (DO-7) e p53 mutada (Pab-240) em casos de hiperplasia fibrosa inflamatória, queilite actínica e carcinoma epidermóide de lábio, e observou que a expressão da proteína DO-7 foi mais significativa que a Pab-240, e que esta expressão revelou-se crescente com a progressão das lesões na região suprabasal com distribuição difusa, sugerindo portanto, que o desequilíbrio na apoptose ocorre ainda em um estágio inicial do desenvolvimento do carcinoma epidermóide oral, inclusive em lesões onde morfológicamente não é possível detectar nenhuma alteração ainda.

Os agentes físicos, químicos e biológicos podem lesar o ácido desoxirribonucléico (DNA) nuclear, produzindo mutações, quebras cromossômicas e outras alterações do material genético, culminando na transformação maligna da célula (WUNSCH-FILHO, GATTÁS, 2001).

De acordo com Todd, Donoff e Wong (1997), as aberrações cromossômicas mais frequentemente relacionadas ao carcinoma epidermóide oral são encontradas nos cromossomos 1, 3, 9, 11, 13, 14, 15 e 18. Califano, Van der Riet e Westra (1996) relacionaram a perda do braço curto do cromossomo 9 no epitélio caracterizado morfológicamente como hiperplásico, como um evento inicial da carcinogênese, e a perda do braço curto do cromossomo 3 e do 17 com a transição do epitélio hiperplásico para displásico. Perdas adicionais dos braços longos dos cromossomos 11, 13 e 14 foram detectadas no carcinoma *in situ*, enquanto a perda do braço curto do cromossomo 6, de todo o cromossomo 8 e do braço longo do cromossomo 4 promoveria a invasão do tecido.

Dentre os fatores extrínsecos relacionados com o surgimento do carcinoma epidermóide oral pode-se citar o fumo e o álcool, os quais representam os fatores mais significativos na etiologia do câncer oral (ALLISON, LOCKER, FEINE, 1998; BRAD; COLE, 2002; GHOSHAL et al., 2006; GREENWOOD et al., 2003; HINDLE et al., 2000; ZAVRAS et al., 2001).

Conforme Dias et al. (2003) e Souza et al. (2005) o tabaco é responsável por 90% dos casos de carcinoma epidermóide oral e é prejudicial nas suas diversas formas, como mascado, fumado ou aspirado. Dependendo do tipo e da quantidade do tabaco utilizado, os tabagistas apresentam probabilidade 4 a 15 vezes maior de desenvolver o câncer oral, que os não tabagistas. Segundo O'Regan et al. (2006), 41% dos carcinomas epidermóides que acometem a cavidade oral podem estar relacionados ao hábito de fumar. Brouha et al (2003) observaram que tumores em estágios avançados (T4) estavam significativamente relacionados a fumantes e etilistas crônicos. Ribeiro et al. (2008) mostraram que de 46 casos de carcinoma epidermóide em jovens brasileiros, com média de idade abaixo de 45 anos, 70% destes jovens eram tabagistas e etilistas, e 65% foram diagnosticados em estadiamento clínico III e IV. Enquanto O'Regan et al (2006) relacionam o desenvolvimento do carcinoma epidermóide em

jovens ao uso de drogas, infecções virais, práticas sexuais e dieta, já que muitos destes pacientes não relataram hábito de fumar.

Rodu, Cole e Ala (2002) em revisão epidemiológica de estudos anteriores sobre o risco de desenvolvimento do carcinoma epidermóide em relação ao uso de tabaco, demonstraram que das 21 pesquisas publicadas, os maiores riscos estavam para o tipo rapé seco, com risco relativo de 4 a 13, e o tabaco fumado com risco relativo de 1.5 a 2.8.

Outro fator extrínseco importante é o álcool, responsável principalmente pelos casos de carcinoma epidermóide localizados na língua e assoalho bucal. O consumo de bebida alcoólica aumenta cerca de nove vezes o risco, e quando em associação com o tabagismo esse risco torna-se 35 vezes maior (DIAS et al., 2003; SOUZA et al., 2005).

Os mecanismos pelos quais o álcool pode agir no desenvolvimento do carcinoma epidermóide não estão ainda definitivamente esclarecidos, podendo ser sugeridos o aumento da permeabilidade das células da mucosa aos agentes carcinógenos devido ao efeito solubilizante do álcool, a presença de substâncias carcinogênicas nas bebidas alcoólicas, o dano celular produzido pelos metabólitos do etanol (aldeídos), bem como deficiências nutricionais secundárias ao consumo crônico do próprio álcool (ALQUATI, 2008).

Para Viswanathan e Wilson (2004) a ingestão de álcool permanece como um fator de risco secundário ao fumo para o desenvolvimento de cânceres em cabeça e pescoço, apesar do aumento na incidência desta neoplasia em vários países, possuir relação com o aumento no consumo de álcool. Sugerindo também que o aumento da incidência em mulheres também está relacionado com este fato.

Abdo, Garrocho e Aguiar (2006) avaliaram 154 pacientes com carcinoma epidermóide oral quanto ao nível de conhecimento sobre a etiologia da doença, e observaram que 91.6% dos pacientes não associaram o álcool e o fumo a sua doença, não abandonando assim nem o etilismo (43,1%) nem o tabagismo (42,4%), e a maioria era de baixa

escolaridade, sendo 44,8% considerados analfabetos e 62,3% viviam com a renda mensal de até um salário mínimo.

O papel de alguns tipos de vírus na etiologia do carcinoma epidermóide oral têm sido defendida por vários autores. A relação do HPV com o desenvolvimento do carcinoma epidermóide oral foi sugerida primeiramente por Syrjänen et al. em 1983, mas ainda não está completamente esclarecida, devido à divergência nos diversos estudos presentes na literatura.

Termine et al. (2008) realizaram um estudo de meta-análise, com 62 estudos anteriormente publicados, com relação a participação do HPV em carcinomas epidermóides orais e de cabeça e pescoço. Do total da amostra, 4852 casos de carcinoma epidermóide, o HPV foi detectado em 34,5% deles, especificamente, 38,1% foram detectados em carcinomas epidermóides oral e 24,1% em carcinoma epidermóide da região de cabeça e pescoço. Quanto ao método de detecção, os estudos em PCR exibiram uma maior prevalência (34,8%) em relação a hibridização *in situ*. Sugerindo, portanto, que métodos mais sensíveis para o HPV podem ser utilizados como prerrogativas em futuras pesquisas no intuito de analisar a prevalência do HPV em carcinoma epidermóide oral.

Soares et al. (2008) investigaram a presença do HPV-DNA e seus tipos virais em 33 casos de carcinoma epidermóide e observaram em 11 casos (33,33%), através da técnica do PCR e hibridização *dot blot*, a presença do HPV-DNA, e sendo o tipo HPV-18 o mais prevalente (81,81%). Os autores sugerem uma possível participação do HPV no desenvolvimento e progressão de apenas um subgrupo deste tipo de neoplasia.

Os fatores intrínsecos relacionados com a etiologia do carcinoma epidermóide oral são principalmente os hormônios, a imunossupressão, as deficiências nutricionais e as mutações genéticas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008). Conforme dados do INCA (2008), deficiências nutricionais que são causadas por defeitos na metabolização ou por carência nutricional, podem ocasionar alterações epiteliais, tornando a mucosa bucal mais susceptível

aos agentes cancerígenos. As dietas inadequadas, carentes de antioxidantes, funcionam como fontes de radicais livres que seriam responsáveis por alterações no DNA celular, tornando-o mais vulnerável ao desenvolvimento de neoplasias.

2.1.5 Tratamento e prognóstico

A cirurgia, radioterapia e quimioterapia são, isoladas ou em associação, os métodos terapêuticos aplicáveis ao câncer oral. Em se tratando, de lesões iniciais, restritas ao local de origem, sem extensão aos tecidos e a linfonodos regionais, e dependendo da localização pode se optar pela cirurgia ou radioterapia. A quimioterapia pode ser associada como tratamento coadjuvante em casos mais avançados (INCA, 2008). Essas duas modalidades terapêuticas, radioterapia e quimioterapia, provocam danos principalmente nas células com alta taxa de divisão celular. Desta forma, a mucosa oral normal torna-se alvo primário para a toxicidade em virtude da sua alta taxa de renovação celular (SOUZA et al., 2005).

Paiva et al. (2007) analisaram 69 pacientes com carcinoma epidermóide oral e verificaram que 84,1% foram submetidos à cirurgia e radioterapia, 2,9% à quimioterapia exclusiva e 13% à associação entre cirurgia, radioterapia e quimioterapia, observando também que 56,5% desenvolveram uma ou mais complicações orais agudas decorrentes do tratamento antineoplásico.

Amar et al. (2003), em estudo retrospectivo, avaliaram o tratamento cirúrgico em 79 pacientes com carcinoma epidermóide de língua e assoalho bucal, e verificaram que 38% exibiram recidivas locais, após tratamento cirúrgico e radioterápico, mesmo sem apresentar metástases regionais ou a distância. Kowalski e Medina (1998) afirmam que o tratamento cirúrgico de carcinoma epidermóide localizado na língua e assoalho localmente avançados (T3 e T4) deve incluir o esvaziamento cervical, pois, mesmo na ausência de metástases clinicamente identificáveis, a taxa de metástases ocultas é superior a 30%.

Amaral et al. (2004), em estudo retrospectivo, avaliaram os fatores preditivos de metástase oculta e do prognóstico de carcinoma epidermóide de língua e assoalho bucal em estágios I e II, e verificaram que 60,6% dos pacientes foram submetidos a esvaziamento cervical, e destes 23,1% exibiam metástases cervicais. Histologicamente, os autores afirmam que houve uma associação estatisticamente significativa nos casos com infiltração muscular, mostrando uma maior probabilidade de metástase oculta nos linfonodos cervicais e menor sobrevida livre de doença.

Segundo Nithya et al. (2003), a língua é a localização mais acometida pelo carcinoma epidermóide oral, bem como a mais relacionada à baixa taxa de sobrevida e a altas incidências de desenvolvimento de metástases para linfonodos cervicais, pois de 34 a 50% dos pacientes com tumores de pequenas dimensões e cerca de 62,3% dos pacientes, acometidos por tumores de dimensões maiores, desenvolviam metástases, sendo verificado que este parâmetro foi um forte indicador de sobrevida e prognóstico em pacientes acometidos por carcinoma de língua.

Alguns outros fatores podem influenciar no prognóstico e sobrevida dos pacientes com carcinoma epidermóide oral, destacando-se: gradação histológica de malignidade, tamanho, espessura, profundidade, localização do tumor primário e presença de metástases à distância (BRYNE, 1998; RAJHI et al., 2000; TODD; DONOFF; WONG, 1997;). Ho et al. (1992) reportaram que fatores como o tamanho do tumor e a profundidade de invasão muscular estão fortemente associados com o risco de metástase oculta, embora Amaral et al. (2004) não encontraram associação significativa entre profundidade e espessura tumoral, e risco aumentado para metástase oculta cervical.

Existe muita controvérsia na literatura em relação à profundidade e espessura tumoral, devido a ausência de critérios para definí-los, onde muitas vezes esses termos são usados como sinônimos ou utilizados erroneamente (ASAKAGE, YOKOSE, 1998).

Outro fator que tem sido avaliado é a participação do gênero como fator de prognóstico, no entanto, nos estudos realizados por Garavello et al. (2008) e Amaral et al. (2004) não foram observados nenhuma associação estatisticamente significativa entre a influência do gênero no prognóstico de pacientes com carcinoma epidermóide oral.

Com o intuito de uniformizar as informações clínicas e constituir uma forma de comunicação para planejamento e tratamento nos centros oncológicos, a União Internacional Contra o Câncer criou um sistema de estadiamento clínico para tumores malignos, o TNM (CARINCI et al., 1998). Suas variáveis significam: T – tamanho do tumor primário, N – presença de metástase em linfonodos regionais e M - metástases à distância; e a quantificação destes parâmetros constitui o “estadiamento” o qual varia dos estágios I ao IV (ALLISON, LOCKER, FEINE, 1998; NEVILLE et al., 2004).

Os principais objetivos deste sistema são: auxiliar no planejamento, dar alguma indicação do prognóstico e ajudar na avaliação dos resultados do tratamento. Este sistema é baseado na suposição de que pequenos tumores sem metástases têm melhor prognóstico que tumores maiores com metástases, apesar de conhecer-se que alguns tumores com o mesmo estadiamento clínico mostram diferentes padrões de crescimento e prognóstico, reforçando, portanto, a necessidade de outros métodos para avaliação prognóstica (PUGLIANO et al., 1999). Segundo Araújo Júnior, Costa, Ramos (2006) o sistema TNM é considerado como um dos melhores indicadores de prognóstico do carcinoma epidermóide oral.

Um outro fator relacionado também ao comportamento biológico do carcinoma epidermóide oral é a localização anatômica. Costa et al (2002) verificaram que carcinomas localizados em língua e assoalho bucal eram relacionados com estadiamento clínico mais avançado. Miranda (2002) também verificou que a maioria dos carcinomas epidermóides situados em língua eram graduados morfológicamente em alto grau de malignidade, enquanto que os de lábio inferior eram de baixo grau de malignidade. Araújo Júnior et al. (2008)

investigaram a existência de correlação entre localização anatômica, sistema TNM e prognóstico de carcinoma epidermóide oral, e verificaram a presença de associação significativa entre os fatores avaliados, onde os carcinomas epidermóides de língua com estágio III e IV apresentaram pior prognóstico.

Apesar de existirem vários parâmetros clínicos relacionados à agressividade do carcinoma epidermóide oral, como citado anteriormente, muitos aspectos ainda são desconhecidos no tocante a progressão e comportamento clínico desta neoplasia, principalmente com relação às características morfológicas, visto que esse aspecto configura um ponto controverso na literatura. Segundo Kurokawa et al. (2005) as características histológicas da neoplasia são importantes porque refletem a relação imunológica entre o tumor e o hospedeiro. Atualmente encontram-se na literatura diversos sistemas de gradação histológica de malignidade (SGHM) para os carcinomas epidermóides, objetivando fornecer subsídios morfológicos para uma interpretação quanto à agressividade tumoral.

A classificação histológica dos carcinomas epidermóides orais recebeu reforço com os trabalhos de Broders (1941), onde foram avaliados os fatores influenciadores na malignidade dos tumores, relacionando a proporção de células anaplásicas ao grau de malignidade, ressaltando a associação entre a diferenciação dos tumores com o tratamento e prognóstico. Posteriormente, muitas classificações histológicas foram propostas procurando aperfeiçoar as anteriores, acrescentando novos parâmetros, como população celular tumoral, ceratinização, atipias nucleares além da reação do hospedeiro frente ao tumor, avaliando o padrão de invasão, comprometimento vascular e presença de infiltrado inflamatório linfoplasmocitário (JAKOBSSON et al., 1973).

Em 1987, Anneroth, Batsakis e Luna realizaram uma revisão da literatura sobre os sistemas de gradação histológica de malignidade existentes, e criaram um sistema de gradação histológica de malignidade para carcinomas epidermóides orais, considerando a população

tumoral em relação ao grau de ceratinização, pleomorfismo celular e número de mitoses, bem como em relação à resposta do hospedeiro através dos parâmetros padrão de invasão, estágio de invasão e infiltrado inflamatório. Este sistema estabelecia uma escala gradativa que variava dos níveis I ao IV.

Bryne et al., em 1989, propuseram um novo sistema de gradação histológica de malignidade para o carcinoma epidermóide, sendo considerado morfologicamente o grau de ceratinização celular, pleomorfismo celular, número de mitoses, padrão de invasão tumoral e reação inflamatória, emitindo-se valores numéricos de 1 a 4 para os cinco critérios. O escore total foi dado pela soma dos escores. Foram classificados como grau I ou de baixo escore de malignidade, os tumores que mostraram pontuação de 5 a 10 e grau II ou alto escore os que demonstraram pontuação superior a 10.

Bryne (1998) revisou seus trabalhos sobre os sistemas de gradação histológica de malignidade e desenvolveu um SGHM específico para as massas invasivas de carcinomas epidermóides orais baseado no grau de ceratinização, pleomorfismo celular, padrão de invasão tumoral e infiltrado inflamatório, aplicando escores numéricos de 1 a 4 a cada parâmetro, método este priorizando a frente de invasão tumoral. A autora concluiu que esse sistema tem um importante valor para o prognóstico e terapêutica, sugerindo que a gradação do *front* invasivo é um dado valioso para análise histológica, uma vez que vários eventos moleculares de importância ocorrem na interface tumor-hospedeiro, citando-se perdas e ganhos de moléculas de adesão, secreção de enzimas proteolíticas, aumento da proliferação celular e início da angiogênese.

2.2 Galectinas

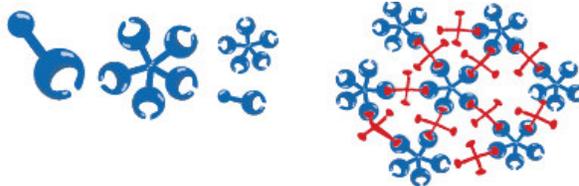
As galectinas, da família de lectinas animais, apresentam uma seqüência permanente de domínio de reconhecimento de carboidratos de aproximadamente 130 aminoácidos e possuem afinidade por β -galactosídeos presentes nas células normais e tumorais. Por possuir esta interação lectina-células estão envolvidas em variados processos biológicos nos organismos tais como controle do ciclo celular, resposta imune, adesão celular, apoptose e metástase (BARONDES et al.,1994; FUKUMORI, KANAYAMA, AVRAHAM, 2007). Estas galectinas se ligam especificamente a proteínas da matriz como a laminina, fibronectina e vitronectina bem como a integrinas através de ligações carboidratos dependentes (ELOLA et al., 2005). Algumas exibem grande distribuição tecidual, outras uma maior especificidade, com distintos padrões de distribuição dentro do próprio tecido (YANG, RABINOVICH, LIU, 2008).

Cerca de 15 tipos de galectinas foram isolados e classificados em três subgrupos de acordo com a sua estrutura. Dessa forma as galectinas podem ser classificadas como monovalentes que são aquelas que possuem um único CRD (domínio de reconhecimento de carboidratos) podendo formar homodímeros tornando-se dessa forma bivalente (galectinas 1,2,5,7,10,11,13,14,15), galectinas bivalentes com seqüência de repetição *tandem* possuindo dois CRDs (galectinas 4,6,8,9,12) e galectinas quiméricas que possuem um único CRD e uma única terminação amino (galectina 3), como mostra a figura 1 (ELOLA et al, 2005; FUKUMORI, KANAYAMA, AVRAHAM, 2007; HIRABAYASHI et al., 2002; LIU et al., 2002, NAKAHARA et al.,2005).

a) Galectinas monovalentes (1,2,5,7,10,11,13,14,15)



b) Galectina tipo quimera (galectina 3)



c) Galectinas tipo tandem repetida (4,6,8,9,12)



Figura 1: Membros da família das galectinas. Fonte: Yang, Rabinovich, Liu, 2008

Segundo Bernardes et al. (2006) algumas células imunes diferentemente expressam galectinas e seu nível de expressão parece ser dependente da diferenciação celular e ativação. Acredita-se que alguns membros da família das galectinas, como é o caso da galectina-3, desempenham um papel essencial na iniciação e amplificação da resposta inflamatória, enquanto outros membros, como a galectina-1, exercem um papel supressor. De acordo com Dhirapong et al. (2008) as galectinas-1 e -3 são expressas em monócitos, macrófagos, células dendríticas, mastócitos e células T e B, participando, assim, em grande escala na resposta imune.

Segundo Araújo-Filho et al. (2006) as galectinas têm recebido cada vez mais atenção científica devido às suas diversas funções, não só na glicobioquímica, mas também na

medicina, com possível ação farmacológica. São consideradas como uma nova classe de proteínas moduladoras chamadas de matricelulares que incluem trombospondina, tenascina, hevina e disintegrinas. Atuam em diversos mecanismos fisiológicos e patológicos, e especificamente nos processos neoplásicos estão associadas ao crescimento tumoral na indução de apoptose, angiogênese e metástase, como ilustra a figura 2 (DUMIC et al., 2006, ELOLA et al., 2005).

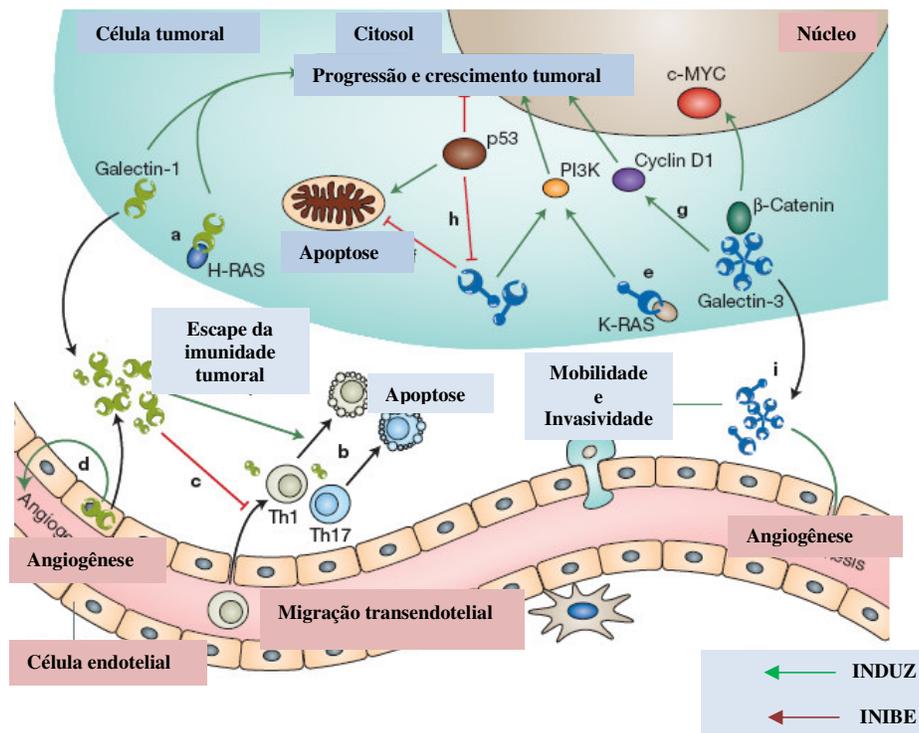


Figura 2: Funções intracelulares e extracelulares das galectinas relacionadas ao desenvolvimento e progressão tumoral. Fonte: Yang, Rabinovich, Liu, 2008.

Camby et al. (2006) relatam que a apoptose é inibida pelo Bcl-2 e pelo Bcl-X e promovida pelo Bax. De forma paralela, a galectina-1 induz apoptose, enquanto a galectina-3 inibe, devido a presença de uma sequência homóloga com o Bcl-2 na sua constituição.

