JÉSSICA SOARES GARCIA

Avaliação da expressão das galectinas no melanoma canino

São Paulo
2017

JÉSSICA SOARES GARCIA

Avaliação da expressão das galectinas no melanoma canino

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação de Patologia Experimental e Comparada da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Ciências

Departamento:

Patologia

Área de concentração:

Patologia Experimental e Comparada

Orientador:

Prof.^a. Dr.^a. Cristina de Oliveira Massoco Salles
Gomes

São Paulo
2017

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 3516
FMVZ

Garcia, Jéssica Soares
Avaliação da expressão das galectinas no melanoma canino. / Jéssica Soares Garcia. --
2017.
96 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Patologia, São Paulo, 2017.

Programa de Pós-Graduação: Patologia Experimental e Comparada.

Área de concentração: Patologia Experimental e Comparada.

Orientador: Profa. Dra. Cristina de Oliveira Massoco Salles Gomes.

1. Galectina-1. 2. Galectina-3. 3. Neoplasia. 4. Imunoistoquímica. 5. Canino. I. Título.

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Avaliação da expressão das galectinas no melanoma canino", protocolada sob o CEUA nº 4360110815, sob a responsabilidade de **Cristina de Oliveira Massoco Salles Gomes** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 16/08/2016.

We certify that the proposal "Evaluation of galectins expression in canine melanoma", utilizing 25 Dogs (25 males), protocol number CEUA 4360110815, under the responsibility of **Cristina de Oliveira Massoco Salles Gomes** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 08/16/2016.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **08/2015** a **07/2017**

Área: **Patologia Experimental E Comparada**

Origem: **Amostras biológicas estocadas**

Espécie: **Cães**

sexo: **Machos**

idade: **a**

N: **25**

Linhagem: **N/A**

Peso: **a**

Resumo: O melanoma oral é uma neoplasia frequente em cães, tem um caráter maligno, invasivo, com potencial metastático e muitas modalidades de tratamento estão sendo estudadas para tratar essa neoplasia de difícil controle terapêutico. Estudos recentes se voltam para a o entendimento do microambiente tumoral e formas de manipular esse microambiente como novas terapias. As galectinas são proteínas ligadas a carboidratos da família das lectinas que estão presentes no núcleo, no citoplasma, na superfície de células e secretadas em diversos tecidos. Acredita-se que principalmente a galectina-1 e galectina-3 estejam associadas à transformação neoplásica, sobrevivência da célula neoplásica, angiogênese, evasão do sistema imune e formação de metástases. A galectina-1 está principalmente relacionada com a transformação tumoral e evasão do sistema imune. A galectina-3 está principalmente associada com a adesão entre as células neoplásicas e adesão entre as células neoplásicas e o endotélio, além de aumentar a sobrevivência dessas células na corrente sanguínea contribuindo assim para a formação de metástases. O objetivo do estudo é verificar o padrão de expressão de galectina-1 e galectina-3 no melanoma oral canino e correlacionar os níveis séricos e tecidual de galectina-3 com o estadiamento clínico.

Local do experimento:

São Paulo, 05 de junho de 2017

Profa. Dra. Denise Tabacchi Fantoni

Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Roseli da Costa Gomes

Secretaria Executiva da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: GARCIA, Jéssica Soares

Título: **Avaliação da expressão das galectinas no melanoma canino**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação de Patologia Experimental e Comparada da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

RESUMO

GARCIA, J. S. **Avaliação da expressão das galectinas no melanoma canino.** [Evaluation of galectins expression in canine melanoma]. 2017. 96 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