De acordo com Thijssen et al. (2008) tem se analisado também a expressão das galectinas nas células endoteliais, visto que o endotélio é um alvo de novas terapias antineoplásicas. Primeiramente pelo fato de que as células endoteliais estão em contato direto

com o sangue, tornando-as de fácil acesso as drogas antineoplásicas, as quais neste local podem auxiliar na destruição da vascularização tumoral causando a morte das células endoteliais, resultando em perda maciça do tumor. Por último, acredita-se que as células endoteliais são menos resistentes a drogas antineoplásicas.

As galectinas, nas células tumorais, tem se tornado alvo para novas terapias antineoplásicas, devido as suas numerosas funções, notadamente controle da adesão e interação celular, efeitos na proliferação e apoptose celular e propriedades imunossupressivas. Observando, assim, seu papel crucial na progressão tumoral (THIJSEN et al., 2008).

2.2.1 Galectina-1

A galectina-1 é uma proteína homodimérica não covalente de 14kDa, com sítio ligante a galactosina que preferencialmente reconhece complexo tipo glicanos. Suas funções dependem da sua ligação a receptores específicos, tais como a laminina, proteínas de membrana associadas a lisossomos, e fibronectina, que estão localizadas na superfície celular ou na matriz extracelular (CHIANG et al., 2008).

A galectina-1 apresenta funções pró-adesivas e anti-adesivas, funcionando como uma potencializadora ou como inibidora das interações célula-matriz extracelular bem como de interações célula-célula. Segundo Elola et al. (2005) esta lectina tem a capacidade de induzir agregação homotípica e heterotípica de vários tipos celulares, e o seu papel na agregação heterotípica das células tumorais têm sido proposto por vários autores como um passo crucial na invasão celular e metástase.

A galectina-1 tem sido expressa em vários tipos de tumores, incluindo melanoma, tumores ovarianos, tireoidianos e de próstata (DANGUY; CAMBY; KISS, 2002). Embora a expressão da galectina-1 esteja correlacionada com a agressividade tumoral e metástases,

existem achados conflitantes nos estudos realizados em relação aos tumores de cabeça e pescoço (CHOUFANI et al., 1999; LE et al., 2005).

A galectina-1 atua, em geral, como um regulador negativo de respostas auto-imunes e inflamatórias. Estudos *in vitro* têm demonstrado que diferentes glicoproteínas da superfície celular agem como receptores primários da galectina-1, como por exemplo CD45, CD43, CD2, CD3 e CD7. A glicosilação destas glicoproteínas é um fator crítico e determinante que afeta a resposta da célula T à galectina-1 (RABINOVICH et al., 2007).

Dhirapong et al. (2008) acrescentam que a galectina-1 tanto pode estar expressa em células estromais do timo como em células T ativadas. Quando presente nas células estromais do timo, promove a apoptose de células T reativas durante o desenvolvimento. Quando na periferia, promove a morte de células T ativadas, eliminando a possibilidade de uma resposta imune exagerada que poderia assim, resultar em um dano tecidual desnecessário.

Kohrenhagen et al. (2006) avaliaram a expressão da galectina-1 em neoplasias cervicais e observaram que houve um aumento da sua expressão nas neoplasias de grau histológico mais agressivo, principalmente nos fibroblastos ao redor das células tumorais, concluindo, assim, que a galectina-1 está envolvida com a progressão das neoplasias cervicais.

Rubinstein et al. (2004) demonstraram, utilizando uma combinação de estratégias *in vitro* e *in vivo*, o papel da galectina-1 como imunossupressor tumoral. O bloqueio da atividade antiapoptótica e imunossupressora da galectina-1 dentro do tecido tumoral resultou em aumento da rejeição tumoral mediada por células T, com aumento da sobrevivência de células Th1 produzindo IFN- γ . Thijssen et al. (2008) relatam que em estudos *in vitro* de cultura de células endoteliais de carcinoma de colón, de cabeça e pescoço e de próstata havia um aumento da expressão da galectina-1 induzida pela adição do IFN- γ , sugerindo, portanto, que a galectina-1 é um marcador inicial de células endoteliais ativadas *in vitro*.

Le et al. (2005) recentemente identificaram a galectina-1 como uma molécula associada entre hipóxia e imunidade tumoral. Estes autores encontraram uma forte correlação inversa entre a expressão da galectina-1 e a presença de células T em carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço. Estes resultados suportam o conceito de que a galectina-1 nas células tumorais e no estroma associado aos tumores contribui para o privilégio imune tumoral através de uma regulação negativa da sobrevivência ou migração de células T efetoras. Dado seus efeitos imunossupressores a galectina-1 pode ser um alvo para intervenções terapêuticas em casos de carcinoma de cabeça e pescoço.

Chiang et al. (2008) avaliaram os níveis de expressão da galectina-1 em espécimes bem diferenciados de carcinoma epidermóide oral e pacientes saudáveis, observando se existia uma relação com as características clinicopatológicas e o prognóstico. Verificaram que a galectina-1 estava significativamente superexpressa no estroma, bem como no *front invasivo* dos estágios iniciais da carcinogênese. Nos estágios de metástase, a expressão foi observada apenas no *front invasivo*. Esses achados, portanto, sugerem que a galectina-1 pode ser um preditor de metástase na carcinogênese oral.

2.2.3 Galectina-3

A galectina-3, um produto gênico quimérico de 31kDa, é uma lectina intracelular e extracelular, que interage com glicoproteínas da matrix extracelular (GONG et al., 1999, HERMANN et al., 1993). Estruturalmente consiste de três domínios: (a) um domínio terminal NH₂, de 12 aminoácidos, que representa um local de fosforilação sérica que é importante para a regulação da sinalização celular; (b) uma seqüência repetida tipo colágeno, que é rica em glicina, prolina e tirosina; (c) e um domínio de reconhecimento do terminal COOH dos carboidratos, que consiste de 140 resíduos de aminoácidos.

A galectina-3 pode ser expressa tanto em células tumorais como em células normais, inclusive nas células do sistema imunológico. A sua expressão nas células tumorais está correlacionada com invasão tumoral e potencial metastático em alguns tipos de cânceres. Pesquisas recentes têm mostrado que a galectina-3 é uma proteína oncogênica multifuncional e que regula o crescimento, adesão e proliferação celular, bem como angiogênese e apoptose, através da sua ligação a glicoproteínas (CHIANG et al., 2008).

Em 1986, Gabius et al. publicaram o primeiro trabalho relatando a expressão da galectina-3 no carcinoma de mama. Após esta descoberta, trabalhos posteriores foram realizados avaliando a expressão da galectina-3 em melanomas, fibrossarcoma, células do tumor pancreático, adenocarcinoma, leucemia, câncer de cólon e de próstata (ARAÚJO-FILHO et al., 2006).

Embora a galectina-3 seja predominantemente localizada no citoplasma de células tumorais, também tem sido detectada no núcleo, sugerindo que seja uma proteína situada ora no núcleo ora no citoplasma. Quando localizada no citoplasma, a galectina tem um importante papel em sua atividade anti-apoptótica, mas tem efeito oposto quando localizado no núcleo (FUKUMURI, KANAYAMA, AVRAHAM, 2007).

Honjo et al. (2000) observaram que a expressão da galectina-3 no citoplasma aumentou durante a progressão do câncer de língua, enquanto que a expressão nuclear diminuiu consideravelmente. Sugerindo, portanto, que esta expressão aumentada no citoplasma estaria associada a sobrevida diminuída destes pacientes.

Estudos *in vitro* têm demonstrado que a galectina-3 quando localizada intracelularmente tem função anti-apoptótica e está implicada em diversos processos biológicos incluindo diferenciação celular, enquanto que extracelularmente a galectina-3 atua como indutora de apoptose das células T através da ligação ao CD7 e CD29 na superfície celular, bem como pode atuar como fator de crescimento positivo ou negativo, dependendo

das células alvo, pode promover a adesão celular e ativar alguns tipos celulares, como mastócitos, neutrófilos e monócitos (ACOSTA-RODRIGUES et al., 2004, LE MARER, 2000, SWARTE et al., 1998).

Bernardes et al. (2006) analisaram, em ratos, a participação da galectina-3 nos eventos iniciais responsáveis pela indução e regulação da resposta imune contra o *Toxoplasma gondii*, observando que a ausência da galectina-3 aumentou a produção da IL-12 pelas células dendríticas, induzindo assim, ao desenvolvimento de uma resposta imune tipo Th-1 aumentada. Portanto, pode se afirmar que a galectina desempenha um papel em ambas as respostas imunes, inata e adaptativa, frente a diferentes patógenos.

Araújo-Filho et al. (2006) avaliaram a expressão da galectina-3 em tecidos normais de próstata, hiperplasia benigna da próstata e adenocarcinoma prostático, observando que houve uma redução significativa da expressão da galectina-3 no adenocarcinoma. Em contrapartida houve uma maior expressão dessa proteína nos fragmentos de tecidos normais quando comparados à contraparte maligna. De acordo com os dados obtidos deste estudo, os autores sugerem que a diminuição na expressão da galectina-3 está associada à progressão do câncer de próstata.

Plzák et al. (2004) avaliaram a expressão da galectina 3 em 53 casos de carcinoma de laringe e orofaringe e observaram que 23 casos (43%) exibiram expressão aumentada, e que houve uma associação positiva com a metástase e a gradação histológica de malignidade. Estes achados, portanto, suportam a hipótese de que a glicosilação da superfície celular pode estar associada com o comportamento tumoral.

Gillenwater et al. (1998) analisaram a expressão da galectina-1 e -3 em 35 casos de carcinoma primário de células escamosas de cabeça e pescoço e observaram que a galectina-1 foi detectada, na maioria dos casos, na camada basal da mucosa normal adjacente, no estroma e na periferia das ilhas tumorais invasivas. A galectina-3 localizava-se nas camadas

superficiais, e adjacente as pérolas de ceratina nas áreas de invasão. Concluíram que as galectinas estão expressas na superfície celular tumoral, onde participam de interações celulares, bem como o padrão de expressão das galectinas parece estar associado com o grau de diferenciação tumoral, sugerindo, portanto, um papel importante das galectinas como marcadores biológicos e de diferenciação em carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço.

Evidências clínicas têm mostrado que a expressão da galectina-3 está associada com a carcinogênese e agressividade do melanoma, carcinoma renal, de tireóide, de útero e cólon (CASTRONOVO et al., 1996; LOTAN et al., 1991; TAKENAKA et al., 2004, VAN DEN BRULE, WALTREGNY, CASTRONOVO, 2000).

A galectina 3 pode exibir marcação imuno-histoquímica nuclear ou citoplasmática, ou ainda ambas. Sua marcação citoplasmática está associada a sua função anti-apoptótica, favorecendo a progressão tumoral; quando expressa no núcleo, a função apoptótica está perdida (HONJO et al., 2000; CALIFICE et al., 2004; TAKENAKA et al., 2004).

A galectina 3 exerce sua função antiapoptótica, embora os mecanismos não sejam bem esclarecidos. Alguns autores sugerem que esta proteína, em resposta a drogas citotóxicas, transloca-se do núcleo para o citoplasma, especificamente, para a membrana perinuclear, sob fosforilação das quinases (TAKENAKA et al., 2004), onde efetivamente protege a integridade mitocondrial, prevenindo a liberação do citocromo c e subregulando a cascata das caspases (FUKUMURI et al., 2006; YU et al., 2002).

Ferrazo et al. (2007) avaliou a expressão imuno-histoquímica da galectina 3 em 14 casos de carcinoma adenóide cístico e 12 casos de adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade sediados em glândulas salivares menores, observando maior marcação no carcinoma adenóide cístico tubular particularmente nas células luminais do subtipo tubular, enquanto nos subtipos sólido e cribriforme a marcação foi menor e restrita às células que

circundavam os espaços luminais. Nos casos do carcinoma adenóide cístico a marcação foi predominantemente nuclear ao passo que no adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade a marcação foi predominantemente citoplasmática. Com base nos resultados obtidos a autora sugere que a expressão da galectina 3 nas lesões estudadas parece estar mais relacionada com diferenciação celular do que propriamente com progressão dos tumores e prognóstico.

2.2.3 Galectina-4

A galectina-4, de domínio bivalente, tem sido identificada como uma proteína de junção em células epiteliais orais de porcos, e está predominantemente expressa no intestino e estômago de ratos, sugerindo, assim, seu possível papel na arquitetura das junções aderentes (YANG; RABINOVICH, LIU, 2008).

Estudos também têm mostrado sua possível participação na patogênese de doenças inflamatórias intestinais, devido a sua capacidade de estimular células T CD4+ nos ratos com colite, a produzir IL-6, uma citocina inflamatória que contribui na progressão da doença. Portanto, para esses ratos com doenças inflamatórias intestinais foram administrados anticorpos anti-galectina-4, no qual se observou uma diminuição na progressão da doença (HOKAMA et al., 2004).

Paclik et al. (2008) avaliaram a participação da galectina-4 em doenças intestinais inflamatórias de ratos e observaram que sua expressão foi seletiva e secretada por células epiteliais intestinais e ligava-se potencialmente a células T CD3 ativadas da lâmina própria da mucosa e da periferia, induzindo apoptose destas células T ativadas e reduzindo a secreção de citocinas pró-inflamatórias, tal como a IL-17. Os autores concluíram, assim, que a galectina-4 desempenha importante papel no controle da inflamação podendo ser utilizado como alvo terapêutico efetivo em doenças com distúrbios de expansão das células T e apoptose, como as

doenças intestinais inflamatórias. Elucidando, portanto, os achados encontrados por Hokama et al. (2004).

O potencial de induzir apoptose das células T é comum a galectinas tipo quimera e *tandem* repetido, no entanto, as vias que as mesmas utilizam são distintas. Enquanto a galectina-1 induz apoptose via dependente das caspases (MATARRESE et al., 2005), a galectina-4 induz a morte celular apenas através da via de sinalização calpaina-cálcio dependente, sem interferência dos inibidores das caspases para bloquear sua atividade pró-apoptótica (PACLIK et al., 2008).

Stowell et al. (2007) verificaram a possível indução da galectina-4 na exposição superficial da fosfatilserina em neutrófilos humanos ativados e observaram que esta galectina liga-se aos linfócitos T ativados, mas não induz nem exposição da fosfatilserina nem apoptose, indicando que o efeito das galectinas são célula específico, sugerindo, assim, um novo papel imunoregulador das galectinas sobre os leucócitos independentemente da apoptose.

Huflejt e Leffler (2004) avaliaram a expressão da galectina-4 em carcinoma de mama e observaram ausência ou fraca expressão nestes casos; no entanto em casos de doença proliferativa benigna de mama e carcinoma ductal *in situ* a expressão foi mais forte.

Em casos de neoplasias, sejam benignas ou malignas, localizadas na cavidade oral não foram encontrados estudos na literatura em relação a participação da galectina-4 em sua progressão tumoral.

2.2.4 Galectina-7

A galectina-7 é uma proteína monomérica que foi descrita inicialmente, por Madsen et al. (1995), como um marcador de diferenciação dos ceratinócitos. Esta lectina está presente em todos os subtipos de ceratinócitos, em todas as camadas celulares na epiderme e também

na córnea e esôfago, sendo secretada por células proliferantes, quiescentes bem como ceratinócitos diferenciados (ELOLA et al.,2005). A princípio acreditava-se que a galectina-7 eliminava as células tumorais devido ao fato que sua expressão estava induzida pelo p53 e atuava, assim, como um regulador de apoptose (MADSEN et al., 1995). No entanto, uma série de estudos tem demonstrado que a expressão da galectina está associada com a progressão tumoral.

Yang, Rabinovich e Liu (2008) afirmam que a galectina-7 é um alvo de transcrição inicial da p53, pois observaram que a expressão desta galectina está aumentada após exposição aos raios UVB dos ceratinócitos da pele, paralelamente a estabilização e inibição da apoptose, levando ao desenvolvimento dos carcinomas de pele.

Demers et al. (2007) avaliaram a expressão da galectina-7 em linfomas e observaram: em ratos, que a transfecção de células de linfoma com um plasmídeo contendo cDNA de galectina-7 significativamente inibiu a disseminação e invasão de células para órgãos periféricos, aumentando a sobrevivência dos ratos; em cultura de células, que a inibição da galectina-7 em células de linfoma agressivo estava correlacionado com uma diminuição da invasão das células tumorais e com uma redução da expressão da metaloproteinase 9 (MMP-9); na imunohistoquímica, a expressão da galectina foi intensa em 50 diferentes neoplasias de células B maduras. Os autores sugerem que a galectina-7 é um potencial alvo terapêutico nas neoplasias linfóides, controlando a expressão da MMP-9 nestes tipos de neoplasias.

O mesmo grupo de autores acima citado, em 2005, mostraram a associação da expressão da galectina-7 com a indução da expressão da MMP-9 baseados nas seguintes hipóteses: os transfectantes de galectina-7 exibiam altos níveis de expressão da MMP-9; frente a adição de β -lactose havia uma expressão completamente diminuída da MMP-9 induzida pela galectina-7; e a galectina-7 humana e de ratos induzia a expressão da MMP-9 também em células de linfoma de humanos e de ratos. Estes resultados abrem uma gama de

possibilidades que possam investigar a relação funcional entre as galectinas e as MMPs durante diferentes processos biológicos, tal como a progressão tumoral.

Than et al. (2008) estudaram a expressão das galectinas-3 e -7 em neoplasias de tireóide, observando que houve uma associação estatisticamente significante na expressão da galectina-3 em casos de neoplasias malignas quando comparada com as benignas, enquanto que para a galectina-7 não houve diferenças estatísticas. Para os autores, a galectina-3, mas não a galectina-7, pode ser utilizada como marcador de diferenciação das neoplasias de tireóide.

Saussez et al. (2008) analisaram a expressão da galectina-1 e -7 em casos de neoplasias de laringe e de hipofaringe, e observaram que na progressão tumoral, houve uma associação estatisticamente significativa entre o aumento da expressão da galectina -1, bem como uma mudança nesta localização do citoplasma para o núcleo, enquanto que a expressão da galectina-7 aumentou do núcleo para o citoplasma. Estes autores sugerem que a localização nuclear da galectina-7 está associada com a carcinogênese inicial, diferentemente da galectina-1, exibindo uma divergência funcional entre as galectinas avaliadas.

Langbein et al. (2007) estudaram a expressão da galectina-7 em neoplasias uroteliais e observaram sua expressão em todas as linhagens de células analisadas normais e tumorais, sendo que esta expressão aumentou com a progressão tumoral, bem como a localização no citoplasma, principalmente nos casos de tumores com invasão muscular. Sem, no entanto, exibir diferenças estatisticamente significante com a gradação histológica e a sobrevida do paciente.

A aparente discrepância da expressão da galectina-7 em diferentes tipos celulares pode ser explicada pelo fato que esta proteína pode ser encontrada no meio intracelular, seja no citoplasma ou no núcleo, ou no meio extracelular, no entanto, exibindo diferentes funções de acordo com sua localização celular (KUWABARA et al., 2002).

3 PROPOSIÇÃO

A presente pesquisa teve como objetivos principais:

- Avaliar os dados clínicos e morfológicos em uma série de casos de carcinomas epidermóides de língua;
- Avaliar a expressão das galectinas-1, -3, -4 e -7, segundo a intensidade, tipo celular e localização intracelular desta marcação, em uma série de casos de carcinomas epidermóides de língua;
- Correlacionar esta expressão imuno-histoquímica com os dados clínicos (estadiamento clínico (TNM), metástases, desfecho da doença) e gradação histológica de malignidade proposto por Bryne (1998), com o intuito de verificar a possível utilização dessas galectinas como indicadoras de progressão tumoral.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Caracterização do Estudo

A presente pesquisa se constituiu em uma análise qualitativa descritiva e analítica do aspecto imuno-histoquímico de correlação entre a expressão das galectinas 1, 3, 4 e 7 com dados clínicos e morfológicos em carcinomas epidermóides de língua.

4.2 População

A população objeto do presente estudo foi constituída por todos os casos de carcinomas epidermóides de língua registrados e diagnosticados no Serviço de Patologia Cirúrgica do Hospital Dr. Luiz Antonio, Natal-RN, no período de 1996 a 2003, no Núcleo de Prevenção ao Câncer Bucal do Hospital da FAP-PB, no período de 2000 a 2007 e no Hospital Napoleão Laureano-PB, no período de 2000 a 2007.

4.3 Amostra

A amostra selecionada para a realização deste estudo compreendeu 65 casos de carcinoma epidermóide de língua, provenientes de pacientes registrados e atendidos nos hospitais supracitados, e que os mesmos foram submetidos a tratamentos cirúrgicos nestes locais, sendo obtidos, assim, os dados clínicos referentes ao sexo dos pacientes, faixa etária, raça, hábitos, presença ou não de metástases, estadiamento clínico da lesão e desfecho da doença, a partir da análise dos prontuários.

4.3.1. Critérios de Inclusão da Amostra:

Foram incluídos na amostra, os casos de carcinoma epidermóide de língua, resultantes de tratamento cirúrgico, cujos prontuários continham todos os dados necessários

para a realização do estudo clínico, e os blocos em parafina correspondentes exibiam quantidade de material suficiente para confecção de lâminas histológicas coradas em H/E, realização da gradação histológica e do estudo imuno-histoquímico.

4.3.2. Critérios de exclusão da amostra:

Foram excluídos do estudo, os casos cujos prontuários estavam incompletos, bem como aqueles que não foram provenientes de biópsia excisional e conseqüentemente não possuíam quantidade de material suficiente para realização da gradação histológica e estudo imuno-histoquímico, além dos casos que receberam quimioterapia ou radioterapia previamente a realização do tratamento cirúrgico.

4.4 Estudo Clínico

Dos prontuários analisados, foram obtidas informações em relação ao sexo do paciente, faixa etária, raça, hábitos, estadiamento clínico (TNM) da lesão, presença ou não de metástase e desfecho da doença. Estes dados foram anotados em um ficha previamente elaborada pela própria examinadora (Apêndice 1), e depois computados e utilizados para análise estatística.

4.5 Estudo Morfológico

Do material emblocado em parafina, foram obtidos cortes histológicos de 5 µm de espessura que foram corados pela técnica da Hematoxilina e Eosina (H/E) para realização da análise da gradação histológica de malignidade.