O melanoma canino é uma neoplasia frequente em cães, tem um caráter maligno, invasivo, com potencial metastático e, neste contexto, estudos acerca do envolvimento das galectinas se justifica para ampliar o conhecimento do microambiente tumoral desta neoplasia. As galectinas são proteínas da família das lectinas animais que apresentam domínios de reconhecimento de carboidratos e podem estar localizadas no núcleo, no citoplasma, na superfície de células e secretadas em diversos tecidos. Acredita-se que principalmente a galectina-1 (gal-1) e a galectina-3 (gal-3) estejam associadas à transformação neoplásica, sobrevivência da célula neoplásica, angiogênese, evasão do sistema imune e formação de metástases. A gal-1 está principalmente relacionada com a transformação tumoral e evasão do sistema imune. A gal-3 está principalmente associada com a angiogênese, desenvolvimento de metástases pelo aumento da motilidade e adesão entre as células neoplásicas e adesão entre as células neoplásicas e o endotélio, além de contribuir para a evasão do sistema imune. O objetivo do estudo foi verificar o padrão de expressão de gal-1 e gal-3 nos diferentes graus de agressividade do melanoma canino, além de avaliar a concentração sérica de gal-3 e comparar com cães clinicamente saudáveis. Foram analisadas a expressão de gal-1 e gal-3 em 30 fragmentos de melanoma canino, seis fragmentos de melanocitoma e nove fragmentos de linfonodos metastáticos. Foi realizada a dosagem sérica de gal-3 em 30 cães com melanoma e comparada a 10 cães clinicamente saudáveis. O melanoma canino expressou gal-1 principalmente no citoplasma e expressou um padrão variável de gal-3 no citoplasma e no núcleo. Em relação à expressão de gal-3 observou-se que conforme a agressividade do melanoma houve diminuição da frequência de células com marcação citoplasmática e um aumento da intensidade de marcação nuclear com concomitante diminuição da frequência de células com marcação nuclear. Os cães com melanoma apresentaram aumento dos níveis séricos de gal-3 antes da exérese da neoplasia quando comparados aos animais clinicamente saudáveis, mostrando o seu potencial uso como biomarcador do melanoma.

Palavras chave: Galectina-1. Galectina-3. Neoplasia. Imunoistoquímica. Canino.

ABSTRACT

GARCIA, J. S. **Evaluation of galectins expression in canine melanoma.** [Avaliação da expressão das galectinas no melanoma canino]. 2017. 96 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

Canine melanoma is a frequent neoplasm in dogs. It has a malignant, invasive and metastatic potential. In this context, studies about the involvement of galectins are justified to increase the knowledge of melanoma tumor microenvironment. Galectins are proteins of the animal lectins family, that display carbohydrate recognition domains and may be located in the nucleus, cytoplasm, cell surface, as well as secreted in various tissues. Galectin-1 (Gal-1) and galectin-3 (Gal-3) are associated with neoplastic transformation, neoplastic cell survival, angiogenesis, immune system evasion, and metastasis formation. Gal-1 is mainly related to tumor transformation and immune system evasion. Gal-3 is mainly associated with angiogenesis, development of metastasis by increased motility and adhesion between neoplastic cells and adhesion between neoplastic cells and endothelium, while contributing to the evasion of the immune system. The aim of the study was to ascertain the expression pattern of Gal-1 and Gal-3 in different severity degrees of canine melanoma, as well as to evaluate the serum concentration of Gal-3 and to compare with clinically healthy dogs. Gal-1 and Gal-3 expression was analyzed in 30 canine melanoma fragments, six melanocytoma fragments and nine fragments of metastatic lymph nodes. Serum Gal-3 was measured in 30 dogs with melanoma and compared to 10 clinically healthy dogs. Canine melanoma expressed Gal-1 primarily in the cytoplasm and presented a variable pattern of Gal-3 in the cytoplasm and nucleus. Regarding the expression of Gal-3, it was observed that according to melanoma severity, there was a decrease in the percent frequency of cells with cytoplasmic labeling and an increase in the nuclear marking intensity with concomitant decrease in the percent frequency of nuclear-labeled cells. Dogs with melanoma had increased serum levels of Gal-3 before the excision of the neoplasia when compared to the clinically healthy animals, showing its potential use as a melanoma biomarker.

Keywords: Galectin-1. Galectin-3. Neoplasm. Immunohistochemistry. Canine.

1 INTRODUÇÃO

1.1 MELANOMA CANINO

1.1.1 EPIDEMIOLOGIA

Os melanomas correspondem a 7% dos tumores malignos que acometem os cães e é considerada uma neoplasia comum nesta espécie (SMITH; GOLDSCHMIDT; MACMANUS, 2002). O comportamento biológico do melanoma é variável e dependente de sua localização anatômica, estadiamento e características histológicas (SMITH; GOLDSCHMIDT; MACMANUS, 2002; SPLANGER; KASS, 2006).

As principais localizações anatômicas são a cavidade oral, pele, dígito, e menos frequentes em leito ungueal e globo ocular. O melanoma oral é considerado o mais comum e corresponde de 32 a 62% dos casos, seguida pela apresentação cutânea que corresponde de 27 a 42% dos casos, seguida pela apresentação em dígito 6 a 25% dos casos (SPLANGER; KASS, 2006; TEIXEIRA et al., 2010; GILLARD et al., 2013). Segundo Gillard et al. (2013) dos melanomas os que apresentam um comportamento agressivo são 97% dos de cavidade oral, 43% dos cutâneos e 84% dos de dígito. Os cães com a mucosa oral pigmentada apresentam maior risco em desenvolver o melanoma que pode acometer qualquer região da cavidade oral, porém os locais mais frequentes são a mucosa gengival, lábio, língua e palato duro respectivamente (BERGMAN; KENT; FARESE, 2013). O melanoma oral em cães possui um comportamento biológico agressivo, é altamente metastático semelhante ao comportamento do melanoma oral em humanos, já a forma cutânea em cães tem um comportamento menos agressivo com grande possibilidade de cura após excisão ampla, exceto os que acometem junção mucocutânea que são mais agressivos (MODIANO; RITT; WOJCIESZYN, 1999). O melanoma oral frequentemente causa metástases nos linfonodos regionais em 30 a 70% dos casos e também causa metástases à distância em 14 a 92% dos casos sendo o pulmão o órgão mais comum, além disso, em 57% dos casos esses tumores podem invadir o osso adjacente (RAMOS-VARA et al., 2000; WILLIAMS; PACKER, 2003; BERGMAN; KENT; FARESE, 2013). Já os melanomas caninos em dígito 30 a 40% formam

metástases em linfonodos regionais e esses possuem um pior prognóstico quando comparados ao que não formam metástases nos linfonodos (MARINO et al., 1995; HENRY et al., 2005).

Os animais mais acometidos são cães de meia idade a idosos que apresentam entre 8 a 11 anos de idade (TEIXEIRA et al., 2010; GILLARD et al., 2013). Quanto ao gênero alguns estudos apontam para maioria de fêmeas acometidas e outros apontam para a maioria de machos, porém não existe comprovação e acredita-se que não exista predileção sexual (RAMOS-VARA et al., 2000; SCHULTHEISS, 2006; TEIXEIRA et al., 2010; MILLER; GRIFIN; CAMPBELL et al., 2013; GILLARD et al., 2013). Já em relação ao padrão racial os melanomas são comumente diagnosticados em cães das raças scottish terrier, golden retriever, poodle, dachshund, cocker spainel e schnauzer, nessa última raça a apresentação em dígito é frequente (HANH et al., 1994; MARINO et al., 1995; GOLDSCHMIDT, 1994).

A etiologia do melanoma em cães é desconhecida, porém vários estudos apontam para algumas possibilidades como predisposição genética associadas a mutações genéticas em genes supressores de tumores e genes que controlam a apoptose no melanócitos neoplásicos, além da exposição a agentes químicos, trauma, consanguinidade, hormônios, inflamação e microbiota residente (MODIANO; RITT; WOJCIESZYN, 1999; SMITH; GOLDSCHMIDT; MACMANUS, 2002; DUZTSEV et al., 2015).

Em humanos a etiologia do melanoma está associada principalmente à exposição aos raios solares ultravioletas e a apresentação cutânea é a mais comum, sendo uma neoplasia com potencial invasivo e metastático (TRONNIER et al., 2013). No entanto, em cães como a apresentação em cavidade oral é a mais frequente acredita-se que sua etiologia não esteja correlacionada à exposição solar como nos humanos, somente em alguns casos de melanoma cutâneo em cães que acometem áreas da pele que sofrem exposição solar (SMITH; GOLDSCHMIDT; MACMANUS, 2002; TRONNIER et al., 2013). Em humanos com melanoma cutâneo 57% dos tumores possuem mutação no gene BRAF devido principalmente à exposição solar, contudo as outras formas de melanoma em humanos como a oral e a acral são pouco frequentes e não associadas à exposição solar (GOEL et al., 2006; LYU et al., 2016). Outros genes mutados nos melanomas cutâneos em humanos são o NRAS, PTEN e KIT (LYU et al., 2016). Em cães pouco se sabe sobre as principais mutações presentes no melanoma, porém alguns estudos mostram que os melanomas caninos não apresentam mutação no gene BRAF e somente em poucos melanomas foram detectadas mutações nos genes NRAS e PTEN (FOWLES; DENTON; GUSTAFSON, 2013; GILLARD et al., 2013). Levando-se em consideração que os melanomas caninos não têm mutação no gene BRAF e que a interferência da exposição solar não é fator relevante, os cães são considerados modelo

espontâneo para estudo dos melanomas humanos de localização não cutânea (GILLARD et al., 2013). Outra consideração sobre a importância do conhecimento dos genes mutados é a possibilidade de utilizar as vias alvos dos produtos gênicos como alvos terapêuticos, pois atualmente em medicina humana existem disponíveis no mercado fármacos que inibem os produtos gênicos do BRAF (TRONNIER et al., 2013).