A realização da avaliação histomorfológica das áreas do tumor para estabelecimento da gradação histológica foi feita com base nos critérios de malignidade, conforme o sistema de gradação histológica proposto por Bryne (1998) (Quadro 1), e de acordo com a adaptação de Miranda (2002)

Quadro 1. Sistema de gradação de malignidade “*front de invasão*” recomendado por Bryne (1998)

Aspectos Morfológico	Escore de Malignidade			
	1	2	3	4
Grau de Ceratinização	Altamente ceratinizado (mais de 50% das células)	moderadamente ceratinizado (20 a 50% das células)	mínima ceratinização (5 a 20% das células)	nenhuma ceratinização (0 a 5 % das células)
Pleomorfismo Nuclear	pouco pleomorfismo nuclear (mais de 75% de células maduras)	moderado pleomorfismo nuclear (50 a 75% de células maduras)	abundante pleomorfismo (25 a 50 % de células maduras)	pleomorfismo nuclear extremo (0 a 25% de células maduras)
Padrão de Invasão	bordas infiltrativas bem delimitadas	cordões, bandas e/ou trabéculas sólidas infiltrativas)	pequenos grupos ou cordões de células infiltrativas (N>15)	dissociação celular difusa e pronunciada, em pequenos grupos e/ou células individuais (N<15)
Infiltrado Inflamatório	Intenso	moderado	escasso	Ausente

Objetivando a gradação final dos casos em baixo ou alto grau de malignidade foram aplicados escores de 1 a 4 para cada parâmetro conforme consta no quadro 1, entretanto foi utilizada uma adaptação proposta por Miranda (2002), o qual classificou em seu estudo como tumores de baixo grau, aqueles que obtiveram um escore variando de 4 a 8, e em alto grau, os que obtiveram escores a partir de 9. Os dados obtidos através desta análise foram anotados em fichas individuais (Apêndice 2).

4.6 Estudo Imuno-Histoquímico

O método da imuno-histoquímica foi realizado no laboratório de imuno-histoquímica do Programa de Pós-Graduação em Patologia Oral do Departamento de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte -UFRN.

Todos os espécimes de carcinomas epidermóides de língua fixados em formol a 10% e emblocados em parafina, referentes aos casos selecionados para este estudo, foram submetidos a cortes histológicos de 3µm de espessura, os quais foram estendidos em lâminas de vidro, previamente limpas e desengorduradas, preparadas com adesivo à base de 3-aminopropyltriethoxy-silano (Sigma Chemical CO, St Louis, MO, USA). Posteriormente, o material foi submetido à técnica da streptoavitina-biotina (SABC, do inglês Streptoavidin-Biotin Complex), utilizando os anticorpos primários anti-galectina 1, anti-galectina 3, anti-galectina 4 e anti-galectina 7 (Novocastra laboratorie), seguindo os passos laboratoriais descritos abaixo:

- Xilol 1 (30 minutos), estufa 59° - desparafinização
- Xilol 2 (20 minutos), temperatura ambiente - desparafinização
- Etanol absoluto I, II, III – 5 minutos cada;
- Etanol 95°/ 5 minutos;
- Etanol 80°/ 5 minutos;
- Etanol 95% + Hidróxido de amônio a 10% 10 minutos (retirada do pigmento formólico);
- Lavagem das lâminas em água corrente, 10 minutos;
- Água destilada, 2 trocas, 5 minutos cada.
- Recuperação antigênica (quadro 2);
- Água corrente, 10 minutos;

- Bloqueio da peroxidase endógena com H₂O₂ 10 VOL (2 tempos de 10 minutos)
- Água corrente, 10 minutos;
- Água destilada, 2 trocas, 5 minutos cada;
- TRIS pH 7,4, duas trocas, 5 minutos cada;
- Incubação dos cortes com os anticorpos primários diluídos em solução diluente (DakoCytomation – Antibody Diluent with Background Reducing Components – Ref. S3022 – Dako Carpinteria, CA, USA), seguindo os protocolos do laboratório de Imuno-histoquímica do Programa de Pós-Graduação em Patologia Oral da Universidade Federal do Rio Grande do Norte no que se refere a diluição, tempo de incubação e recuperação antigênica;
- Duas passagens em solução Tween 20 a 1% em TRIS-HCL (pH 7.4), por 5 minutos cada;
- Incubação por 30 minutos no reagente do sistema Envision + Dual Link System-HRP (Dako Cytomation, Code: K4061-Carpinteria – CA-USA) durante 30 minutos à temperatura ambiente;
- Lavagem com TRIS;
- Revelação da reação com diaminobenzidina em câmara escura
- Lavagem em água corrente, 10 minutos;
- Passagem em água destilada;
- Contracoloração com Hematoxilina de Mayer, 10 minutos;
- Lavagem em água corrente, 10 minutos;
- Água destilada, duas trocas, 5 minutos;
- Desidratação, diafanização e montagem.

Quadro 2 – Quadro evidenciando especificidade para os anticorpos que foram utilizados, diluição, tempo de incubação e fabricante.

Clone	Especificidade	Diluição	Fonte	Rec. Antigênica	Incubação
25C1	Galectina-1	1:100	Novocastra ¹	Citrato pH 6.0 Pascal	Overnight
9C4	Galectina-3	1:100	Novocastra ¹	Citrato pH6.0 Pascal	60'
8A6	Galectina-4	1:25	Novocastra ¹	Citrato pH6.0 Pascal	Overnight
5F12	Galectina-7	1:100	Novocastra ¹	Sem tratamento	60'

¹Novocastra Laboratories LTDA

Como controle positivo foi utilizado a mucosa oral normal adjacente a lesão analisada. Como controle negativo não foi realizada a incubação com o anticorpo primário, sendo este substituído por albumina à 1%.

4.7 Análise das Células Imunomarcadas

Após a realização da fase laboratorial, do método imuno-histoquímico, as lâminas de cada espécime foram analisadas ao microscópio de luz sob aumentos de 40x e 100X. Foram consideradas positivas todas as células que exibiram coloração acastanhada seja no meio intracelular ou na membrana plasmática. Através da microscopia de luz foi feita análise da expressão das galectinas 1, 3, 4 e 7, por dois avaliadores, que verificaram a presença ou ausência de marcação, além da intensidade de marcação sendo atribuídos os escores 0 para ausência de marcação, escore 1 para fraca marcação, escore 2 para moderada marcação, e escore 3 para forte marcação. Avaliou-se também o tipo celular marcado (estroma ou parênquima), bem como a localização desta marcação nas células (núcleo, citoplasma, núcleo/citoplasma ou transmembranar) (CHIANG et al., 2007, HONJO et al., 2000, SAUSSEZ et al., 2007, THAN et al., 2008).

4.8 Análise Estatística

Uma vez realizadas as análises morfológicas e imuno-histoquímicas, os resultados obtidos foram submetidos a testes estatísticos adequados, com o intuito de testar as hipóteses de correlação dos dados clínicos como estadiamento clínico, desfecho, metástase, sistema de gradação histológica de malignidade (SGHM) e a expressão das galectinas 1, 3, 4 e 7. Para as demais variáveis clínicas, como sexo, hábitos, faixa etária e raça, foi realizada apenas uma análise descritiva.

4.8.1 Delineamento da análise

Os dados foram digitados originalmente em uma planilha eletrônica do programa de Excell 2007 e posteriormente exportados para formato DBF (*Data Base Format*), para poder ser lido pelo programa Statistical Package for Social Science (SPSS), versão 16.0, onde foram feitas as análises.

4.8.2 Variáveis estudadas

Quadro 3- Quadro evidenciando as variáveis analisadas, bem como sua classificação e categorização

Variável	Classificação	Categorias
Estadiamento clínico	Categórica	I e II, III e IV
Metástase	Categórica	Sim, Não
Desfecho	Categórica	Óbito, Remissão
Gradação histológica	Categórica	Baixo grau, Alto grau
Marcação dos anticorpos Gal	Categórica	Presente, Ausente
Intensidade de marcação	Categórica	Ausente/fraca, moderada/forte
Tipo celular marcado	Categórica	Estroma, parênquima
Localização de marcação	Categórica	Núcleo, citoplasma, núcleo/citoplasma, membranas

4.8.3 Definição do teste estatístico

Considerando que, tanto as variáveis dependentes quanto as independentes são do tipo categórica, optou-se por uma análise bivariada, tendo como teste de escolha o qui-quadrado (Q^2), sendo o nível de significância adotado para os casos estudados foi de 95% ($p < 0,05$).

4.9 Implicações Éticas

Antes da realização desta pesquisa, este projeto foi enviado para apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN, sendo aprovado pelo protocolo nº140/07, CAAE: 01650051000-07 (Anexo 1), bem como financiado pelo Programa de Pós-graduação em Patologia Oral da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) e pelo CNPq (Edital Universal- Projeto 479118/2007-8).

5 RESULTADOS

5.1 Análise descritiva dos aspectos clínicos

Fazendo uma análise descritiva dos dados clínicos dos 65 casos de carcinoma epidermóide de língua estudados, pode se observar que a maioria dos casos (66%) eram do sexo masculino, sendo a faixa etária mais freqüente entre 51 a 60 anos, perfazendo 32,3% da amostra. A raça melanoderma foi predominante totalizando 27 casos (41,5%) da amostra total. Dos hábitos analisados, o tabagismo foi preponderante (47,7%), e em 20% dos casos em associação ao etilismo (Tabela 1).

Tabela 1: Distribuição dos casos de carcinoma epidermóide segundo o sexo, raça, faixa etária e hábitos dos pacientes.

	N	(%)
Sexo		
Masculino	43	66%
Feminino	22	34%
Raça		
Melanoderma	27	41,5%
Feoderma	15	23,1%
Leucoderma	23	35,4%
Faixa etária		
31 a 40 anos	4	6,1%
41 a 50 anos	4	6,1%
51 a 60 anos	21	32,3%
61 a 70 anos	17	26,2%
71 a 80 anos	12	18,5%
81 a 90 anos	7	10,8%
Hábitos		
Tabagista	31	47,7%
Tabagista+ Etilista	13	20%
Não relatado	21	32,3%

Os dados referentes ao estadiamento clínico (TNM), o qual foi classificado de acordo com os parâmetros estabelecidos pela União Internacional Contra o Câncer (U.I.C.C.), o desfecho da doença (remissão/óbito) e a presença ou não de metástase, estão representados na tabela abaixo.

Tabela 2: Distribuição das variáveis TNM, desfecho e metástases em números absolutos (n) e relativos (%).

		N	(%)
Estadiamento clínico	I	20	30,8%
	II	14	21,5%
	III	18	27,7%
	IV	13	20%
Desfecho	Remissão	46	70,8%
	Óbito	19	29,2%
Metástase	Ausência	31	47,7%
	Presença	34	52,3%

5.2 Análise descritiva dos aspectos morfológicos

Foi observada a presença de ninhos ou lençóis tumorais, cujas células exibiam perda de relação núcleo/citoplasma, mitoses típicas e atípicas e hiperchromatismo nuclear, invadindo o tecido conjuntivo subjacente. Alguns casos apresentavam um padrão de diferenciação pronunciado apresentando alto grau de ceratinização e grande quantidade de pérolas córneas (Figura 3 e 4). Nos casos de pobre diferenciação observamos células epiteliais neoplásicas pouco diferenciadas, invadindo o tecido glandular salivar, tecido muscular e feixes nervosos (Figura 5 e 6). Dos 65 casos de carcinoma epidermóide de língua avaliados, 22 (33,8%) se enquadraram no grupo de baixo grau e 43 (66,2%) no grupo de alto grau.

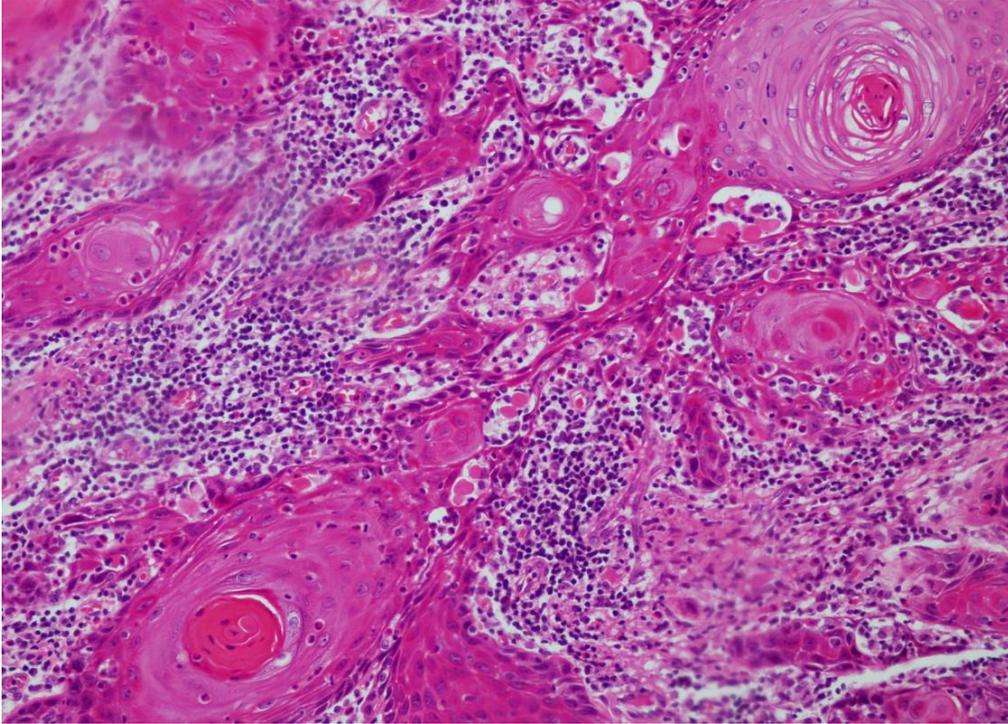


Figura 3: Carcinoma epidermóide de baixo grau evidenciando-se ninhos tumorais com pérolas de ceratina, permeando intenso infiltrado inflamatório (H/E-100X).

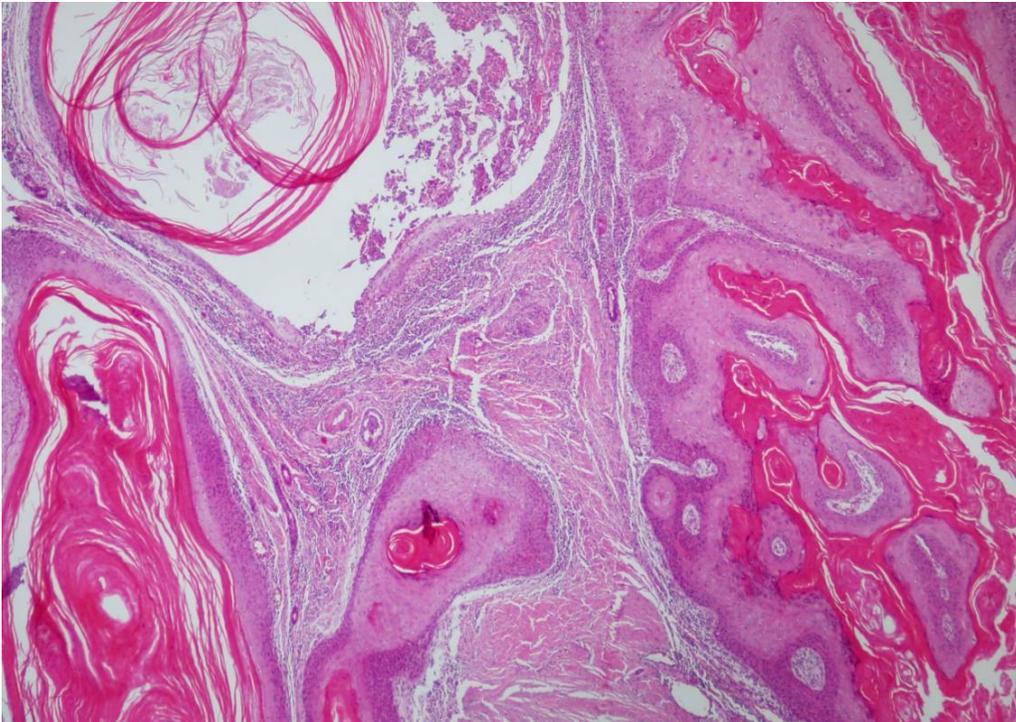


Figura 4: Carcinoma epidermóide de baixo grau evidenciando-se ninhos tumorais com intensa ceratinização (H/E-200X).

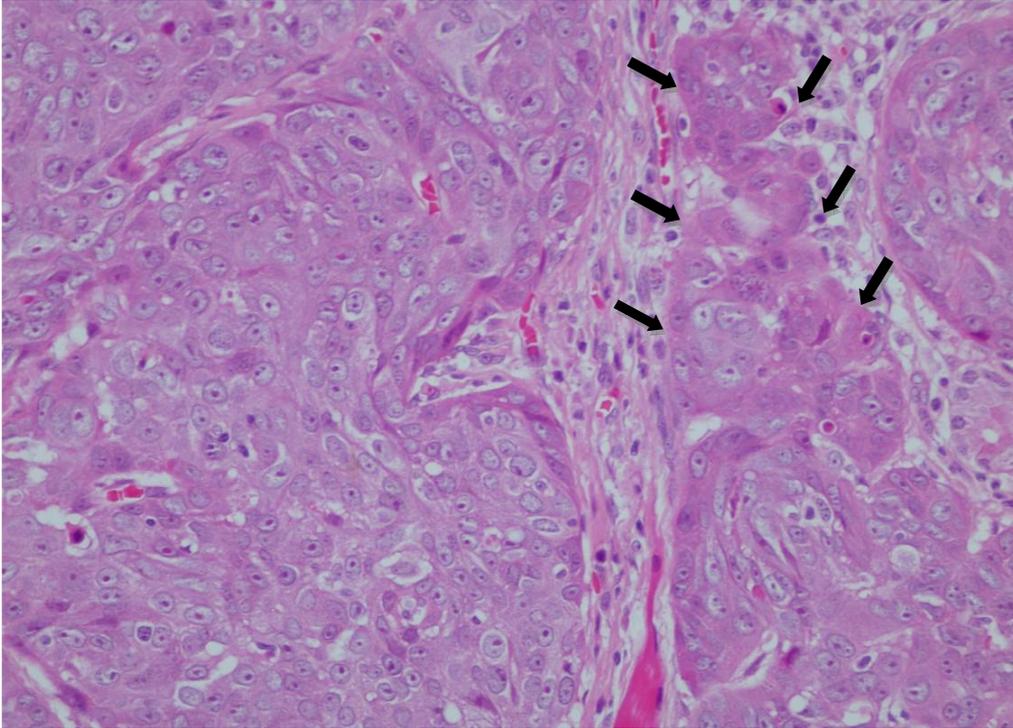


Figura 5: Carcinoma epidermóide de alto grau evidenciando-se mitose atípicas, pleomorfismo celular e desgarramento de células dos ninhos tumorais (H/E-200X).

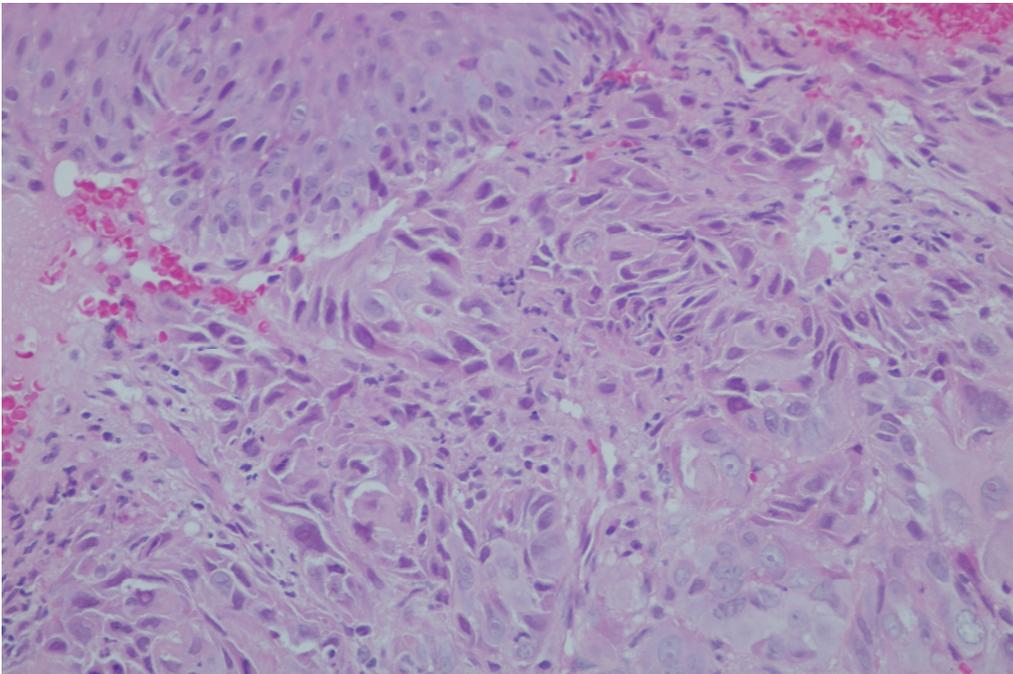


Figura 6: Carcinoma epidermóide de alto grau evidenciando-se intenso pleomorfismo celular e hipercromatismo nuclear nos lençóis tumorais (H/E-200X).

5.3 Análise descritiva da imunoreatividade das galectinas 1, 3, 4 e 7

A expressão das galectinas foram avaliadas com relação a presença ou ausência de marcação, o grau de intensidade, os tipos celulares marcados, bem como a localização dessa marcação nas células (núcleo, citoplasma, membranas).

5.3.1 Galectina 1

A galectina 1 mostrou-se positiva em 57 (87,7%) dos 65 casos de carcinoma epidermóide analisados, tanto no parênquima como nas células estromais (54,4%), como por exemplo, no estroma ao redor dos ninhos tumorais e nas células endoteliais, e localizada no meio intracelular, na maioria dos casos (68,4%) apenas no citoplasma (Figura 7). A intensidade de marcação foi de moderada a intensa em 48 (84,2%) casos. A presença de controle interno positivo representado por fragmentos de glândula salivar menor foi útil na demonstração da eficácia da reação (Figura 8).

5.3.2 Galectina 3

Dos 65 casos avaliados, 57 (87,7%) exibiram imunoreatividade para a galectina 3, sendo expressa de forma mais intensa nas células centrais e periféricas dos ninhos e lençóis tumorais, assim como nas pérolas córneas (Figura 9). Uma menor intensidade de marcação foi observada nas células isoladas neoplásicas, bem como em fibroblastos e células endoteliais (Figura 10). No que diz respeito a localização da imunomarcação nos compartimentos celulares, a mesma se concentrou no citoplasma (61,4%).

5.3.3 Galectina 4

A imunorreatividade para a galectina 4 foi observada em 29 casos (44,6%), localizada no citoplasma (93,1%), principalmente nas células da periferia dos ninhos e lençóis tumorais (86,2%), com uma escassa intensidade em 69% destes casos (Figuras 11 e 12). Por vezes esta marcação também foi observada em células endoteliais e musculares.

5.3.4 Galectina 7

Observou-se uma marcação positiva para a galectina 7 em 48 casos (73,8%), com intensidade de moderada a intensa em 58% destes casos. No que diz respeito a localização da marcação, foi observada, tanto no citoplasma quanto na membrana em 24 casos (50%) (Figuras 13 e 14). Esta marcação, em todos os casos, foi localizada apenas nas células neoplásicas (100%) tanto nas células centrais como nas células da periferia dos ninhos tumorais.