1.1.2 ESTADIAMENTO

O sistema de estadiamento do melanoma oral em cães é realizado de acordo com os critérios estabelecidos pela Organização Mundial da Saúde e adaptado por Owen (OWEN, 1980), nos quais o tamanho do tumor, o acometimento ou não de linfonodo regional e a presença ou não de metástases à distância são os principais critérios levados em consideração (Quadro 1) (OWEN, 1980; BERGMAN; KENT; FARESE, 2013). Esse sistema é considerado antigo, porém ainda é considerado na rotina clínica veterinária para avaliar a extensão da neoplasia no paciente e o tamanho da neoplasia não é considerado um fator prognóstico para o melanoma (MODIANO; RITT; WOJCIESZYN, 1999; SPLANGER; KASS, 2006).

Quadro 1 - Sistema de estadiamento clínico para tumores orais em cães.

Tumor primário (T)	
Tis	Tumor in situ
T1	Tumor < 2 cm em seu maior eixo
T1a	Sem evidência de invasão óssea
T1b	Com evidência de invasão óssea
T2	Tumor 2-4 cm em seu maior eixo
T2a	Sem evidência de invasão óssea
T2b	Com evidência de invasão óssea
T3	Tumor > 4 cm em seu maior eixo
T3a	Sem evidência de invasão óssea
T3b	Com evidência de invasão óssea
Linfonodo Regional (N)	
N0	Sem metástase em linfonodos regionais
N1	Linfonodos ipsilaterais móveis
N1a	Sem evidência de metástase em linfonodo

N1b	Com metástase em linfonodo		
N2	Linfonodos contralaterais móveis		
N2a	Sem evidência de metástase em linfonodo		
N2b	Com metástase em linfonodo		
N3	Linfonodos aderidos		
Metástase (M)			
M0	Sem metástase à distância		
M1	Com metástase à distância		
Estadiamento	Tumor (T)	Linfonodo (N)	Metástase (M)
I	T1	N0, N1a, N2a	M0
II	T2	N0, N1a, N2a	M0
III	T3	N0, N1a, N2a	M0
	Qualquer T	N1b	M0
IV	Qualquer T	N2b ou N3	M0
	Qualquer T	Qualquer N	M1

Fonte: OWEN, 1980.

1.1.3 CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS

Após a exérese da neoplasia o diagnóstico do melanoma é obtido a partir da realização de avaliação histopatológica por meio da análise de diversos parâmetros os quais podem ser considerados como fatores prognósticos para o melanoma canino (SMEDLEY et al., 2011b; MUNDAY; LÖHR; KIUPEL, 2017).

O grau de pigmentação é um desses parâmetros, pois a presença de melanina caracteriza os tumores melânicos e a ausência de pigmento caracteriza os melanomas amelanicos. Os melanomas melânicos com mais de 50% das células pigmentadas são considerados de melhor prognóstico, já os que possuem poucas células pigmentadas ou os amelanicos não é possível prever o comportamento. Aproximadamente um terço dos melanomas caninos são amelanicos e o seu diagnóstico pelo exame histopatológico é difícil, pois não é possível diferenciá-los de outras neoplasias como sarcoma de tecidos moles, carcinomas, linfomas e outros tumores ósseos (CHOI; KUSEWITT, 2003; SMEDLEY et al., 2011a; MUNDAY; LÖHR; KIUPEL, 2017). Nesse caso é recomendada a realização de imunoistoquímica utilizando diferentes marcadores para concluir o diagnóstico. As principais

proteínas utilizadas como marcadores nas reações de imunoistoquímica para detectar melanócitos são S-100, HMB-45, tirosinase, PNL2 e Melan A. A proteína S-100 é uma proteína ligante de cálcio presente não só nos melanócitos, mas também em células do sistema nervoso central e periférico. Já os marcadores específicos para os melanócitos são: o HMB-45 que é uma proteína presente no melanossomo, a tirosinase que é uma enzima que participa na produção da melanina, o melan A e a PNL2 que são antígenos presentes em melanócitos (SMEDLEY et al., 2011a). Os estudos mais recentes apontam para o uso combinado dos marcadores PNL2, Melan A e tirosinase com maior acurácia para o diagnóstico dos melanomas amelanicos em cães (GIUDICE et al., 2010; RAMOS-VARA et al., 2011).