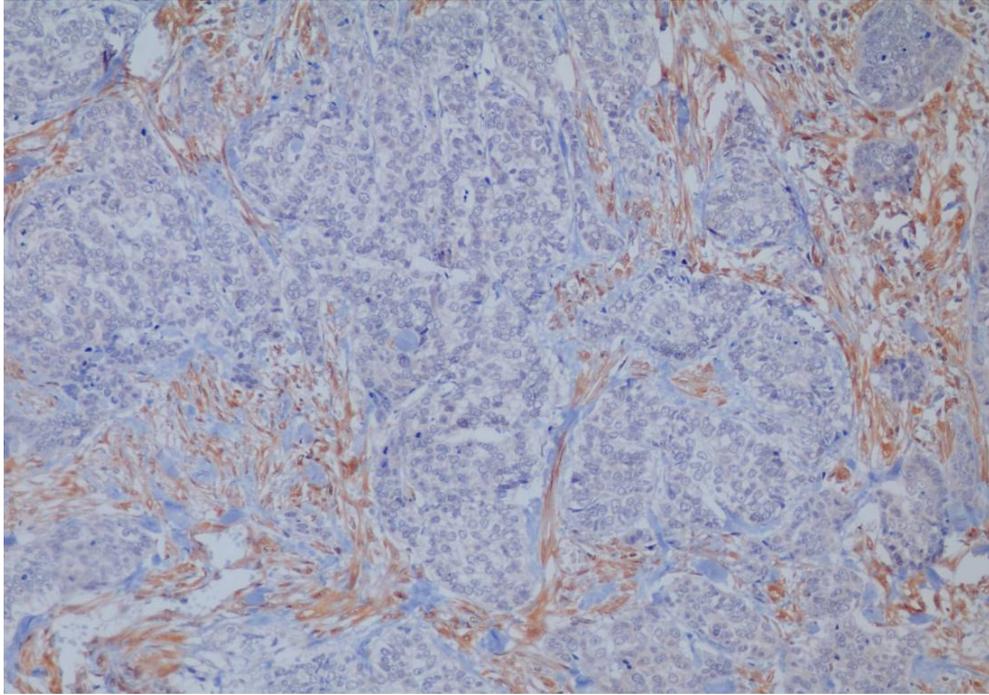


Figura 7: Imunomarcção intensa da galectina 1 em fibroblastos ao redor dos ninhos tumorais (SABC – 100X).

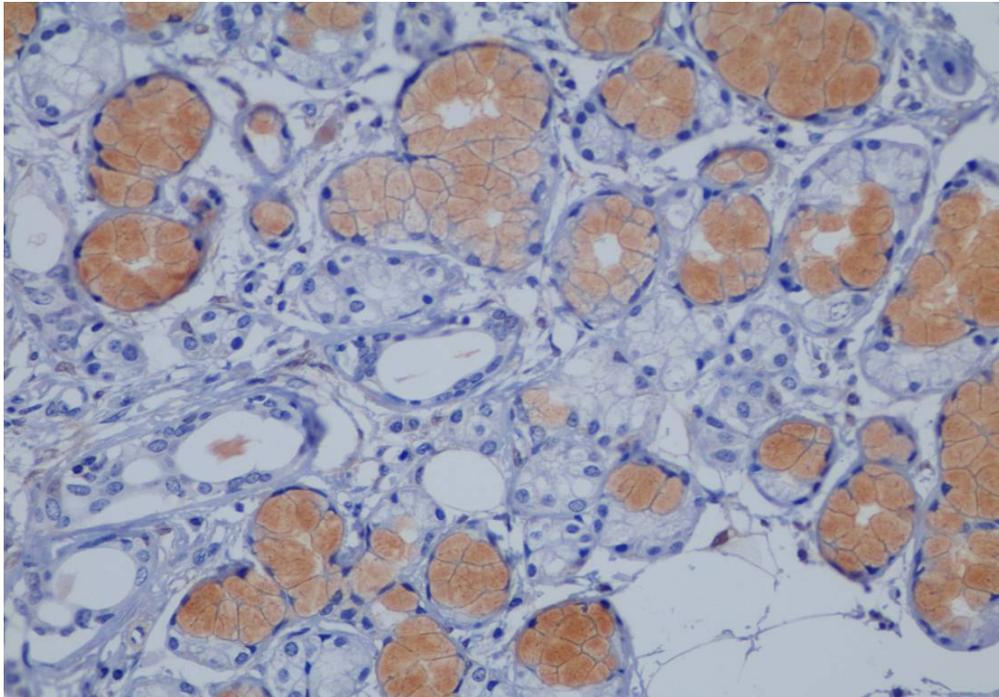


Figura 8: Controle interno positivo representado por fragmentos de glândula salivar menor (SABC-200X).

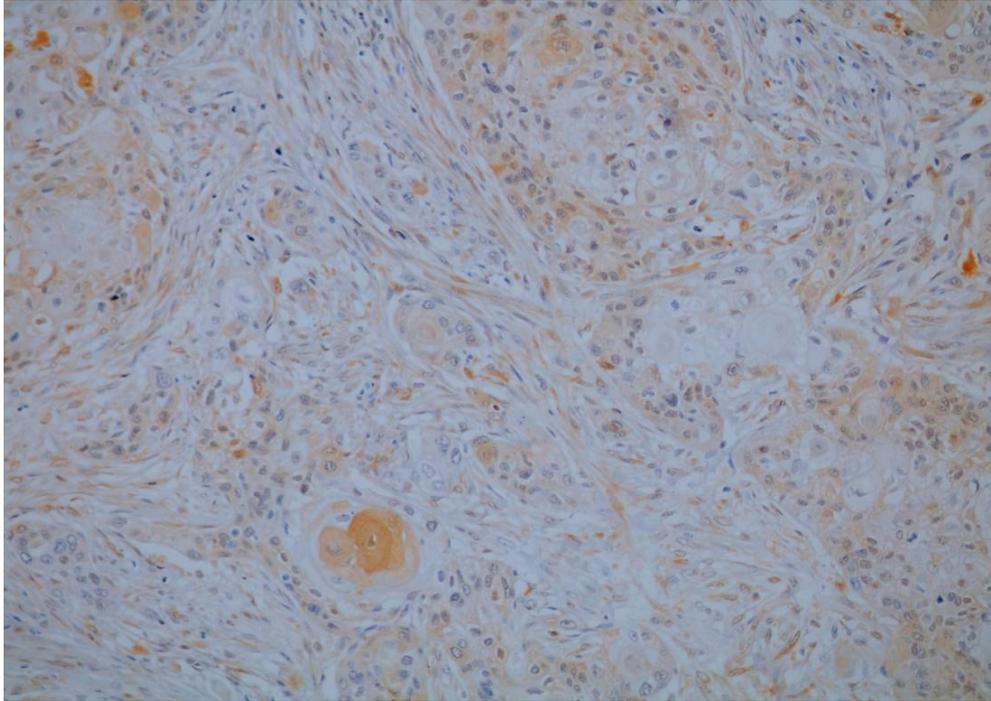


Figura 9: Imunomarcção intensa da galectina 3 nos ninhos tumorais, pérolas córneas e fibroblastos (SABC-100X).

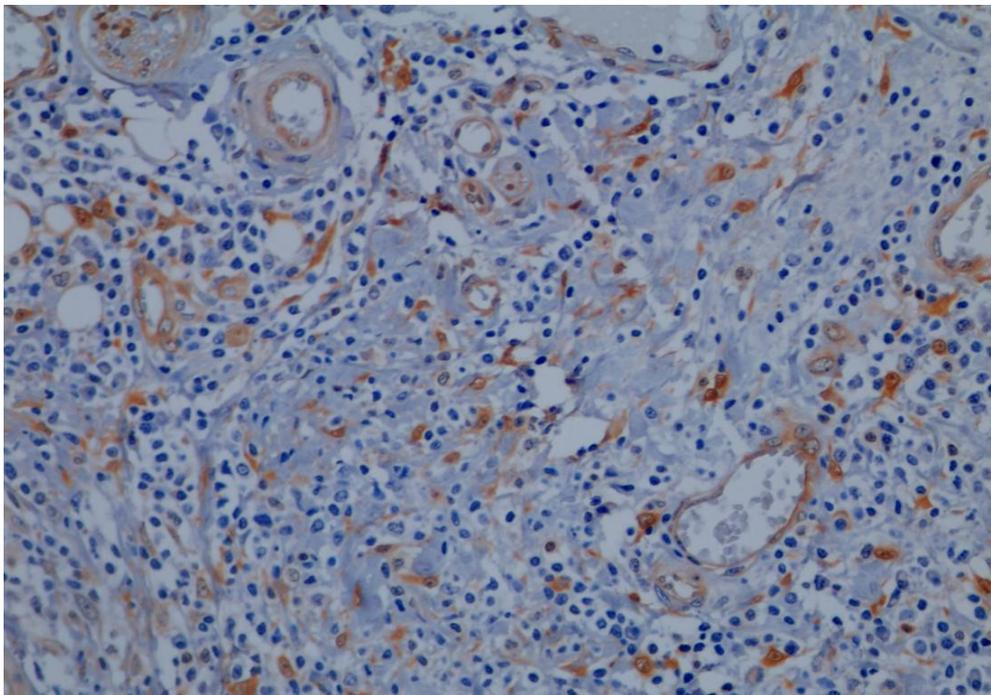


Figura 10: Imunomarcção da galectina 3 nos fibroblastos, células endoteliais e feixes nervosos (SABC-200X).

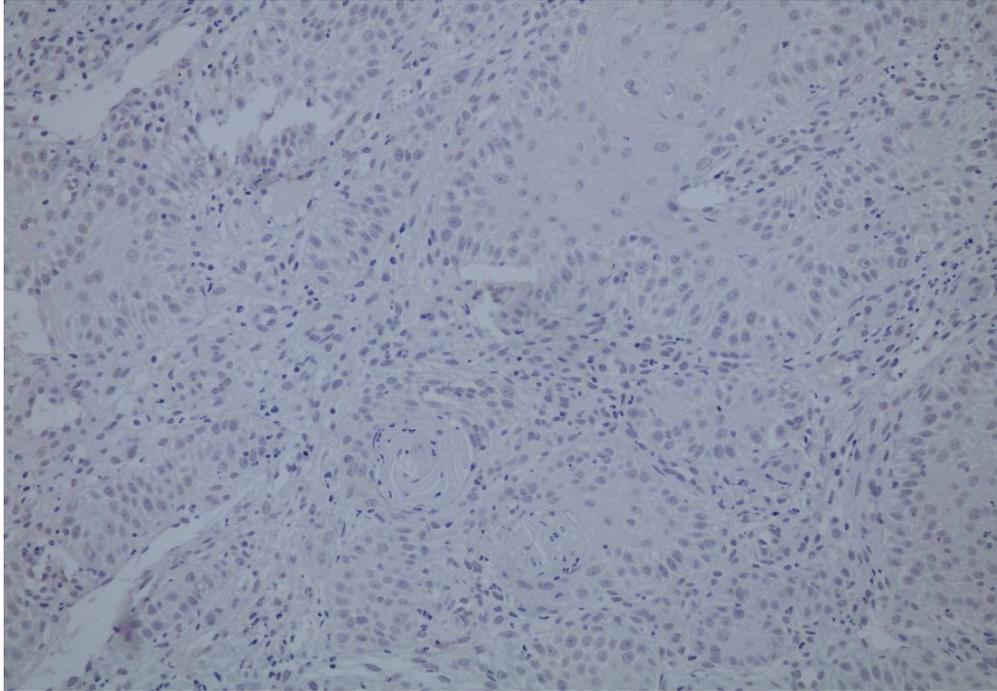


Figura 11: Ausência de imunomarcção da galectina 4 em carcinoma epidermóide de alto grau (SABC-100X).

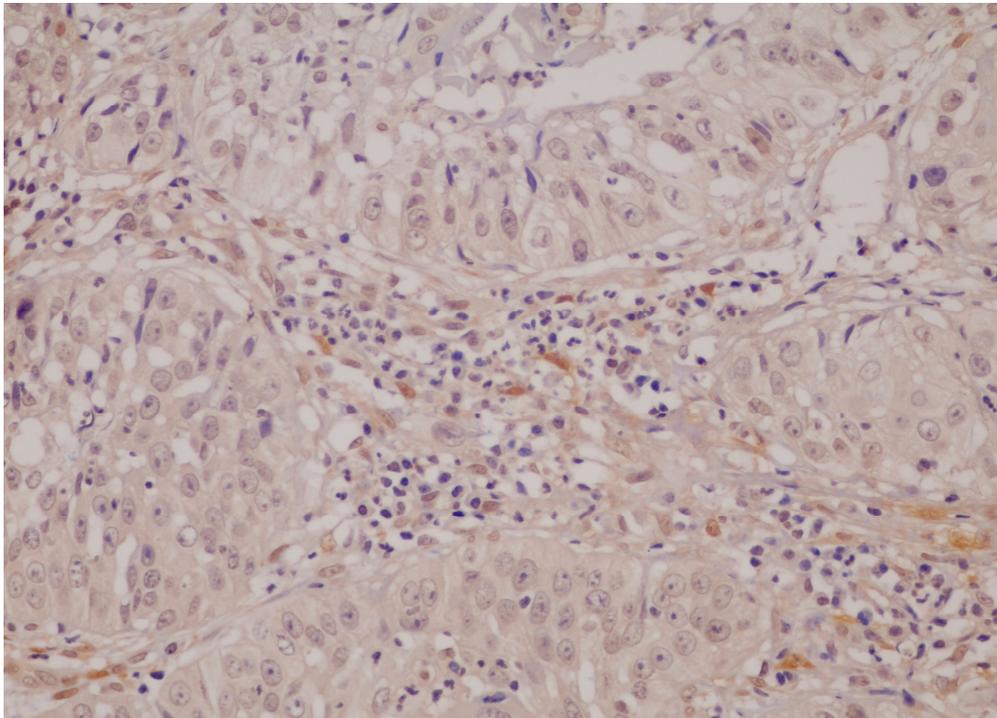


Figura 12: Imunomarcção moderada e citoplasmática da galectina 4 no estroma e ninhos tumorais (SABC-200X).

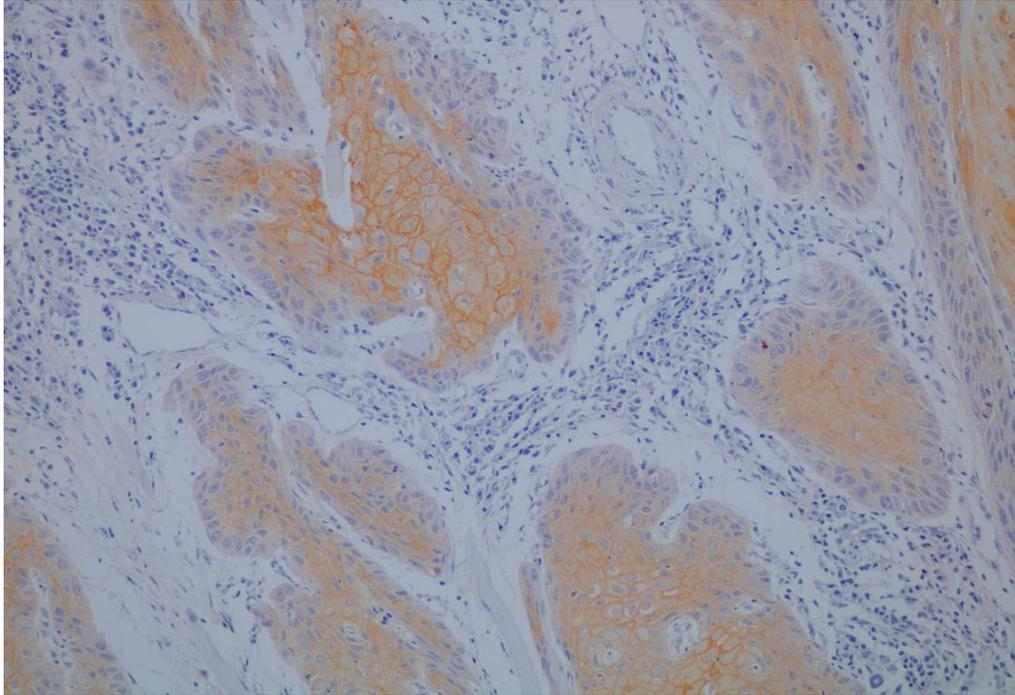


Figura 13: Imunomarcção intensa citoplasmática e membranar da galectina 7 apenas nos ninhos tumorais (SABC-100X).

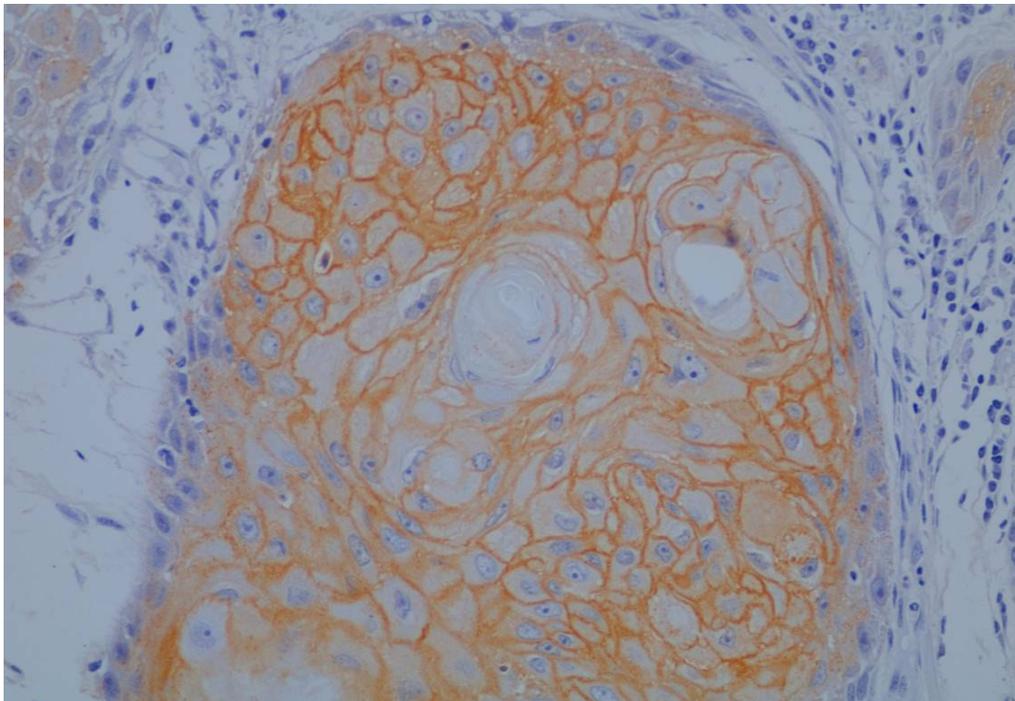


Figura 14: Detalhe da intensa imunomarcção membranar da galectina 7 em ninho tumoral de carcinoma de baixo grau (SABC-200X).

5. 4 Resultados da análise estatística

De posse dos dados de estadiamento clínico, metástase, desfecho, grau histológico e após análise da imunorreatividade para as galectinas 1, 3, 4 e 7, foi realizado a análise estatística dos dados utilizando-se como teste de escolha o Qui² e o valor de p<0,05.

Inicialmente foram feitas as análises das variáveis estadiamento clínico, metástase, desfecho e gradação histológica. Na tabela 3 pode se observar que houve uma correlação estatisticamente significativa entre o estadiamento clínico e o desfecho (p=0,032), e embora 31 casos estivessem em estágios mais avançados da doença (estágio III e IV), destes 18 (58,1%) obtiveram remissão da doença.

Tabela 3: Relação entre estadiamento clínico e desfecho da doença. Significância obtida pelo teste Qui². Natal, RN, 2009.

		Desfecho		Total	Qui ²	P
		Remissão	Óbito			
Estadiamento clínico	I e II	28 (82,4%)	6 (17,6%)	34 (100%)	4,624	0,032
	III e IV	18 (58,1%)	13 (41,9%)	31 (100%)		
	Total	46 (70,8%)	19 (29,2%)	65 (100%)		

Feita a correlação entre metástase e desfecho, observa-se que houve uma associação estatisticamente significativa (p=0,006) entre estas variáveis, onde 27 casos que não tinham metástases obtiveram remissão da doença (tabela 4).

Tabela 4: Relação entre metástase e desfecho da doença. Significância obtida pelo teste Qui². Natal, RN, 2009.

		Desfecho		Total	Qui ²	P
		Remissão	Óbito			
Metástase	Ausência	27 (87,1%)	4 (12,9%)	31 (100%)	7,638	0,006
	Presença	12 (55,9%)	15 (44,1%)	34 (100%)		
	Total	46 (70,8%)	19 (29,2%)	65 (100%)		

Quando se correlacionou estadiamento clínico com metástase observa-se que houve uma correlação estatisticamente significativa entre estas duas variáveis ($p < 0,01$) (Tabela 5). Quanto mais avançados os estágios da doença, maior a probabilidade do desenvolvimento de metástases.

Tabela 5: Relação entre metástase e estadiamento clínico. Significância obtida pelo teste Qui². Natal, RN, 2009.

Metástase		Estadiamento clínico		Total	Qui ²	p
		I e II	III e IV			
	Ausência	27 (87,1%)	4 (12,9%)	31 (100%)	28,752	<0,01
	Presença	7 (20,6%)	27 (79,4%)	34 (100%)		
	Total	34 (52,3%)	31 (47,7%)	65 (100%)		

Na tabela abaixo (tabela 6) pode se observar que não houve correlação estatisticamente significativa entre a gradação histológica e o desfecho ($p = 0,804$). Embora 43 casos estivessem em alto grau histológico de malignidade, 69,8% destes obtiveram remissão da doença.

Tabela 6: Relação entre gradação histológica e desfecho da doença. Significância obtida pelo teste Qui². Natal, RN, 2009.

Gradação histológica		Desfecho		Total	Qui ²	P
		Remissão	Óbito			
	Baixo	16 (72,7%)	6 (27,3%)	22 (100%)	0,062	0,804
	Alto	30 (69,8%)	13 (30,2%)	43 (100%)		
	Total	46 (70,8%)	19 (29,2%)	65 (100%)		

Conforme mostra a tabela 7, não houve correlação estatisticamente significativa entre a gradação histológica e o estadiamento clínico ($p = 0,191$). Dos 43 casos de alto grau de malignidade, 20 casos (46,5%) apresentavam-se, clinicamente, em estágios iniciais (I e II).

Tabela 7: Relação entre gradação histológica e estadiamento clínico. Significância obtida pelo teste Qui². Natal, RN, 2009.

Gradação histológica		Estadiamento clínico		Total	Qui ²	P
		I e II	III e IV			
Gradação histológica	Baixo	14 (63,6%)	8 (36,4%)	22 (100%)	1,711	0,191
	Alto	20 (46,5%)	23 (53,5%)	43 (100%)		
	Total	34 (52,3%)	31 (47,7%)	65 (100%)		

Na tabela 8, observa-se que houve correlação estatisticamente significativa entre as variáveis gradação histológica e metástase (p=0,018). Dos 22 casos que exibiram baixo grau histológico de malignidade, 68,2% deles não tinham metástases clinicamente.

Tabela 8: Relação entre gradação histológica e metástase. Significância obtida pelo teste Qui². Natal, RN, 2009.

Gradação histológica		Metástase		Total	Qui ²	P
		Ausência	Presença			
Gradação histológica	Baixo	15 (68,2%)	7 (31,8%)	22 (100%)	5,597	0,018
	Alto	16 (37,2%)	27 (62,8%)	43 (100%)		
	Total	31 (47,7%)	34 (52,3%)	65 (100%)		

Na matriz ilustrada na tabela 9, observamos que das variáveis analisadas, apenas a gradação histológica de malignidade não apresentou correlação estatisticamente significativa com as variáveis estadiamento clínico (p=0,191) e desfecho (p=0,804). Todas as outras variáveis supracitadas exibiram significância entre suas proporções como bem destaca a tabela 9.

Tabela 9: Matriz de significância estatística, contendo os valores de “p” para as combinações entre as variáveis. Significância obtida pelo teste Qui². Natal, RN, 2009.

	Metástase	Desfecho	Gradação histológica
Estadiamento	<0,01	0,032	0,191
Metástase	-	0,006	0,018
Desfecho	-	-	0,804

5.4.1 Galectina 1

Como pode ser evidenciado na tabela 10, não houve correlação estatisticamente significativa entre o desfecho da doença com as variáveis de avaliação imuno-histoquímica da galectina 1 que são a marcação ($p=0,168$), intensidade de marcação ($p=0,602$), tipo celular ($p=0,426$) e localização ($p=0,653$). Destacando-se, no entanto, para o fato que dos 57 casos (87,7%) que foram positivos a galectina 1, 91,3% casos obtiveram remissão da doença e destes, 85,7% exibiram uma intensidade variando de moderada a intensa, tanto nas células estromais como no parênquima (59,5%), localizadas predominantemente no citoplasma (71,4%).

Tabela 10: Relação entre as variáveis da galectina-1 e o desfecho da doença. Significância obtida pelo teste Qui². Natal, RN, 2009.

		Desfecho		Total	Qui ²	p
		Remissão	Óbito			
Marcação	Positiva	42 (91,3%)	15 (78,9%)	57 (87,7%)	1,902	0,168
	Negativa	4 (8,7%)	4 (21,1%)	8 (12,3%)		
Intensidade	Ausente/Escasso	6 (14,3%)	3 (20%)	9 (15,8%)	0,271	0,602
	Moderada/Intenso	36 (85,7%)	12 (80%)	48 (84,2%)		
Tipo celular	Parênquima	13 (31%)	7 (46,7%)	20 (35,1%)	1,705	0,426
	Estroma	4 (9,5%)	2 (13,3%)	6 (10,5%)		
	Ambos	25 (59,5%)	6 (40,0%)	31 (54,4%)		
Localização	Citoplasma	30 (71,4%)	9 (60,0%)	39 (68,4%)	0,852	0,653
	Núcleo/Citoplasma	9 (21,4%)	5 (33,3%)	14 (24,6%)		
	Membranar	3 (7,1%)	1 (6,7%)	4 (7,0%)		

A tabela 11 mostra que a marcação da galectina 1 obteve correlação estatisticamente significativa com a metástase ($p=0,033$). Dos 57 casos (87,7%) que exibiram imunorreatividade positiva para a galectina 1, 96,8% destes casos estavam associados a

ausência de metástases. Em 48 (84,2%) casos a intensidade de marcação foi de moderada a intensa, sendo que destes 90% foram observadas em casos com ausência de metástases. Quanto ao tipo celular, dos 31 (54,4%) casos que marcaram tanto no parênquima quanto no estroma, 16 (59,3%) deles ocorriam em casos com metástase, semelhantemente à localização, que dos 39 (68,4%) casos que marcaram apenas em citoplasma, 20 (74,1%) também estavam em casos com metástases.

Tabela 11: Relação entre as variáveis da galectina-1 e a metástase. Significância obtida pelo teste Qui². Natal, RN, 2009.

		Metástase		Total	Qui ²	p
		Ausência	Presença			
Marcação	Positiva	30 (96,8%)	27 (79,4%)	57 (87,7%)	4,529	0,033
	Negativa	1 (3,2%)	7 (20,6%)	8 (12,3%)		
Intensidade	Ausente/Escasso	3 (10,0%)	6 (22,2%)	9 (15,8%)	1,597	0,206
	Moderada/Intenso	27 (90,0%)	21 (77,8%)	48 (84,2%)		
Tipo celular	Parênquima	12 (40,0%)	8 (29,6%)	20 (35,1%)	0,676	0,713
	Estroma	3 (10,0%)	3 (11,1%)	6 (10,5%)		
	Ambos	15 (50,0%)	16 (59,3%)	31 (54,4%)		
Localização	Citoplasma	19 (63,3%)	20 (74,1%)	39 (68,4%)	1,157	0,561
	Núcleo/Citoplasma	8 (26,7%)	6 (22,2%)	14 (24,6%)		
	Membranar	3 (10,0%)	1 (3,7%)	4 (7,0%)		

Pode se observar na tabela abaixo (tabela 12) que a marcação da galectina 1 exibiu correlação estatisticamente significativa com o estadiamento clínico ($p=0,016$). Dos 57 (87,7%) casos positivos a galectina 1, 33 casos estavam associados a estágios iniciais da doença. As demais variáveis não obtiveram significância estatística com o estadiamento clínico, embora, em relação à intensidade de marcação, dos 48 (84,2%) casos que exibiram marcação moderada a intensa, 29 deles (87,9%) estavam associados aos estágios iniciais da

doença, bem como com imunorreatividade tanto em parênquima quanto em estroma em 18 casos (54,5%). No que diz respeito à localização da marcação, em 39 casos (68,4%) que marcou apenas o citoplasma, 18 deles (75%) estavam associados a estágios mais avançados (III e IV).

Tabela 12: Relação entre as variáveis da galectina-1 e o estadiamento clínico. Significância obtida pelo teste Qui². Natal, RN, 2009.

		Estadiamento clínico		Total	Qui ²	p
		I e II	III e IV			
Marcação	Positiva	33 (97,1%)	24 (77,4%)	57 (87,7%)	5,795	0,016
	Negativa	1 (2,9%)	7 (22,6%)	8 (12,3%)		
Intensidade	Ausente/Escasso	4 (12,1%)	5 (20,8%)	9 (15,8%)	0,793	0,373
	Moderada/Intenso	29 (87,9%)	19 (79,2%)	48 (84,2%)		
Tipo celular	Parênquima	11 (33,3%)	9 (37,5%)	20 (35,1%)	0,259	0,879
	Estroma	4 (12,1%)	2 (8,3%)	6 (10,5%)		
	Ambos	18 (54,5%)	13 (54,2%)	31 (54,4%)		
Localização	Citoplasma	21 (63,6%)	18 (75,0%)	39 (68,4%)	0,977	0,614
	Núcleo/Citoplasma	9 (27,3%)	5 (20,8%)	14 (24,6%)		
	Membranar	3 (9,1%)	1 (4,2%)	4 (7,0%)		

Avaliando a correlação da gradação histológica com as variáveis analisadas da galectina 1, pode se observar que não houve associação estatisticamente significativa. No entanto, dos 57 (87,7%) casos positivos a galectina 1, 39 (90,7%) estavam associados a carcinoma epidermóide de alto grau de malignidade. Dos 39 (68,4%) casos que expressaram a galectina 1 no citoplasma, 24 (61,5%) destes casos também estava associada a casos de alto grau de malignidade histológica, como mostra a tabela 13.

Tabela 13: Relação entre as variáveis da galectina-1 e a gradação histológica. Significância obtida pelo teste Qui². Natal, RN, 2009.

		Gradação		Total	Qui ²	p
		Baixo grau	Alto grau			
Marcação	Positiva	18 (81,8%)	39 (90,7%)	57 (87,7%)	1,063	0,302
	Negativa	4 (18,2%)	4 (9,3%)	8 (12,3%)		
Intensidade	Ausente/Escasso	2 (11,1%)	7 (17,9%)	9 (15,8%)	0,433	0,510
	Moderada/Intenso	16 (88,9%)	32 (82,1%)	48 (84,2%)		
Tipo celular	Parênquima	5 (27,8%)	15 (38,5%)	20 (35,1%)	1,350	0,509
	Estroma	3 (16,7%)	3 (7,7%)	6 (10,5%)		
Localização	Ambos	10 (55,6%)	21 (53,8%)	31 (54,4%)	2,873	0,238
	Citoplasma	15 (83,3%)	24 (61,5%)	39 (68,4%)		
	Núcleo/Citoplasma	2 (11,1%)	12 (30,8%)	14 (24,6%)		
	Membranar	1 (5,6%)	3 (7,7%)	4 (7,0%)		

5.4.2 Galectina 3

Na tabela 14, no tocante a correlação da expressão da galectina 3 com o desfecho, mesmo sem significância estatística, nota-se que dos 57 (87,7%) casos que exibiram imunorreatividade para a galectina 3, 17 deles estavam relacionados a pacientes que foram à óbito. No entanto, dos 43 (69,4%) casos que apresentavam uma intensidade de marcação moderada a intensa, 30 (68,2%) estavam associados a casos que obtiveram remissão. Quanto ao tipo celular marcado, as células parenquimatosas predominaram (63,2%), sendo que destes casos, 76,5% estavam associados a pacientes que foram a óbito. A localização citoplasmática da galectina 3 (61,4%), também estava interligada a pacientes que foram à óbito em 70,6% dos casos.

Tabela 14: Relação entre as variáveis da galectina-3 e o desfecho. Significância obtida pelo teste Qui². Natal, RN, 2009.

		Desfecho		Total	Qui ²	p
		Remissão	Óbito			
Marcação	Positiva	40 (87,0%)	17 (89,5%)	57 (87,7%)	0,079	0,779
	Negativa	6 (13,0%)	2 (10,5%)	8 (12,3%)		
Intensidade	Ausente/Escasso	14 (31,8%)	5 (27,8%)	19 (30,6%)	0,098	0,754
	Moderada/Intenso	30 (68,2%)	13 (72,2%)	43 (69,4%)		
Tipo celular	Parênquima	23 (57,5%)	13 (76,5%)	36 (63,2%)	1,845	0,174
	Ambos	17 (42,5%)	4 (23,5%)	21 (36,8%)		
Localização	Citoplasma	23 (57,5%)	12 (70,6%)	35 (61,4%)	1,049	0,592
	Núcleo/Citoplasma	15 (37,5%)	4 (23,5%)	19 (33,3%)		
	Membranar	2 (5,0%)	1 (5,9%)	3 (5,3%)		

Em relação à metástase, pode se observar que a marcação da galectina 3 obteve correlação estatisticamente significativa (p=0,033), como mostra a tabela 15.

Tabela 15: Relação entre as variáveis da galectina-3 e a metástase. Significância obtida pelo teste Qui². Natal, RN, 2009.

		Metástase		Total	Qui ²	p
		Ausência	Presença			
Marcação	Positiva	30 (96,8%)	27 (79,4%)	57 (87,7%)	4,529	0,033
	Negativa	1 (3,2%)	7 (20,6%)	8 (12,3%)		
Intensidade	Ausente/Escasso	9 (30,0%)	10 (31,2%)	19 (30,6%)	0,011	0,915
	Moderada/Intenso	21 (70,0%)	22 (68,8%)	43 (69,4%)		
Tipo celular	Parênquima	19 (63,3%)	17 (63,0%)	36 (63,2%)	0,001	0,977
	Ambos	11 (36,7%)	10 (37,0%)	21 (36,8%)		
Localização	Citoplasma	18 (60,0%)	17 (63,0%)	35 (61,4%)	0,257	0,879
	Núcleo/Citoplasma	10 (33,3%)	9 (33,3%)	19 (33,3%)		
	Membranar	2 (6,7%)	1 (3,7%)	3 (5,3%)		

Nenhum dos casos submetidos a marcação da galectina 3 se correlacionou positivamente com o estadiamento clínico, como mostra a tabela 16, apesar da presença de marcação em 25 (80,6%) casos em estágios mais avançados da doença (III e IV), e a intensidade de marcação moderada a intensa em 24 (75%) casos em estágios mais iniciais (I e II). A marcação citoplasmática de células parenquimatosas (64%) foi observada principalmente nos estágios III e IV da doença.

Tabela 16: Relação entre as variáveis da galectina-3 e estadiamento clínico. Significância obtida pelo teste Qui². Natal, RN, 2009.

		Estadiamento clínico		Total	Qui ²	p
		I e II	III e IV			
Marcação	Positiva	32 (94,1%)	25 (80,6%)	57 (87,7%)	2,727	0,099
	Negativa	2 (5,9%)	6 (19,4%)	8 (12,3%)		
Intensidade	Ausente/Escasso	8 (25,0%)	11 (36,7%)	19 (30,6%)	0,992	0,319
	Moderada/Intenso	24 (75,0%)	19 (63,3%)	43 (69,4%)		
Tipo celular	Parênquima	20 (62,5%)	16 (64,0%)	36 (63,2%)	0,014	0,907
	Ambos	12 (37,5%)	9 (36,0%)	21 (36,8%)		
Localização	Citoplasma	19 (59,4%)	16 (64,0%)	35 (61,4%)	0,208	0,901
	Núcleo/Citoplasma	11 (34,4%)	8 (32,0%)	19 (33,3%)		
	Membranar	2 (6,2%)	1 (4,%)	3 (5,3%)		

No que diz respeito à gradação histológica, a presença de marcação da galectina 3 exibiu correlação estatisticamente significativa (p=0,031). Dos 57 (87,7%) casos positivos a galectina 3, 35 (81,4%) apresentavam-se em casos de carcinoma epidermóide de alto grau de malignidade, segundo a tabela 17.

Tabela 17: Relação entre as variáveis da galectina-3 e gradação histológica. Significância obtida pelo teste Qui². Natal, RN, 2009.

		Gradação		Total	Qui ²	p
		Baixo grau	Alto grau			
Marcação	Positiva	22 (100%)	35 (81,4%)	57 (87,7%)	4,667	0,031
	Negativa	0 (0%)	8 (16,8%)	8 (12,3%)		
Intensidade	Ausente/Escasso	5 (22,7%)	14 (35,0%)	19 (30,6%)	1,006	0,316
	Moderada/Intenso	17 (77,3%)	26 (65,0%)	43 (69,4%)		
Tipo celular	Parênquima	13 (59,1%)	23 (65,7%)	36 (63,2%)	0,255	0,614
	Ambos	9 (40,9%)	12 (34,3%)	21 (36,8%)		
Localização	Citoplasma	14 (63,6%)	21 (60,0%)	35 (61,4%)	0,089	0,957
	Núcleo/Citoplasma	7 (31,8%)	12 (34,3%)	19 (33,3%)		
	Membranar	1 (4,5%)	2 (5,7%)	3 (5,3%)		

5.4.3 Galectina 4

No tocante a expressão da galectina 4, nenhuma das variáveis analisadas se correlacionou positivamente nem com o desfecho, metástase, estadiamento clínico ou gradação histológica, como mostram as tabelas 18, 19, 20 e 21, respectivamente.

A tabela 18 mostra que dos 29 casos (44,6%) que exibiram imunorreatividade para a galectina 4, 52,6% apresentavam em pacientes que foram à óbito. Dos 20 (69%) casos que exibiram uma intensidade de marcação escassa, 13 (68,4%) destes casos eram em pacientes que tiveram remissão da doença.

Tabela 18: Relação entre as variáveis da galectina-4 e o desfecho. Significância obtida pelo teste Qui². Natal, RN, 2009.

		Desfecho		Total	Qui ²	p
		Remissão	Óbito			
Marcação	Positiva	19 (41,3%)	10 (52,6%)	29 (44,6%)	0,698	0,403
	Negativa	27 (58,7%)	9 (47,4%)	36 (55,4%)		
Intensidade	Ausente/Escasso	13 (68,4%)	7 (70,0%)	20 (69,0%)	0,008	0,930
	Moderada/Intenso	6 (31,6%)	3 (30,0%)	9 (31,0%)		
Tipo celular	Parênquima	16 (84,2%)	9 (90,0%)	25 (86,2%)	1,291	0,524
	Estroma	1 (5,3%)	1 (10,0%)	2 (6,9%)		
	Ambos	2 (10,5%)	0 (0%)	2 (6,9%)		
Localização	Citoplasma	18 (94,7%)	9 (90,0%)	27 (93,1%)	0,229	0,632
	Núcleo/Citoplasma	1 (5,3%)	1 (10,0%)	2 (6,9%)		

Relacionando-se as variáveis da galectina 4 com a metástase, observa-se que houve ausência de significância estatística, conforme mostra a tabela 19.

Tabela 19: Relação entre as variáveis da galectina-4 e a metástase. Significância obtida pelo teste Qui². Natal, RN, 2009.

		Metástase		Total	Qui ²	p
		Ausência	Presença			
Marcação	Positiva	11 (35,5%)	18 (52,9%)	29 (44,6%)	2,000	0,157
	Negativa	20 (64,5%)	16 (47,1%)	36 (55,4%)		
Intensidade	Ausente/Escasso	8 (72,7%)	12 (66,7%)	20 (69,0%)	0,117	0,732
	Moderada/Intenso	3 (27,3%)	6 (33,3%)	9 (31,0%)		
Tipo celular	Parênquima	9 (81,8%)	16 (88,9%)	25 (86,2%)	0,287	0,866
	Estroma	1 (9,1%)	1 (5,6%)	2 (6,9%)		
	Ambos	1 (9,1%)	1 (5,6%)	2 (6,9%)		
Localização	Citoplasma	11 (100%)	16 (88,9%)	27 (93,1%)	1,313	0,252
	Núcleo/Citoplasma	0 (0%)	2 (11,1%)	2 (6,9%)		

Na tabela abaixo (tabela 20), mesmo sem correlação estatisticamente significativa com o estadiamento clínico, a ausência de marcação foi observada em sua maioria (64,7%) em

casos com estágios iniciais da doença (I e II), bem como uma intensidade de marcação escassa (75%). No que diz respeito ao tipo celular marcado, 94,1% ocorreu apenas no parênquima e 88,2% no citoplasma, ambos apresentando-se em casos mais avançados da doença (III e IV).

Tabela 20: Relação entre as variáveis da galectina-4 e o estadiamento clínico. Significância obtida pelo teste Qui². Natal, RN, 2009.

		Estadiamento clínico		Total	Qui ²	p
		I e II	III e IV			
Marcação	Positiva	12 (35,3%)	17 (54,8%)	29 (44,6%)	2,507	0,113
	Negativa	22 (64,7%)	14 (45,2%)	36 (55,4%)		
Intensidade	Ausente/Escasso	9 (75,0%)	11 (64,7%)	20 (69,0%)	0,348	0,555
	Moderada/Intenso	3 (25,0%)	6 (35,3%)	9 (31,0%)		
Tipo celular	Parênquima	9 (75,0%)	16 (94,1%)	25 (86,2%)	3,192	0,203
	Estroma	2 (16,7%)	0 (0%)	2 (6,9%)		
	Ambos	1 (8,3%)	1 (5,9%)	2 (6,9%)		
Localização	Citoplasma	12 (100%)	15 (88,2%)	27 (93,1%)	1,516	0,218
	Núcleo/Citoplasma	0 (0%)	2 (11,8%)	2 (6,9%)		

Avaliando-se a associação da galectina 4 com a gradação histológica, a tabela 21 mostra que 24 (55,8%) dos casos com ausência de imunomarcação ocorreu em carcinomas epidermóides de alto grau de malignidade, embora sem significância estatística.

Tabela 21: Relação entre as variáveis da galectina-4 e a gradação histológica. Significância obtida pelo teste Qui². Natal, RN, 2009.

		Gradação		Total	Qui ²	p
		Baixo grau	Alto grau			
Marcação	Positiva	10 (45,5%)	19 (44,2%)	29 (44,6%)	0,009	0,922
	Negativa	12 (54,5%)	24 (55,8%)	36 (55,4%)		
Intensidade	Ausente/Escasso	9 (90,0%)	11 (57,9%)	20 (69,0%)	3,155	0,076
	Moderada/Intenso	1 (10,0%)	8 (42,1%)	9 (31,0%)		
Tipo celular	Parênquima	8 (80,0%)	17 (89,5%)	25 (86,2%)	0,495	0,781
	Estroma	1 (10,0%)	1 (5,3%)	2 (6,9%)		
	Ambos	1 (10,0%)	1 (5,3%)	2 (6,9%)		
Localização	Citoplasma	10 (100%)	17 (89,5%)	27 (93,1%)	1,131	0,288
	Núcleo/Citoplasma	0 (0%)	2 (10,5%)	2 (6,9%)		

5.4.4 Galectina 7

Fazendo a correlação entre a galectina 7 com o desfecho, observou-se que não houve significância estatística entre estas variáveis. No entanto, a tabela abaixo (tabela 22) mostra que dos 65 casos de carcinoma epidermóide avaliados, 48 (73,8%) exibiram imunomarcção positiva para a galectina 7, sendo que destes, 34 (73,9%) casos estavam relacionados a pacientes que obtiveram remissão da doença. No que diz respeito à intensidade de marcação, dos 29 (58%) casos que apresentaram uma imunomarcção moderada a intensa, 21 (60%) casos também estavam associados a remissão da doença. Quanto à localização na célula, o compartimento citoplasmático e membranar foi imunomarcado em 24 (50%) casos e 15 destes apresentavam-se em pacientes que tiveram remissão da doença.

Tabela 22: Relação entre as variáveis da galectina-7 e o desfecho. Significância obtida pelo teste Qui². Natal, RN, 2009.

		Desfecho		Total	Qui ²	p
		Remissão	Óbito			
Marcação	Positiva	34 (73,9%)	14 (73,7%)	48 (73,8%)	0,000	0,985
	Negativa	12 (26,1%)	5 (26,3%)	17 (26,2%)		
Intensidade	Ausente/Escasso	14 (40,0%)	7 (46,7%)	21 (42,0%)	0,192	0,662
	Moderada/Intenso	21 (60,0%)	8 (53,3%)	29 (58,0%)		
Tipo celular	Parênquima	34 (100%)	14 (100%)	48 (100%)		
Localização	Citoplasma	16 (47,1%)	3 (21,4%)	19 (39,6%)	5,318	0,150
	Núcleo/Citoplasma	2 (5,9%)	0 (0%)	2 (4,2%)		
	Membranar	1 (2,9%)	2 (14,3%)	3 (6,2%)		
	Cito-membranar	15 (44,1%)	9 (64,3%)	24 (50,0%)		

De acordo com a tabela 23, pode se observar que não houve associação estatisticamente significativa das variáveis da expressão da galectina 7 com a metástase tumoral.