Outros parâmetros avaliados no exame histopatológico são o tipo celular, presença de ulceração, presença de invasão angiolinfática, área de necrose, presença de infiltrado inflamatório linfoplasmocítico, presença de atividade juncional e o índice mitótico (SMEDLEY et al., 2011b). Os principais tipos celulares encontrados nos melanomas são os epitelióides, fusiformes e mistos. Alguns outros tipos celulares já foram descritos, porém são raros como os de células balonosas, os de células claras e os de células tipo dendríticas. Os epitelióides são compostos predominantemente por células redondas ou poliédricas, nos do tipo fusiformes predominam células alongadas e nos do tipo mistos são compostos por células epitelióides e fusiformes (MUNDAY; LÖHR; KIUPEL, 2017). A presença de ulceração pode ser um fator prognóstico negativo nos melanomas cutâneos e de dígito; a presença de invasão angiolinfática pode indicar maior agressividade da neoplasia indicando pior prognóstico. Já a presença de áreas de necrose não foi significativa em predizer o prognóstico e a presença de infiltrado inflamatório linfoplasmocítico precisa ser melhor investigada como fator prognóstico (SMEDLEY et al., 2011b). A atividade juncional é descrita pela presença de células neoplásicas na junção dermo-epidérmica nos tumores cutâneos e de dígito e nos tumores orais a presença dessas células neoplásicas ocorre na junção dermo-epitelial, pois os melanomas comumente possuem um crescimento expansivo na região de derme ou submucosa (MUNDAY; LÖHR; KIUPEL, 2017). É uma característica descrita nos exames histopatológicos, porém ainda não foi caracterizada como um fator prognóstico (SMEDLEY et al., 2011b).

O índice mitótico que consiste na contagem do número de mitoses em 10 campos consecutivos a partir de uma área de alta atividade mitótica pode refletir a taxa de proliferação da neoplasia. Acredita-se que um índice mitótico maior do que 3 pode indicar maior agressividade devido ao crescimento rápido e um pior prognóstico nos melanomas caninos. A taxa de proliferação celular também pode ser avaliada pela realização de imunoistoquímica

utilizando como alvo o antígeno Ki67, que é um antígeno nuclear expresso em todas as fases do ciclo celular, por isso a sua expressão está associada com a proliferação celular da neoplasia (SHOLZEN; GERDES, 2000). Os melanomas com índice de expressão de Ki67 maior que 15% possuem pior prognóstico (SMEDLEY et al., 2011b).

Além desses fatores a presença de atipia nuclear, presença de metástase à distância e invasão de estruturas adjacentes são fatores prognósticos negativos no melanoma canino (SMEDLEY et al., 2011b). O Quadro 2 adaptado de Smedley et al. (2011b) resume os principais fatores prognósticos para os tumores melanocíticos caninos de acordo com sua localização, presença de metástase e invasão e parâmetros histopatológicos.

Quadro 2 - Fatores prognósticos para os tumores melanocíticos caninos.

Localização	Neoplasias melanocíticas orais		Neoplasias melanocíticas cutâneas/ dígito
Metástase à distância	Pior prognóstico		Pior prognóstico
Invasão angiolinfática	Pior prognóstico		Pior prognóstico
Índice Mitótico	10 campos consecutivos iniciando pelo campo de alta atividade mitótica		10 campos aleatórios
	Evitar áreas de ulceração em ambos os métodos		
	<4/10	Prognóstico favorável	<3/10
	≥4/10	Prognóstico desfavorável	≥3/10
Atipia nuclear	% de núcleos atípicos contados em 200 células		Avaliação subjetiva
	< 30%	Prognóstico favorável	< 20%
	≥ 30%	Prognóstico desfavorável	≥ 20%
Grau de pigmentação	Avaliação Subjetiva		
	% células pigmentadas		Escala 0 (sem pigmento) 2 (muito pigmento)
	≥ 50%	Prognóstico favorável	2
	< 50%	Prognóstico incerto	0 ou 1
Presença de ulceração	Sem relevância prognóstica		Prognóstico desfavorável
Nível de invasão/ infiltração	Superficial sem lise óssea	Prognóstico favorável	Limitado à derme
	Profundo com lise óssea	Prognóstico desfavorável	Envolvimento além da derme
Índice de Ki67	Número médio de núcleos positivos por grade (5 campos contados por grade)		% de núcleo positivo em 500 células contadas
	Evitar áreas de ulceração e inflamação e avaliar áreas fortemente marcadas		
	< 19,5	Prognóstico favorável	< 15%
	≥ 19,5	Prognóstico desfavorável	≥ 15%

Fonte: SMEDLEY et al. 2011b.