Tabela 23: Relação entre as variáveis da galectina-7 e a metástase. Significância obtida pelo teste Qui². Natal, RN, 2009.

		Metástase		Total	Qui ²	P
		Ausência	Presença			
Marcação	Positiva	26 (83,9%)	22 (64,7%)	48 (73,8%)	3,084	0,079
	Negativa	5 (16,1%)	12 (35,3%)	17 (26,2%)		
Intensidade	Ausente/Escasso	10 (38,5%)	11 (45,8%)	21 (42,0%)	0,278	0,598
	Moderada/Intenso	16 (61,5%)	13 (54,2%)	29 (58,0%)		
Tipo celular	Parênquima	26 (100%)	22 (100%)	48 (100%)		
Localização	Citoplasma	9 (34,6%)	10 (45,5%)	19 (39,6%)	2,235	0,525
	Núcleo/Citoplasma	2 (7,7%)	0 (0%)	2 (4,2%)		
	Membranar	2 (7,7%)	1 (4,5%)	3 (6,2%)		
	Cito-membranar	13 (50,0%)	11 (50,0%)	24 (50,0%)		

No que concerne ao estadiamento clínico, não houve correlação estatisticamente significativa com a galectina 7. Embora, dos 48 (73,8%) casos positivos a esta proteína, 26 (76,5%) ocorreram em casos de estágios iniciais da doença (I e II). Avaliando-se a intensidade de marcação, dos 29 (58%) casos com imunomarcação moderada a intensa, 16 (61,5%) também ocorreram nos estágios I e II da doença. No entanto, a localização predominante da galectina 7 ocorreu no compartimento citoplasmático e membranar, principalmente em estágios mais avançados (63,6%), conforme está explicitado na tabela 24.

Tabela 24: Relação entre as variáveis da galectina-7 e o estadiamento clínico. Significância obtida pelo teste Qui². Natal, RN, 2009.

		Estadiamento clínico		Total	Qui ²	p
		I e II	III e IV			
Marcação	Positiva	26 (76,5%)	22 (71,0%)	48 (73,8%)	0,254	0,614
	Negativa	8 (23,5%)	9 (29,0%)	17 (26,2%)		
Intensidade	Ausente/Escasso	10 (38,5%)	11 (45,8%)	21 (42,0%)	0,278	0,598
	Moderada/Intenso	16 (61,5%)	13 (54,2%)	29 (58,0%)		
Tipo celular	Parênquima	26 (100%)	22 (100%)	48 (100%)		
Localização	Citoplasma	12 (46,2%)	7 (31,8%)	19 (39,6%)	4,010	0,260
	Núcleo/Citoplasma	2 (7,7%)	0 (0%)	2 (4,2%)		
	Membranar	2 (7,7%)	1 (4,5%)	3 (6,2%)		
	Cito-membranar	10 (38,5%)	14 (63,6%)	24 (50,0%)		

Na tabela 25, observa-se que houve uma correlação estatisticamente significativa entre a marcação da galectina 7 com a gradação histológica ($p=0,005$). Nos 48 (73,8%) casos positivos a galectina 7, 21 (95,5%) encontravam-se em carcinomas epidermóides de baixo grau de malignidade. Embora sem significância estatística, nota-se que dos 29 (58%) casos com intensidade de marcação de moderada a intensa, 14 (66,7%) apresentavam-se em casos de baixo grau de malignidade. No entanto, dos 24 (50%) casos que exibiram imunomarcação nos compartimentos citoplasmáticos e membranar, 14 (51,9%) ocorreram em carcinomas epidermóides de alto grau de malignidade.

Tabela 25: Relação entre as variáveis da galectina-7 e a gradação histológica. Significância obtida pelo teste Qui². Natal, RN, 2009.

		Gradação		Total	Qui ²	p
		Baixo grau	Alto grau			
Marcação	Positiva	21 (95,5%)	27 (62,8%)	48 (73,8%)	8,040	0,005
	Negativa	1 (4,5%)	16 (37,2%)	17 (26,2%)		
Intensidade	Ausente/Escasso	7 (33,3%)	14 (48,3%)	21 (42,0%)	1,116	0,291
	Moderada/Intenso	14 (66,7%)	15 (51,7%)	29 (58,0%)		
Tipo celular	Parênquima	21 (100%)	27 (100%)	48 (100%)		
Localização	Citoplasma	8 (38,1%)	11 (40,7%)	19 (39,6%)	2,767	0,429
	Núcleo/Citoplasma	2 (9,5%)	0 (0%)	2 (4,2%)		
	Membranar	1 (4,8%)	2 (7,4%)	3 (6,2%)		
	Cito-membranar	10 (47,6%)	14 (51,9%)	24 (50,0%)		

5 DISCUSSÃO

De acordo com o INCA (2008), Garavello et al. (2008) e Gervásio et al. (2001) o carcinoma epidermóide acomete predominantemente pacientes do sexo masculino com idade média em torno de 60 anos. Em concordância com a literatura, evidenciou-se em nossa amostra de 65 casos de carcinoma epidermóide de língua, que 66% dos pacientes pesquisados eram do sexo masculino. A idade dos pacientes na época do diagnóstico oscilou entre 31 a 90 anos, com pico de incidência na faixa etária entre 51 a 60 anos, estando dentro da faixa de variação encontrada na literatura.

Neste estudo a ocorrência do carcinoma epidermóide de língua em indivíduos jovens, abaixo dos 40 anos de idade foi baixa (6,1%), apesar de ter sido relatado por Moore et al. (2000) e Schantz, Yu (2002) um aumento da sua incidência em adultos jovens. Ribeiro et al. (2008) em um levantamento realizado nos arquivos de Histopatologia da Universidade de Odontologia de Araçatuba (UNESP) observaram que dos 400 casos de carcinoma epidermóide analisados, 46 (22%) casos acometiam pacientes jovens com média de idade de 40 anos. Sherin et al. (2008) analisando 606 casos de carcinoma epidermóide no período de 2002 a 2007, observaram que a cada ano o número de casos em pacientes com idade inferior a 40 anos aumentava, chegando a somar 44 (7,5%) casos do total da amostra estudada.

Na pesquisa realizada por Ribeiro et al. (2008) de 46 casos de carcinoma epidermóide, houve predomínio dos pacientes da raça melanoderma (78%), seguido pela raça branca (22%). Em nosso estudo, semelhantemente a esta pesquisa, a raça melanoderma foi predominante, perfazendo 41,5% dos casos, seguido pelos leucodermas (35,4%) e feodermas (23,1%). Diferindo dos resultados encontrados por Carvalho et al. (2001) onde a raça leucoderma foi mais prevalente, acometendo 87% das mulheres e 85% dos homens. Pode se enfatizar que essas diferenças encontradas nos diversos estudos podem ocorrer em vista da

ampla miscigenação da população brasileira e da conseqüente dificuldade em se enquadrar determinados indivíduos em uma raça pré-estabelecida.

Como já foi comentado anteriormente, a etiopatogenia do carcinoma epidermóide oral está ligada a numerosos fatores, dentre eles os mais citados são o tabaco, em suas variadas formas de uso, e o álcool em associação com o tabagismo (NEVILLE et al., 2004; SHERIN et al., 2008). Neste estudo, dos 65 casos analisados, observou-se que 31 pacientes (47,7%) eram tabagistas, e 13 pacientes (20%) eram tabagistas e etilistas. Confirmando, assim, a importância desses fatores na gênese do carcinoma epidermóide aliados a outros fatores já citados na literatura como as alterações genéticas, imunossupressão, deficiências vitamínicas, exposições aos raios solares e a alguns vírus como o HPV (CAMPISI et al., 2006; MARQUES et al., 2008; RODU et al., 2002; TERMINE et al., 2008).

A carcinogênese oral é um processo de múltiplas etapas que envolvem alterações genéticas dando início as mudanças fenotípicas. Ter o conhecimento do comportamento biológico do carcinoma epidermóide é essencial para adoção das medidas terapêuticas mais indicadas para cada caso, evitando, assim, que o paciente seja submetido a um tratamento mais radical que o necessário ou que a escolha de procedimentos inadequados venha a aumentar os riscos de desenvolvimento de lesões recorrentes ou metastáticas.

Diversas pesquisas são realizadas com o intuito de se avaliar possíveis fatores que influenciam no prognóstico e na sobrevida destes pacientes, como por exemplo a localização do tumor, a gradação histológica de malignidade e o estadiamento clínico da neoplasia, através do sistema TNM, que analisa o tamanho do tumor, e a presença de metástases cervicais ou à distância (BRYNE, 1998; CARINCI et al., 1998; GONZALEZ-GARCIA et al., 2008; AMARAL et al., 2004; ARAÚJO JÚNIOR et al., 2008).

Conforme relata o estudo realizado por Araújo Júnior, Costa e Ramos (2006) onde verificaram uma correlação estatisticamente significativa ($p=0,01$) entre o sistema TNM e a

localização do tumor com o prognóstico, em 130 casos de carcinoma epidermóide, sendo os estágios III e IV relacionados com um maior índice de óbito, e a língua a localização mais comum e relacionada com os estágios mais avançados (III e IV). Na presente pesquisa, 20 (30,8%) casos foram classificados como estadiamento I, 14 (21,5%) como II, 18 (27,7%) como III e 13 (20%) como IV, os quais foram reunidos em dois grupos, um grupo composto pelos estadiamentos I e II e outro grupo com os estadiamentos III e IV, para que fosse possível a realização do teste estatístico, já que os estágios intermediários II e III não fornecem informações muito precisas a respeito do prognóstico de acordo com Costa et al. (2002).

Realizando a análise estatística através do teste Qui², entre o estadiamento clínico e o desfecho da doença (óbito/remissão), verificou-se haver uma correlação estatisticamente significativa entre estas variáveis, onde 82,4% dos casos agrupados nos estágios I e II obtiveram remissão da doença e dos 19 casos que foram à óbito, 13 (41,9%) foram incluídos nos estágios III e IV (Tabela 3). Nossos resultados são concordantes às afirmações de Araújo Júnior, Costa e Ramos (2006) e Choi et al. (2006) de que o sistema TNM é eficaz como parâmetro de prognóstico.

Um outro fator encontrado para analisar o comportamento biológico do carcinoma epidermóide oral é estudar as características morfológicas através do sistema de gradação histológica de malignidade (SGHM). Dentre os sistemas de gradação utilizados, escolhemos, para esta pesquisa, o sistema recomendado por Bryne em 1998, pois concordamos com a afirmação da autora de que o “*front*” de invasão tumoral representa o melhor alvo da análise morfológica de um tumor, uma vez que esta área da neoplasia indica o local onde todos os processos celulares necessários à invasão se efetivam.

Na presente pesquisa, dos 65 casos analisados, 22 (33,8%) foram classificados como baixo grau e 43 (66,2%) no grupo de alto grau. No entanto, não houve correlação

estatisticamente significativa do SGHM com o desfecho da doença e o estadiamento clínico, como mostra a tabela 9 de matriz de significância. Já com relação à metástase houve uma correlação estatisticamente significativa ($p=0,018$). Sendo constatado, assim, que em nossa amostra o SGHM pode ser utilizado como indicador de comportamento biológico em casos de carcinoma epidermóide de língua, no que diz respeito às metástases, o que está de acordo com os resultados encontrados por Pereira (2006) e Barros (2006), mas diferindo dos achados de Silveira (2004).

Kurokawa et al. (2005) afirmaram que carcinomas epidermóides de língua com escores de malignidade maior ou igual a 8 pontos emitidos pelo sistema proposto por Bryne (1998), apresentam menor índice de sobrevida, e escores acima de 11 pontos são indicativos de metástase linfonodal cervical. Reafirmando, portanto, a correlação entre SGHM e presença de metástases.

Ressalta-se, no entanto, que por mais que se tente tornar mais objetivo um sistema de gradação histológica de malignidade, através da utilização de escores fundamentados em dados matemáticos, a análise dos parâmetros morfológicos se baseia na subjetividade dos achados, o que pode levar a resultados conflitantes. Diante destes fatos, pode-se constatar que a utilização de sistemas de gradação histológica representa uma informação adicional para o estabelecimento do prognóstico do carcinoma epidermóide oral.

A presença ou não de metástases é um outro fator bastante explorado na literatura como possível indicador de prognóstico. Em nossa amostra, 34 (52,3%) casos apresentavam metástases, corroborando os dados de Barros (2006) que encontrou uma maior incidência de metástases em carcinomas epidermóides de língua. Utilizando-se o teste Qui², notamos em nosso estudo que a metástase exibiu correlação estatisticamente significativa com o desfecho da doença ($p=0,006$), com o estadiamento clínico ($p<0,01$) e com a gradação histológica ($p=0,018$), como mostram as tabelas 4, 5 e 8, respectivamente. Portanto, a metástase constituiu um bom indicador de agressividade tumoral nesta pesquisa.

Já é bem estabelecido que o grau de agressividade de uma neoplasia é determinado pela sua capacidade de migração, invasão dos tecidos vizinhos e eventualmente colonização de um sítio secundário, constituindo, assim, as metástases. De acordo com O-Charoenrat et al. (2003) o carcinoma epidermóide de língua caracteriza-se por apresentar um alto índice de invasão local e grande probabilidade de desenvolver metástases para os linfonodos cervicais, influenciando diretamente no controle regional da doença e na sobrevida. Os nossos resultados, portanto, corroboram tal afirmação.

Um ponto que tem sido questionado na literatura é a realização do esvaziamento cervical, como uma forma de se evitar metástases cervicais ou eliminar as metástases ocultas. Conforme relata Lype et al. (2008), os quais avaliaram 219 casos de carcinoma epidermóide, destes 157 (72%) estavam localizados na borda lateral de língua e 161 (73,5%) pacientes não apresentam metástases cervicais. Mesmo que clinicamente não seja observado acometimento dos linfonodos cervicais, mas histopatologicamente isto seja observado, o esvaziamento cervical acompanhado da radioterapia é bastante benéfico, auxiliando na sobrevida dos pacientes. Na nossa pesquisa observou-se que dos 37 casos que se encontravam em estágios iniciais (I e II), 27 (87,1%) casos não apresentavam metástases clinicamente, e dos 19 casos que foram à óbito 15 (79%) apresentavam metástases clinicamente.

Constatamos, portanto, que o estadiamento clínico e a metástase constituíram indicadores do comportamento biológico nos carcinomas epidermóides de língua analisados, visto que estas variáveis relacionaram-se diretamente ao desfecho da doença (óbito/remissão), enquanto que o sistema de gradação histológica de malignidade se correlacionou estatisticamente apenas com a metástase.

Muito embora vários fatores clínicos e morfológicos já sejam estabelecidos como indicadores do comportamento biológico e do prognóstico dos carcinomas epidermóides orais, diversas metodologias vêm sendo empregadas para avaliar o comportamento biológico

do carcinoma epidermóide. Neste contexto estão incluídas as pesquisas envolvendo a imunohistoquímica e a biologia molecular. De acordo com Grandis et al. (2004) a análise de proteínas, como por exemplo das galectinas, tem facilitado a identificação de mudanças fenotípicas em casos de carcinoma epidermóide oral, haja vista seu papel na sobrevivência das células tumorais, na angiogênese e na metástase. Recentemente estão sendo alvo de potencial interesse na avaliação de pacientes com neoplasias malignas na região de cabeça e pescoço.

Baseado nesse contexto, na presente pesquisa se avaliou a expressão imunohistoquímica das galectinas 1, 3, 4 e 7, em 65 casos de carcinoma epidermóide de língua, procurando correlacionar a intensidade e a localização de marcação e os tipos celulares marcados com o grau de diferenciação das células tumorais, desfecho da doença, metástases e estadiamento clínico.

Os resultados encontrados no nosso estudo em relação a galectina 1 mostram que esta proteína se expressou em 57 (87,7%) casos, marcando principalmente fibroblastos ao redor dos ninhos e lençóis tumorais, com intensidade moderada a intensa em 48 (84,2%) casos (Figura 5). Corroborando, assim, os achados encontrados por Chiang et al. (2008) os quais observaram uma forte expressão da galectina 1 no estroma de espécimes de carcinoma epidermóide oral. Este mesmo padrão de expressão também foi observado nos estudos realizados por Van der Brule, Waltregny, Castronovo (2001) e Ellerhorst et al. (1999) em carcinomas de próstata.

Observou-se ainda nesta pesquisa que em 20 (35,1%) casos a galectina 1 marcou apenas as células neoplásicas, diferindo dos achados encontrados por Kohrenhagen et al. (2006) os quais observaram ausência de marcação da galectina 1 em células do parênquima de todos os casos analisados de neoplasias cervicais. Uma possível explicação para estes distintos padrões de marcação, segundo Danguy, Camby e Kiss (2002) é que a expressão da

galectina-1 pode ser influenciada por fatores tumorais específicos, como as MMPs ou outros receptores específicos como a laminina e a fibronectina.

Utilizando o teste do Qui² correlacionamos a expressão da galectina 1 ao desfecho da doença, metástase, estadiamento clínico e gradação histológica. Constatou-se que, em relação ao desfecho da doença (remissão/óbito) e a gradação histológica não houve correlação estatisticamente significativa. No entanto, Gillenwater et al. (1996) demonstraram que a expressão da galectina 1 no estroma de carcinoma epidermóide estava associada significativamente com o grau de diferenciação neoplásica, ou seja, quanto menor a grau de diferenciação celular maior a expressão da galectina 1 nos fibroblastos ao redor dos lençóis tumorais.

Quanto a metástase, observou-se uma correlação diretamente proporcional ($p=0,033$) (tabela 11) entre a forte marcação da galectina 1 e a ausência de metástases (96,8%), e uma correlação estatisticamente significativa entre o estadiamento clínico e a positividade a galectina 1 ($p=0,016$), sendo que dos 57 (87,7%) casos positivos, 33 (97,1%) enquadravam-se nos estágios iniciais (I e II).

Constatou-se a marcação da galectina 1 tanto nas células estromais quanto nas células neoplásicas em 31 (54,4%) casos, sem no entanto esta expressão apresentar significância estatística com nenhum dos parâmetros clínicos e morfológicos analisados. Diferentemente dos resultados encontrados por Kohrenhagen et al. (2006) os quais observaram que a expressão da galectina 1 nas células estromais aumentava de acordo com o grau histológico, estando, assim, associada com a progressão das neoplasias cervicais. Já Cindolo et al. (1999) mostrou um aumento da expressão da galectina 1 nas células neoplásicas endometriais associada ao aumento do grau de diferenciação histológica.

Duas hipóteses tentam explicar a existência da galectina 1 nas células estromais, primeiro, de acordo com Noel e Foidart (1998), a galectina 1 pode se originar das células

neoplásicas e então se acumular nas células estromais adjacentes. A segunda hipótese, conforme Jonhsen et al. (1998), acreditam que a galectina 1 pode ser secretada pelos próprios fibroblastos sob estímulo das células neoplásicas. Como em nosso estudo houve marcação da galectina 1 tanto nas células estromais como nas neoplásicas, acreditamos que a expressão nas células estromais pode ser pela secreção própria ou pelo acúmulo de secreção oriunda das células neoplásicas, provavelmente influenciada por fatores tumorais específicos como interações célula-célula e célula-matriz e secreção de metaloproteinases.

Nesta pesquisa, no que diz respeito à localização intracelular de marcação, pode se observar que dos 57 (87,7%) casos positivos a galectina 1, em 39 (68,4%) foi encontrada exclusivamente no citoplasma, e em 14 (24,6%) casos tanto no núcleo como no citoplasma, no entanto, sem diferença estatisticamente significativa com o grau de diferenciação histológica. Kohrenhagen et al. (2006) observaram que nas neoplasias benignas cervicais, a marcação também era exclusiva do citoplasma, mas com o aumento da diferenciação neoplásica, a marcação era observada no núcleo e citoplasma nas células estromais. Estes autores sugerem, portanto, que a galectina 1 pode ser utilizada como marcador de progressão tumoral em neoplasias cervicais.

Chiang et al. (2008) avaliando 64 casos de carcinoma epidermóide oral, mostraram, com uma associação estatisticamente significativa, que nos casos bem diferenciados a marcação era exclusivamente nas células estromais e citoplasmática, e nos casos pobremente diferenciados e com metástases, a marcação da galectina 1 era observada nas células neoplásicas do *front invasivo* e no estroma, bem como no citoplasma e no núcleo. Sugerindo que a galectina 1 pode ser utilizada como alvo molecular para diagnóstico, prognóstico e escolha da terapêutica adequada para carcinoma epidermóide oral.

Diante dos resultados acima descritos, percebe-se a necessidade de esclarecimento dos efeitos da galectina 1 nas células estromais e neoplásicas no meio tumoral para, assim,

melhor entender as funções da galectina 1 nestas células durante a carcinogênese oral. Segundo Rabinovich (2005) e Fisher et al. (2005) quando a galectina 1 está presente nas células neoplásicas, a mesma está envolvida na migração e transformação celular, possivelmente através da interação com o oncogene Ras. Então, uma forte expressão da galectina 1 nas células neoplásicas resulta em um aumento da associação com o Ras e na transformação celular.

Chiang et al (2008) suportam esta hipótese, através de uma análise de RT-PCR, que a galectina 1 pode ser expressa dentro e ao redor das células estromais associadas ao tumor, facilitando a progressão tumoral em estágios iniciais da carcinogênese, e quando expressa no núcleo e citoplasma das células neoplásicas induz as transformações tumorais que resultam em metástase.

A literatura relata a participação da galectina 1 no processo metastático facilitando a interação das células neoplásicas com as células estromais, bem como no processo da angiogênese. Todos estes aspectos foram observados em nosso estudo já que houve marcação em todos os tipos de células avaliadas (fibroblastos, células endoteliais e células neoplásicas), reforçando, assim, o papel da galectina 1 na progressão tumoral. A galectina 1, conforme relatam Thijssen et al. (2006) desempenha um papel crucial na angiogênese tumoral, pois através de estudos imuno-histoquímicos, observaram uma forte e exclusiva expressão da galectina 1 nas células endoteliais de casos de carcinoma de colón, de mama e sarcoma de Ewing. Estes resultados, portanto, sugerem que a galectina 1 pode ser utilizada como alvo na terapia antineoplásica.

Nos casos de carcinoma epidermóide de língua avaliados, os resultados mostraram que houve positividade da galectina 3 em 87,7% destes casos, onde sua presença foi predominante nos ninhos de células neoplásicas (63,2%) (Figura 9), corroborando os dados de Lee et al. (2005), os quais observaram, em casos de neoplasias cervicais, uma expressão mais

acentuada da galectina 3 em células do parênquima. Este fato também foi demonstrado por Than et al. (2008), os quais notaram uma expressão mais intensa nas células epiteliais neoplásicas em casos de carcinoma de tireóide.

A marcação das células endoteliais para a galectina 3 também foi observada em nosso estudo, assim como nos relatos de Than et al. (2008) em neoplasias de tireóide. Embora nenhuma inferência tenha sido feita a esse respeito. Porém alguns autores como Nangia-Makker et al. (2000) afirmem que a galectina 3 está intimamente envolvida na biologia das células endoteliais e na angiogênese. Johnson et al. (2005) mostraram, através da imunohistoquímica, uma marcação bastante expressiva da galectina 3 em todos os casos avaliados de angiossarcoma, sugerindo, assim, que esta proteína poderia ser utilizada como potencial alvo terapêutico em neoplasias de origem endotelial. No entanto, como a marcação da galectina 3 em células endoteliais foi vista em apenas alguns casos do nosso estudo, torna-se difícil fazermos uma análise mais profunda sobre estes achados.

Quanto à localização intracelular da marcação, dos 57 (87,7%) casos positivos para a galectina 3, 35 (61,4%) destes casos mostraram expressão apenas no citoplasma e 19 (33,3%) tanto no núcleo como no citoplasma. Estes resultados se assemelham ao estudo de Honjo et al. (2000) os quais observaram que em 54 casos de carcinoma epidermóide de língua a expressão da galectina 3 no núcleo diminuía a medida que progredia o grau de diferenciação histológica, ao contrário da expressão citoplasmática que aumentava. Estes dados juntos sugerem que a galectina 3 pode ter uma função anti-tumoral quando presente no núcleo e favorecer a progressão tumoral quando expressa no citoplasma.

Conforme relatam Wang et al. (1995) e Dagher et al. (1995) a galectina 3 quando expressa no núcleo ou citoplasma, está associada ao processo de proliferação e diferenciação, respectivamente. Quando presente no núcleo, sugere-se que a galectina 3 pode ser estimulada por fatores mitogênicos de fibroblastos quiescentes, resultando assim, em um aumento da sua

expressão nuclear, e de acordo com Gillenwater et al. (1996) em epitélio de mucosa oral normal a distribuição da galectina 3 é confinada as camadas superficiais e intermediárias, que correspondem à células bem diferenciadas.

Feita a análise estatística com o teste do Qui² observou-se que dentre os parâmetros clínicos e morfológicos analisados (desfecho da doença, estadiamento clínico, metástase e gradação histológica) houve uma correlação estatisticamente significativa entre a marcação da galectina 3 com a presença de metástases ($p=0,033$) e a gradação histológica ($p=0,031$). Sugerindo, portanto, que a galectina 3 em casos de carcinoma epidermóide de língua pode ser utilizada como marcador de progressão e comportamento biológico destas neoplasias.

Dos 57 (87,7%) casos de carcinoma epidermóide de língua avaliados nesta pesquisa que exibiram marcação positiva a galectina 3, 30 (96,8%) destes casos apresentavam metástases ($p=0,033$), confirmando, assim, os relatos de Saussez et al. (2007) em neoplasias de cabeça e pescoço, e Iurisci et al. (2000) em casos de carcinoma gastrointestinal e de mama.

Quando se correlacionou a expressão da galectina 3 com a gradação histológica, observou-se que nos 22 (100%) casos de baixo grau, a marcação foi positiva, com intensidade forte em 17 (77,3%) destes casos, padrão este também observado por Piantelli et al. (2002) em casos de carcinoma epidermóide de laringe.

Estes mesmos autores, após uma análise univariada, observaram também que os casos de alto grau de malignidade e com ausência de marcação de galectina 3 exibiram um aumento estatisticamente significativo de risco de recorrência e de óbito, sugerindo, assim, que a ausência de expressão da galectina 3 pode ser um marcador de prognóstico negativo em carcinomas epidermóides de laringe. Enquanto que Honjo et al. (2000) observaram, em carcinoma epidermóide de língua, que os casos com alta expressão da galectina 3 citoplasmática tinham uma menor sobrevida livre de doença e um maior risco de desenvolvimento de recidivas. Sugerindo, assim, que a expressão aumentada da galectina 3 no

citoplasma serve como preditor de recorrências em casos de carcinoma epidermóide de língua.

Diante dos resultados encontrados nesta pesquisa, sugere-se que a intensa expressão da galectina 3 está associada à progressão do carcinoma epidermóide de língua. Contudo, são necessários mais estudos principalmente devido ao fato de que há aumento na expressão da galectina 3 em alguns tipos de neoplasias malignas e sua diminuição em outros, indicando suas diferentes funções, ora agindo como fator de desenvolvimento tumoral, ora protegendo contra a progressão do tumor.

Na literatura são escassos estudos que avaliem a expressão da galectina 4 em neoplasias da cavidade oral, embora Huflejt e Leffler (2004) afirmem que a galectina 4 pode ser expressa durante o desenvolvimento e nos tecidos adultos normais do trato gastrointestinal, incluindo a língua até o intestino grosso. Embora Yang, Rabinovich e Liu (2008) reforcem que a galectina 4 é predominantemente expressa no intestino e estômago, também a identificam como uma proteína de junção em células epiteliais orais.

Dos 65 casos de carcinoma epidermóide de língua avaliados, 29 (44,6%) exibiram positividade para a galectina 4. A marcação foi localizada, em 93,1% dos casos, no citoplasma, e a intensidade desta marcação foi fraca em 69% dos casos, em contraste com os achados de Kondoh et al. (1999) os quais observaram uma forte expressão em carcinomas hepatocelulares. Wooters et al. (2005), avaliando a distribuição imunohistoquímica da galectina 4 em epitélio intestinal normal, observaram uma maior expressão desta proteína no citoplasma das células epiteliais apicais, e uma maior expressão nuclear nas células epiteliais em estágio final de maturação. Huflejt e Leffler (1995) mostraram que em casos de carcinoma de colón e de mama existia um aumento expressivo da concentração de galectina 4 no citoplasma, mas nos casos de carcinoma de mama a localização nuclear foi encontrada mais frequentemente que nos casos de colón.

Mediante os dados encontrados em nosso estudo e na literatura, demonstra-se que a galectina 4 pode atuar em diversos estágios de diferenciação de células epiteliais, exercendo várias funções. De acordo com Wu et al. (2002) as características estruturais da galectina 4 (*tandem* repetido, com dois domínios de reconhecimento de carboidrato) favorecem o desempenho das suas diversas funções pelo cruzamento de 2 ligantes de glicoconjugados em uma maneira que estabiliza ou muda alguns aspectos da atividade celular.

Hansen et al. (2001) sugerem que a galectina 4 citoplasmática está envolvida na formação ou na estabilização dos corpos lipídicos que são utilizados para o transporte dos glicosfingolípídeos e proteínas para a superfície apical da membrana plasmática. Quando expressa no núcleo, segundo Rechereche et al. (1997), a galectina 4 pode estar envolvida no processo de apoptose. Estes autores observaram, *in vitro*, em casos de neoplasias de cólo retal que uma ausência da expressão da galectina 4 permitia uma maior proliferação das células neoplásicas.

Nesta pesquisa não foi observada nenhuma correlação estatisticamente significativa da expressão da galectina 4 com os parâmetros clínicos e morfológicos estudados (desfecho da doença, metástase, estadiamento clínico e gradação histológica). Embora, foi vista uma maior positividade a galectina 4 em 18 (52,9%) espécimes de carcinoma epidermóide de língua com metástase. Em outros estudos como o de Hippo et al. (2001), também demonstraram correlação de altos níveis de galectina 4 em linhagens de células de carcinoma gástrico com potencial metastático.

Huflejt e Leffler (2004) mostraram, através de estudos com linhagens celulares, que as células bem diferenciadas exibiram uma forte expressão da galectina 4, enquanto que as linhagens pouco diferenciadas não expressaram a galectina 4. Semelhantemente, em nossa pesquisa, dos 29 casos de carcinoma epidermóide de língua positivos a galectina 4, podemos observar que 45,5% eram de baixo grau de malignidade, ou seja, apresentavam células bem

diferenciadas. Nossos achados estão em conformidade com Nagy et al. (2003), os quais afirmam que a galectina 4 está envolvida em estágios iniciais de desenvolvimento do carcinoma de colón. Huflejt et al. (1995) explicam este fato relatando que células bem diferenciadas formam monocamadas polarizadas e que são capazes de desenvolver uma alta resistência transepitelial, já as células pouco diferenciadas não formam esta resistência, mas tem uma grande mobilidade para migrar através da membrana basal.

A galectina 7, segundo Magnaldo, Fowlis, Darmon (1998) é considerada como um marcador epitelial, independente do grau de diferenciação dos ceratinócitos. E esta característica, conforme citam Magnaldo e Barrandon (1996) pode distingui-la de demais marcadores epiteliais como as citoqueratinas e a involucrina, que se expressam exclusivamente nas camadas basais e suprabasais, respectivamente.

Na presente pesquisa, a galectina 7 esteve expressa em 48 casos (73,8%), sendo esta marcação exclusivamente observada nas células parenquimatosas, tanto no centro como na periferia dos ninhos tumorais. Este achado se assemelha aos de Saussez et al. (2008) que evidenciaram forte expressão da galectina 7 em 102 casos de carcinoma epidermóide de cabeça e pescoço, bem como os dados encontrados por Chen (2004) que demonstraram alta expressão da galectina 7 em casos de carcinoma epidermóide oral. Em neoplasias de tireóide, Than et al. (2008) observaram ausência da expressão da galectina 7, na maioria dos casos, tanto nas neoplasias benignas quanto nas malignas, onde os autores sugerem que em epitélio de tireóide a galectina 7 não exerce nenhuma função.

Após a utilização do teste do Qui², demonstramos em nosso estudo uma correlação estatisticamente significativa da expressão da galectina 7 com a gradação histológica ($p=0,005$). Dos 48 (73,8%) casos positivos a esta proteína, 21 (95,5%) apresentavam-se em casos de baixo grau de malignidade. Quanto à localização da marcação, 24 (50%) apresentavam-se nos compartimentos citoplasmático e membranar, e destes 14 (51,9%)

ocorriam em casos de alto grau de malignidade histológica, resultados semelhantes aos encontrados por Saussez et al. (2008) em carcinoma epidermóide de laringe e de hipofaringe.

Confrontando nossos achados com os encontrados na literatura, no que diz respeito à localização intracelular da galectina 7, concordamos com Yang, Rabinovich e Liu (2008) quando afirmam que a galectina 7 é induzida pela p53, atuando como pro-apoptótica quando se localiza no núcleo e como anti-apoptótica quanto localizada no citoplasma. No nosso estudo foi demonstrado que dos 19 (39,6%) casos que expressaram a galectina 7 apenas no citoplasma, 11 (40,7%) deles estavam associados a carcinomas epidermóides de língua de alto grau de malignidade.

Correlacionando a marcação da galectina 7 com a metástase, estadiamento clínico e desfecho da doença observamos que não houve significância estatística com nenhum destes parâmetros. Sugerindo, portanto, que a expressão desta galectina independe do potencial metastático dos carcinomas epidermóides de língua. No entanto, Demers et al. (2007) mostraram, *in vitro*, que a inibição da galectina 7 em células de linfoma agressivo estava correlacionada com uma diminuição da invasão dessas células tumorais a órgãos alvo, e também estava associada a redução da expressão da MMP-9, um gene que está interligado a progressão tumoral. Barros (2006) demonstrou intensa expressão da MMP-9 em carcinoma epidermóide de língua, sugerindo que a capacidade de degradar membrana basal parece ser determinante no padrão de diferenciação histológica das neoplasias pesquisadas.

Então, baseados em nossos resultados aos dados revistos na literatura, inferimos que a galectina 7 expressa em células de carcinoma epidermóide pode se ligar a alguns receptores na superfície de células neoplásicas, inibir o p53 e induzir a secreção da MMP-9, favorecendo, assim, o crescimento tumoral nos casos de carcinoma epidermóide de língua.

6 CONCLUSÕES

Com base nos resultados clínicos, morfológicos e imuno-histoquímicos desta pesquisa, podemos concluir que:

1. Em relação ao sexo, raça, faixa etária acometida e hábitos, os nossos achados corroboram os dados encontrados na literatura.
2. O estadiamento clínico (TNM) e a presença de metástases mostraram uma boa efetividade como parâmetro indicador de prognóstico.
3. O sistema de gradação histológica de malignidade (SGHM) se correlacionou apenas com a presença de metástases, podendo, portanto, em parte ser utilizado como parâmetro de indicador do comportamento biológico dos carcinomas epidermóides de língua estudados.
4. A expressiva imunomarcção das galectinas 1, 3, 4 e 7 nos casos avaliados nos leva a sugerir uma ampla participação dessas proteínas na carcinogênese oral, bem como a possível utilização das galectinas 1, 3 e 7 como marcadores do comportamento biológico e da progressão tumoral em casos de carcinoma epidermóide de língua.

REFERÊNCIAS*

ABDO.E.N.; GARROCHO, A.A.; AGUIAR, M.C.F. Perfil do paciente portador de carcinoma epidermóide da cavidade bucal, em tratamento no Hospital Mário Penna, Belo Horizonte. **Ver. Bras. Cancerologia**, v.48, n.3, p.357-362, 2002.

ACOSTA-RODRIGUES, E.V. et al. Galectin-3 mediates IL-4 induced survival and differentiation of B cells: functional cross-talk and implications during Trypanosoma cruzi infection. **J Immunol**, v.172, p.493-502, 2004.

ALLISON, P. J.; LOCKER, D.; FEINE, J. S. The role of diagnostic delays in the prognosis of oral cancer: a review of the literature. **Oral Oncol**, v.34, p.161-170, 1998.

ALQUATI, R.A.B. Câncer bucal – fatores predisponentes. Disponível em: <www.saudevidaonline.com.br/odontoline>. Acesso em 15 de ago de 2008.

ALVES, P.M., GOMES, D.Q.C., PEREIRA, J.V. Prevalência das lesões cancerizáveis na cavidade oral no município de Campina Grande - Paraíba - Brasil. **Rev Bras de Cien Saúde**, v.8, p.247 - 254, 2004.

AMAR, A. et al. Tratamento cirúrgico do carcinoma epidermóide de lingual e assoalho de boca localmente avançado; efeito da radioterapia pós-operatória. **Rev Bras Otorrinolaringol**, v.4, p.480-3, 2003.

AMARAL, T.M.P. et al. Predictive factors of occult metastasis and prognosis of clinical stages I and II squamous cell carcinoma of the tongue and floor of the mouth. **Oral Oncol.**, v.40, p.780-786, 2004.

AMORIM, A.G., AMORIM, R.F.B., FREITAS, R.A. Estudo epidemiológico do carcinoma epidermóide oral: análise de 85 casos. **Odontol Clínico-Científica**, v.1, n.1, 2002.

ANNEROTH, G.; BATSAKIS, J.; LUNA, M. Review of the literature and recommended system of malignancy grading in oral squamous cell carcinomas. **Scand Dent Res**, v.95, p.229-249, 1987.

* De acordo com a ABNT-NBR-6023/2002.

ARAÚJO-FILHO, J.L.S. et al. Galectina-3 em tumores de próstata: imuno-histoquímica e análise digital de imagens. **J Bras Patol Med Lab**, v.42, n.6, p.469-475, 2006.

ARAÚJO JÚNIOR, R.F. et al. Prognostic significance of the anatomical location and TNM clinical classification in oral squamous cell carcinoma. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal**, v.13, n.6, p.344-7, 2008.

ARAÚJO JÚNIOR, R.F., COSTA, A.L.L., RAMOS, C.C.F. Clinical-pathological parameters as prognostic indicators in oral squamous cell. **Pes Bras Odontoped Clin Integr**, v.6, n.2, p.125-30, 2006.

ARIYOSHI, Y. et al. Epidemiological study of malignant tumours in the oral and maxillofacial region: survey of member institutions of the japanese society of oral and Maxillofacial Surgeons, 2002. **Int J Oncol**, v. 13, p.220-228, 2008.

ASAKAGE, T., YOKOSE, T. Tumor thickness predicts cervical metastasis in patients with stage I/II carcinoma of the tongue. **Cancer**, v.82, p.1443-8, 1998.

BALASSIANO, K.Z. **Estudo comparativo da expressão imuno-histoquímica das proteínas bcl-2, p53, caspase-3 e Ki-67 em hiperplasias fibrosas inflamatórias, queilites actínicas e carcinomas de células escamosas no lábio inferior**. Dissertação (Mestrado em Patologia Buco-dental) Universidade Federal Fluminense, 2004.

BARNES, L. et al. **WHO Classification - Head and Neck Tumours**. Lyon: IARC press, 2005.

BARONDES, S.H. et al. Galectins: structure and function of a large family of animal lectins. **J Biol Chem**, v.269, p.20807-20810, 1994.

BARROS, S.S.L.V. **Expressão imuno-histoquímica de metaloproteinases em carcinoma epidermóide de lábio inferior e língua**. Tese (Doutorado em Patologia Oral no Programa de Pós-graduação em Patologia Oral), Natal, 2006, 128f.

BERNARDES, E.S. et al. *Toxoplasma gondii* infection reveals a novel regulatory role for galectin-3 in the interface of innate and adaptative immunity. **Am J Pathol**, v.168, n.6, 2006.

BRAD, R.; COLE, P. Smokeless tobacco use and cancer of the upper respiratory tract. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol and Endod**, v.93, p.511-515, 2002.

BRASIL. Ministério da saúde. **FAQ – Epidemiologia do câncer. Disponível em:**
< <http://www.inca.org.br/cancer/epidemiologia.htm>> Acesso em 2008.

BRENER, S. et al.. Carcinoma de células escamosas bucal: uma revisão da literatura entre o perfil da paciente, estadiamento clínico e tratamento proposto. **Rev Bras Cancerologia**, v. 53, n.1, p.63-69, 2007.

BREWER, C.F. Binding and cross-linking properties of galectins. **Biochim Biophys Acta**, v.1572, p.255-62, 2002.

BRODERS, A. C. Squamous cell epithelioma of the lip. A study of five hundred and thirty-seven cases. **J Am Med Assoc**, v.74, p.656-666, 1941.

BROUHA, X.D. et al. Increasing incidence of advanced stage head and neck tumours. **Clin Otolaryngol Allied Sci.**, v.28, n.3, p.231-234, 2003.

BRYNE, M. et al. New malignancy grading is better prognostic indicator than Broders' grading in oral squamous cell carcinomas. **J Oral Pathol Med**, v.18, p.432-437, 1989.

BRYNE, M. Is the invasive front of an oral carcinoma the most important area for prognostication? **Oral Disease**, v.4, p.70-77, 1998.

CALIFANO, J., VAN DER RIET P., WESTRA W. et al. Genetic progression model for head and neck cancer: implications for field cancerization. **Cancer Res**, v. 56, p. 2488-92, 1996.

CALIFICI, E.S. et al. Dual activities of galectin-3 in human prostate cancer: tumor suppression of nuclear galectin 3-vs tumor promotion of glycoplastic galectin-3. **Oncogene**, v.23, p.527-536,2004.

CAMBY, I. et al. Galectin-1: a small protein with major functions. **Glycobiology**, v.16, n.11, p.137-157, 2006.

CAMPISI, G. et al. HPV infection in relation to OSCC histological grading and TNM stage. Evaluation by traditional statistics and fuzzy logic model. **Oral Oncol.**, v.42, p.638-645, 2006.

CARINCI, F. et al. A compararison between TNM and TANIS stage grouping for predicting prognosis of oral and oropharyngeal cancer. **J Oral Maxillofac Surg**, v.56, p.832-836, 1998.

CARVALHO, M.B. et al. Características clínico-epidemiológicas do carcinoma epidermóide da cavidade oral no sexo feminino. **Rev Ass Med Brasil**, v. 47, n.3, p.208-14, 2001.

CASTRONOVO et al. Decreased expression of galectin-3 is associated with progression on human breast cancer. **J Pathol**, v.179, p.43-48, 1996.

CHEN, Z. et al. Expression of proinflammatory and proangiogenic cytokines in patients with head and neck cancer. **Clin Cancer Res.**, v.5, p.1369-1379, 2004.

CHIANG, W.F. et al. Overexpression of galectin-1 at the tumor invasion front is associated with poor prognosis in early stage oral squamous cell carcinoma. **Oral Oncol**, v.44, n.4, p.325-34, 2008.

CHOI, K.K. et al. Independent prognostic factors of 861 cases of oral squamous cell carcinoma in Korean adults. **Oral Oncol.**, v.42, p.1-10, 2006.

CHOUFANI, G. et al. The level of expression of galectina-1, galectina-3 and the Thomsem-Friedenreich antigen and their binding sites decrease as clinical aggressiveness increases in head and neck cancers. **Cancer**, v.86, p.2353-2363, 1999.

CINDOLO, L. et al. Galectin 1 and galectin 3 expression in human bladder transitional cell carcinomas. **Int J Cancer**, v.84, p.39-43, 1999.

COSTA, A. L. L. et al. Correlação entre a classificação TNM, gradação histológica e localização anatômica em carcinoma epidermóide oral. **Pesq Odontol Bras**, v.16, p.216-220, 2002.

DAGHER, S.F. et al. Identification of galectina 3 as a factor in mRNA splicing. **Proc Natl Acad Sci**, v.92, p.1213-1217, 1995.

DANGUY, A.; CAMBY, I.; KISS, R. Galectins and Cancer. **Biochim. Biophys. Acta**, v. 1572, p.285-293, 2002.

DANTAS, D.D.L. **Carcinoma epidermóide de língua: estudo comparativo entre estadiamento clínico (TNM) e gradação histológica de malignidade**. Natal, 2000. 89p. Dissertação (Mestrado em Patologia Oral). Departamento de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

DANTAS, D.D.L. et al. Clinical- Pathological parameters in squamous cell carcinoma of the tongue. **Braz Dent J.**, v.14, p.22-25, 2003.

DEMERS, M. et al. A Novel Function for Galectin-7: Promoting Tumorigenesis by Up-regulating MMP-9 Gene Expression. **Cancer Res** , v. 65, n.12, p. 5205-10, 2005.

_____. Galectin-7 in Lymphoma: elevated expression in human lymphoid malignancies and decreased lymphoma dissemination by antisense strategies in experimental model. **Cancer Res**, v. 67, n.6, p. 2824-29, 2007.

DIAS, F. et al. Cresce a incidência de câncer de boca no Brasil. **RBO**, v. 60, n.1, p. 36-9, 2003.

DHIRAPONG, A. et al. The immunological potential of galectin-1 and -3. **Autoimmunity reviews**, 2008 (in press).

DUMIC, J. et al. Galectin-3: an open-ended story. **Biochim Biophys Acta**, v.1760, n.4, p.616-35, 2006.

ELLERHORST, J. et al. Differential expression of endogenous galectin-1 and galectin-3 in human prostate cancer cell lines and effects of overexpressing galectina-1 on cell phenotype. **Int J Oncol**, v.14, p.217-24, 1999.

ELOLA, M.T. et al. Galectin-1 receptors in diferrent cell types. **J Biomed Sci**, v.12, n.1, p.13-29, 2005.

FERRAZO, K. et al. Galectin 3 immunoprofile in adenoid cystic carcinoma and polymorphous low grade adenocarcinoma of salivary glands. **Oral Oncol.**, v.43, p.580-585, 2007.

FISCHER, C. et al. Galectin-1 interacts with the $\alpha 5\beta 1$ fibronectin receptor to restrict carcinoma cell growth via induction of p21 and p27. **J Biol Chem**, v.280, p.37266-277, 2005.

FUKUMORI, T., KANAYAMA, H.O., AVRAHAM, R. The role of galectin-3 in cancer drug resistance. **Drug Resistance Updates**, v.10, p.101-108, 2007.

FUKUMORI, T et al. Galectin 3 regulates mitochondrial stability and antiapoptotic function in response to anticancer drug in prostate cancer. **Cancer Res**, v.66, p.3114-3119, 2006.

GARAVELLO, W. et al. Prognostic influence of gender in patients with oral tongue cancer. **Otolaryngol - Head and Neck Surgery**, v.138, p.768-771, 2008.

GARIN, M.I. et al. Galectin-1: a key effector of regulation mediated by CD4+CD25+ T cells. **Blood**, v.109, p.2058-65, 2007.

GERVÁSIO, O. L. A. S. et al. Oral squamous cell carcinoma: a retrospective study of 740 cases in a Brazilian population. **Braz Dent J.**, v.12, p.57-61, 2001.

GHOSHAL, S. et al. Carcinoma of the buccal mucosa: analysis of clinical presentation, outcome and prognostic factors. **Oral Oncol.**, v.42, p.533-539, 2006.

GILLENWATER, A. et al. Expression of galectins in head and neck squamous cell carcinoma. **Head Neck**, v.18, p. 422-432, 1996.

GILLENWATER, A. et al. Modulation of galectina-1 content in human head and neck squamous carcinoma cells by sodium butyrate. **Int J Cancer**, v. 75, p.217-224, 1998.

GONG, H.C. et al. The NH₂ terminus of galectin-3 governs cellular compartmentalization and functions in cancer cells. **Cancer Res**, v.59, p.6239-245, 1999.

GONZALEZ-GARCIA, R. et al. Contralateral lymph neck node metastasis of squamous cell carcinoma of the oral cavity: a retrospective analytic study in 315 patients. **J Oral Maxillofac Surg**, v. 66, p. 1390-98, 2008.

GRANDIS, J.R. et al. Head and neck cancer: meeting summary and research opportunities. **Cancer Res**, v.64, p.8126-9, 2004.

GREENWOOD, M. et al. Oral cancer: material deprivation, unemployment and risk factor behaviour – an initial study. **Int J Oral Maxillofac Surg**, v.32, p.74-77, 2003.

HANSEN, G.H., et al. Lipid rafts exist as stable cholesterol-independent microdomains in the brush border membrane of enterocytes. **J Biol Chem**, v.276, p.32338-44, 2001.

HERMMAN, J. et al. Primary structure of the soluble lactose binding lectin L-29 from rat and dog and interaction of its non-collagenous proline-, glycine-, tyrosine-rich sequence with bacteria and tissue collagenase. **J Biol Chem**, v.268, p.26704-711, 1993.

HINDLE, I. et al. Is alcohol responsible for more intra-oral cancer? **Oral Oncol**, v.36, p.328-333, 2000.

HIPPO, Y. Differential gene expression profiles of scirrhous gastric cancer cells with high metastatic potential to peritoneum or lymph nodes, **Cancer Res**, v. 61, p. 889-95, 2001.

HIRABAYASHI, J. et al. Oligosaccharide specificity of galectins: a search by frontal affinity chromatography. **Biochemical**, v.1572, v. 232-254, 2002.

HO, C.M. et al. Occult lymph node metastasis in small oral tongue cancers. **Head Neck**, v.14, p.359-63, 1992.

HOKAMA, A. et al. Induced reactivity of intestinal CD4+ T cells with an epithelial cell lectin, galectin-4, contributes to exacerbation of intestinal inflammation. **Immunity**, v.20, p.681-693, 2004.

HONJO, Y. et al. Expression of cytoplasmic galectin-3 as a prognostic marker in tongue carcinoma. **Clin Cancer Res**, v.6, p.4635-4640, 2000.

HUFLEJT, M.E.; LEFFLER, H. Galectin 4 in normal tissues and cancer. **Glyconjugate J**, v.20, p.247-255, 2004.

HUFLEJT, M.E. et al. Galectin 4 expression in human adenocarcinomas is correlated with a highly differentiated phenotype. Keystone Symposium on molecular and cellular biology. Conference on cancer cell invasion and mobility. **J Cell Biochem**, v.20, p.19B, 1995.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br>> Acesso em 2008.

IURISCI, I. et al. Concentrations of galectina 3 in the sera of normal controls and cancer patients. **Clin Cancer Res**, v.6, p.1389-93, 2000.

JACKOBSSON, P.A. et al. Histologic classification and grading of malignancy in carcinoma of the larynx. **Acta Radiol**, v.12, p.1-8, 1973.

JOHNSEN, M. et al. Cancer invasion and tissue remodeling: common themes in proteolytic matrix degradation. **Curr Opin Cell Biol**, v.10, p.667-71, 1998.

JOHNSON, N. et al. Squamous cell carcinoma. In : World Health Organization classification of tumors – Head and Neck tumors, **IARC Library**, 2005.

KADEMANI, D. et al. Prognostic Factors in Intraoral Squamous Cell Carcinoma: The influence of Histologic Grade., **J of Oral Maxillofac Surg**, v.63, p.1599-1605, 2005.

KERDPON, D.; SRIPLUNG, H. Factors related to advanced stage oral squamous cell carcinoma in southern Thailand. **Oral Oncol**, v.37, p.216-221, 2001.

KOHRENHAGEN, N. et al. Increased expression of galectin-1 during the progression of cervical neoplasia. **Int J Gynecol Cancer**, v. 16, n.6, p. 2018-22, 2006.

KONDOH, N. et al. Identification and characterization of genes associated with human hepatocellular carcinogenesis. **Cancer Res**, v.59, p.4990-6, 1999.

KOWALSKY, L.P., MEDINA, J.E. Nodal metastases: predictive factors. **Otolaryngol. Clin. North Am.**, v.31, p.621-37, 1998.

KUMAR, V.K.; ABBAS, A.K.; FAUSTO, N. **Patologia- Bases Patológicas das Doenças**. 7 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

KUROKAWA, H. et al. The high prognostic value of the histologic grade at the deep invasive front of tongue squamous cell carcinoma. **J of Oral Pathol Med**, v.34, p.329-333, 2005.

KUWABARA, I. et al. galectina-7 (PIG1) exhibits pro-apoptotic function through JNK activation and mitochondrial cytochrome c release. **J Biol Chem**, v.277, p. 3487-97, 2002.

LANGBEIN, S. et al. Gene-expression signature of adhesion/growth-regulatory tissue lectins (galectins) in transitional cell cancer and its prognostic relevance. **Histopathology**, v.51, p.681-690, 2007.

LE, Q.T. et al. Galectin-1: a link between tumor hypoxia and tumor immune privilege. **J Clin Oncol**, v.23, p.8932-8941, 2005.

LEE, J.W. et al. Decreased galectin-3 expression during the progression of cervical neoplasia. **J Cancer Res Clin Oncol**, v.132, p.241-74, 2005.

LE MARER. N. Galectin-3 expression in differentiating human myeloid cells. **Cell Biol Int**, v. 24, p.245-251, 2000.

LIMA, A.A.S. et al. Conhecimento de alunos universitários sobre câncer bucal. **Rev Bras de Cancerologia**, v.51, n.4, p.283-288, 2005.

LIU, F.T. et al. Intracellular functions of galectins. **Biochemical**, v.1572, v.263-273, 2002.

LLEWELLYN, C.D.; JOHNSON, N.W.; WARNAKULASURIYA, K.A.A.S. Risk factors squamous cell carcinoma of the oral cavity in young people – a comprehensive literature review. **Oral Oncol.**, v.37, p.401-418, 2001.

LOTAN, R. et al. Lactose-binding lectin expression in human colorectal carcinomas. Relation to tumor progression. **Carbohydr Res**, v.213, p.47-57, 1991.

LYPE, E.M. et al. The role of selective neck dissection (I-III) in the treatment of node negative (N0) neck in oral cancer. **Oral Oncol.**, v.44, n.12, p.1134-8, 2008.

MACKENZIE, J. et al. Increasing incidence of oral cancer amongst young persons: what is the aetiology? **Oral Oncol**, v.36, p.387-389, 2000.

MADSEN, P. et al. Cloning, expression and chromosome mapping of human. **J Biol Chem**, v.270, p.5823-9, 1995.

MAGNALDO, T.; FOWLIS, D.; ARMON, M. Galectin 7, a marker of all types of stratified epithelial. **Differentiation**, v.63, p.159-168, 1998.

MAGNALDO, T.; BARRANDON, Y. CD24 a novel keratinocyte differentiation marker is preferentially expressed in áreas of the hair follicle containing the colony-forming cells. **J Cell Sci**, v.109, p. 3035-3045, 1996.

MAGRINI, E. et al. Neoplasias da cavidade oral: estudo do tipo histológico, localização, cor, sexo e faixa etária. **J Bras Med**, v.78, p.149-150, 2000.

MARQUES, L.A., et al. Oral health, hygiene practices and oral cancer. *Rev Saúde Pública*, v.42, n.3, p.471-9, 2008.

MASSANO, J. et al. Oral squamous cell carcinoma: Review of prognostic and predictive factors. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol and Endod**, v.102, p.67-76, 2006.

MATARRESE, P. et al. Galectin-1 sensitizes resting human T lymphocytes to Fas (CD95) mediated cell death via mitochondrial hyperpolarization, budding, and fission. **J Biol Chem**, v.280, p.6969-6985, 2005.

MIRANDA, J. L. **Expressão das proteínas da matriz extracelular em carcinomas epidermóides de língua e lábio inferior**. Natal, 2002, 110p. Tese (Doutorado em Patologia Oral). Departamento de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

MOORE, S.R. et al. The epidemiology of mouth cancer: a review of global incidence. **Oral Dis**, v.6, p.65-74, 2000.

NAGPAL, J. K.; BIBHU, R. D. Oral cancer: reviewing the present understanding of its molecular mechanism and exploring the future directions for its effective management. **Oral Oncol**, v.39, p.213-221, 2003.

NAGY, N. et al. Refined prognostic evaluation in colon carcinoma using immunohistochemical galectin fingerprinting. **Cancer**, v.97, p.1849-58, 2003.

NAKAHARA, S. et al. On the role of galectin-3 in cancer apoptosis. **Apoptosis**, v.10, p. 267-275, 2005.

NANGIA-MAKKER, P. et al. Galectin 3 induces endothelial cell morphogenesis and angiogenesis. **Am J Pathol**, v.156, p.899-909, 2000.

NEVILLE, B.W. et al. **Patologia Oral e Maxilofacial**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2004. 705p.

NITHYA, C.S. et al. Patterns of cervical metastasis from carcinoma of the oral tongue. **World J Surg Oncol**, v.1, p.10-15, 2003.

NOEL, A.; FOIDART, J.M. The role of stroma in breast carcinoma growth *in vivo*. **J Mammary Gland Biol Neoplasia**, v.3, p.215-25, 1998.

O-CHAROENRAT, P. et al. Tumour thickness predicts cervical nodal metastases and survival in early oral tongue cancer. **Oral Oncol**, v.39, p.386-390, 2003.

OKADA, Y. et al. An analysis of cervical lymph nodes metastasis in oral squamous cell carcinoma. Relationship between grade of histopathological malignancy and lymph nodes metastasis. **Int J Oral Maxillofac Surg**, v.32, p.284-288, 2003.

O'REGAN, E.M. et al. Squamous cell carcinoma of the head and neck in young Irish adults. **Br J Oral Maxillofac Surg**, v.44, p.203-206, 2006.

PACLIK, D. et al. Galectin-4 controls intestinal inflammation by selective regulation of peripheral and mucosal T cell apoptosis and cell cycle. **Plos One**, v.3, n.7, p.1-11, 2008.

PAIVA, M.E.B. et al. Estudo retrospectivo das complicações orais decorrentes da terapia antineoplásica em pacientes do Hospital Napoleão Laureano- PB. **Odontol. Clínico-Científica**, v.6, n.1, 2007.

PEREIRA, A.L.M. **Expressão imuno-histoquímica das integrinas α 2b1, α 3b1 e α 5b1 em carcinoma epidermóide de lábio inferior e língua.** Tese (Doutorado em patologia Oral- Universidade Federal do Rio grande do Norte), 2006. 92f.

PIANTELLI, M. et al. Lack of expression of galectin 3 is associated with a poor outcome in node-negative patients with laryngeal squamous cell carcinoma. **J Clin Oncol**, v.20, p.3850-6, 2002.

PLZAK et al. Galectin-3 an emerging prognostic indicator in advanced head neck carcinoma. **Eur J. Cancer**, v.40, p.2324-2330, 2004.

PONTES, F.S.C. et al. Carcinoma epidermóide – caso clínico. **Rev Fac Odontol São José dos Campos**, v.4, n.1, p.17-21, 2001.

PUGLIANO, F.A. et al. Symptoms as an index of biologic behaviour in head neck cancer. **Otolaryngol Head Neck Surg**, v.120, p.380-386, 1999.

RABINOVICH ,G.A. Galectin 1 as a potential cancer target. **Br J Cancer**, v.92, p.1188-1192, 2005.

RABINOVICH ,G.A. et al. An emerging role for galectins in tuning the immune response : lessons form experimental models of inflammatory disease, autoimmunity and cancer. **Scand J Immunol**, v.66, p.143-158, 2007.

RAMALHO, L. M. P. et al. Câncer de boca: papel dos genes reguladores da apoptose. **Rev Odontociência**, v.17, p.90-95, 2002.

RAJHI, N. et al. Early stage carcinoma of oral tongue: prognostic factors for local control and survival. **Oral Oncol**, v.36, p.508-514, 2000.

RECHRECHE, H. et al. Cloning and expression of the mRNA of human galectina 4and S-type lectin down-regulated in colorectal cancer. **Eur J Biochem**, v.248, p.225-30, 1997.

RIBEIRO, A.C.P. et al. Clinical and histopathological analysis of oral squamous cell carcinoma in young people – a descriptive study in Brazilians. **Br J Oral Maxillofac Surg**, 2008 (in press).

RODU, B., COLE, P., ALA, B. Smokeless tobacco use and cancer of the upper respiratory tract. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v. 93, n.5, p.511-515, 2002.

RUBINSTEIN, N. et al. Targeted inhibition of galectin-1 gene expression in tumor cells results in heightened immune privilege. **Cancer Cell**, v.5, p.241-251, 2004.

SAHED-JAMEE, M. et al. Salivary Concentration of TNF α , IL1 α , IL6 and IL8 in oral squamous cell carcinoma. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal**, v.13, n.5, p.292-5, 2008.

SAUSSEZ, S., et al. The determination of the levels of circulating galectin-1 and -3 in HNSCC patients could be used to monitor tumor progression and/or responses to the therapy. **Oral Oncology**, v.44, n.1, p.86-93, 2008.

_____. Increased expression and altered intracellular distribution of adhesion/growth-regulatory lectins galectins-1 and -7 during tumour progression in hypopharyngeal and laryngeal squamous cell carcinomas. **Histopathology**, v. 52, p. 483-493, 2008.

SCHANTZ, S.P, YU, G.P. Head and neck cancer incidence trends in young Americans, 1973-1997, with a special analysis for tongue cancer. **Arch Otolaryngol Head Neck Surg**, v.128, n.3, p.268-274, 2002.

SHERIN, N. et al. Changing trends in oral cancer. **Ind J of Cancer**, v.45, n.3, 93-96, 2008.

SILVEIRA, E. J. D. **Carcinoma epidermóide de língua: Correlação clínica, histológica e imuno-histoquímica**. Natal, 2004, 113p. Dissertação (Mestrado em Patologia Oral). Departamento de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

SIMONATO, L.E., MIYAHARA, G.I. O papel do HPV na carcinogênese bucal. **Rev Bras Cancerologia**, v.53, n.4, 471-476, 2007.

SOARES, R.C. et al. Detection of HPV DNA and immunohistochemical expression of cell cycle proteins in oral carcinoma in a population of brazilian patients. **J Appl Oral Sci**, v.16, n.5, p.340-4, 2008.

SOUZA, F.A.C.G. et al. Estudo comparativo entre líquen plano e carcinoma epidermóide em mucosa bucal. **Cienc Odontol Bras**, v.8, n.1, p.55-60, 2005.

STOWELL, S.R. et al. Human galectin-1, -2, and -4 induce surface exposure of phosphatidylserine in activated human neutrophils but not in activated T cells. **Blood**, v. 109, p. 219-227, 2007.

SWARTE. V.V. et al. Lymphocyte triggering via L-selectin leads to enhanced galectin-3 mediated binding to dendritic cells. **Eur J Immunol**, v.28, p.2864-2871, 1998.

TAKENAKA, Y et al. Galectin-3 and metastasis. **Glycoconj J**. v.19, p.543-549, 2004.

_____. Nuclear export of phosphorilated galectina 3 regulates its antiapoptotic activity n response to chemotherapeutic drugs. **Mol Cell Biol**, v.24, p.4395-4406, 2004.

TERMINE, N. et al. HPV in oral squamous cell carcinoma vs head and neck squamous cell carcinoma biopsies: a meta-analysis (1998-2007). **Annals of Oncology**, v.16, p.1-10, 2008.

THAN, T.H. et al. Expression of galectina-3 and galectin-7 in thyroid malignancy as potential diagnostic indicators. **Singapore Med. J.**, v.49, n.4, p.333-8, 2008.

THIJSEN, V.L.J.L. et al. Galectin-1 is essential in tumor angiogenesis and is a target for antiangiogenesis therapy. **PNAS**, v.103, n.43, p.15975-80, 2006.

_____. Galectins in the tumor endothelium: opportunities for combined cancer therapy. **Blood**, v.10, n.8, p.2819-27, 2008.

TODD, R.; DONOFF, R. B.; WONG, D. T. W. The molecular biology of oral carcinogenesis: toward a tumor progression model. **J Oral Maxillofac Surg**, v.55, p.613-623, 1997.

VAN DEN BRULE, F.A., WALTREGNY, D., CASTRONOVO, V. Alteration of the cytoplasmic/nuclear expression pattern of galectin-3 correlates with prostate carcinoma progression. **Int J.cancer**, v.89, p.361-367, 2000.

_____. Increased expression of galectin-1 in carcinoma associated stroma predicts poor outcome in prostate carcinoma patients. **J Pathol**, v.193, p.80-7, 2001.

VICENTE, J. C. et al. Expression of cyclin D1 and Ki-67 in squamous cell carcinoma of the oral cavity: clinicopathological and prognostic significance. **Oral Oncol**, v.38, p.301-308, 2002.

VISWANATHAN, H., WILSON, J.A. Alcohol--the neglected risk factor in head and neck cancer. **Clin Otolaryngol Allied Sci.**, v.29, n.4, p. 295-300, 2004.

WANG, L. et al. Galectin 3 is a nuclear matrix protein which binds RNA. **Biochem Biophys Res Commun**, v.303, p.292-303, 1995.

WOOTERS, M.A. et al. Immunohistochemical characterization of the distribution of galectin 4 in porcine small intestine. **J Histochem Cytochem**, v.53, p.197-205, 2005.

WU, A.M. et al. Fine specificity of domain-I of recombinant tandem-repeat galectin 4 from rat intestinal tract (G4-N). **Biochem J**, v.367, p.653-664, 2002.

WUNSCH-FILHO, V. The epidemiology of oral and pharynx cancer in Brazil. **Oral Oncol**, v.38, p.737-746, 2002.

WUNSCH-FILHO, V; GÁTTAS, G.J.F. Biomarcadores moleculares em câncer: implicações para a pesquisa epidemiológica e a saúde pública. **Caderno de Saúde Pública**, v.17, p.467-480, 2001.

YAMAZAKI, Y. et al. Specific p53 mutations predict poor prognosis in oral squamous cell carcinoma. **Oral Oncol**, v.39, p.163-169, 2003.

YANG, R.Y., RABINOVICH, G.A., LIU, F.T. Galectins: structure, function and therapeutic potential. **Molecular Medicine**, v.10, n.17, p.1-24, 2008.

YU, F. et al. 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**, v.277, p.15819-27, 2002.

ZHANG, Z.Y. et al. Human papillomavirus type 16 and 18 DNA in oral squamous cell carcinoma and normal mucosa. **Int J Oral Maxillofac Surg**, v.33, n.1, p.71-74, 2004.

ZAVRAS, A. I. et al. Smoking and alcohol in the etiology of oral cancer: gender-specific risk profiles in the south of Greece. **Oral Oncol**, v.37, p.28-35, 2001.

APÊNDICE 1 – Ficha previamente elaborada para obtenção dos dados a partir dos prontuários clínicos dos pacientes portadores de câncer de língua.

Prontuário:	Ano:	Caso:
Sexo:	Idade:	Raça:
Hábitos:		
Estadiamento clínico:		
Número da biópsia:		
Gradação histológica:		
Tratamento:		
Remissão:	Óbito:	
Metástase:		
Recidivas:		
Observações:		

APÊNDICE 2 – Quadro previamente elaborado para análise do sistema de gradação histológica de malignidade, segundo Bryne (1998), adaptado por Miranda (2002).

Caso N°	Grau de ceratinização	Pleomorfismo nuclear	Padrão de invasão	Infiltrado inflamatório	Escore Total	Gradação histológica
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						
14						
15						
16						
17						
18						
19						
20						
21						
22						
23						
24						
25						
26						
27						
28						
29						
30						

Caso N°	Grau de ceratinização	Pleomorfismo nuclear	Padrão de invasão	Infiltrado inflamatório	Escore Total	Gradação histológica
31						
32						
33						
34						
35						
36						
37						
38						
39						
40						
41						
42						
43						
44						
45						
46						
47						
48						
49						
50						
51						
52						
53						
54						
55						
56						
57						
58						
59						
60						
61						
62						
63						
64						
65						

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](#)