1.1.4 TRATAMENTO

O tratamento de escolha para os melanomas é a exérese da neoplasia. Já os que apresentam comportamento agressivo, foram removidos incompletamente ou com a presença de metástases recomenda-se o uso de terapia adjuvante como a radioterapia, a eletroquimioterapia, a quimioterapia e a imunoterapia (SILVEIRA et al., 2010; BERGMAN;

KENT; FARESE, 2013). A radioterapia pode ser utilizada no melanoma canino como tratamento único ou como terapia adjuvante e existem alguns protocolos descritos na literatura veterinária (FREEMAN et al., 2003; PROULX et al., 2003; MURPHY et al., 2005). Ainda existem controvérsias sobre a radiosensibilidade do melanoma canino, porém o maior limitante de seu uso é o alto custo (BERGMAN; KENT; FARESE, 2013).

Já a eletroquimioterapia pode ser aplicada no leito cirúrgico após a exérese do melanoma com objetivo de debelar células tumorais localmente. A eletroquimioterapia consiste na aplicação de pulsos elétricos no leito cirúrgico que potencializa os efeitos citotóxicos do fármaco antineoplásico que é administrado concomitantemente de forma sistêmica. Existem alguns protocolos estabelecidos na medicina veterinária e seu uso auxilia no controle local como a radioterapia, porém com menor custo (SILVEIRA et al., 2010).

A quimioterapia como adjuvante, ou até em combinação com radioterapia é pouco eficaz no tratamento do melanoma canino (BROCKLEY; COOPER; BENNETT, 2013; TUOHY et al., 2014). Os protocolos quimioterápicos mais utilizados baseiam-se no uso da carboplatina e cisplatina, a taxa de resposta é baixa variando de 18 a 28% (RASSNICK et al., 2001; BORJA et al., 2004).

Em relação ao uso da imunoterapia, o produto já disponível para uso no mercado americano é uma vacina xenogênica que carrega o gene da tirosinase humana (Oncept[®]) recomendada para o tratamento adjuvante no melanoma oral especialmente os de estadiamento II e III, porém os estudos disponíveis não mostraram aumento da sobrevida ou do período livre de doença (BERGMAN; WOLCHOK, 2008; OTTNOD et al., 2013). Além dessa vacina, outras vacinas antitumorais com uso de lisado tumoral autólogo ou associadas ao uso de células dendríticas vêm sendo estudadas, porém só realizadas no âmbito experimental e não estão amplamente disponíveis para uso (HOGGE et al., 1998; TAMURA et al., 2008).

1.1.5 PROGNÓSTICO

O prognóstico para os melanomas orais em cães é de reservado a ruim, sendo a média de sobrevida após a exérese da neoplasia de aproximadamente 17 meses para os pacientes de estadiamento I, cinco a seis meses para os de estadiamento II e três meses para os de estadiamento III (MACEWEN et al., 1986). Já nos pacientes com melanoma de dígito o prognóstico vai depender da presença de metástase no momento do diagnóstico, a média de sobrevida após a exérese da neoplasia em pacientes que não possuem metástases é de

aproximadamente 12 meses (HENRY et al., 2005). Os pacientes com melanoma cutâneo apresentam um melhor prognóstico com perspectiva de cura após ressecção completa da neoplasia, segundo Brockley et al. (2013) 88% dos animais com melanoma cutâneo permaneceram vivos após 1 ano da ressecção cirúrgica (MODIANO; RITT; WOJCIESZYN, 1999).

A forma oral em cães é a mais frequente e a mais agressiva, sendo uma neoplasia com alto potencial metastático de difícil controle, pois as terapias disponíveis são pouco eficazes. Devido às essas características seria de extrema valia compreender melhor o microambiente tumoral focando nos mecanismos que promovem tanta habilidade celular no que diz respeito à capacidade de invasão, resistência a apoptose e evasão do sistema imune o que pode alavancar novas estratégias terapêuticas para o tratamento do melanoma tanto em medicina humana quanto em medicina veterinária. Nesse contexto justifica-se o estudo das galectinas e o entendimento do seu papel no microambiente tumoral. Não existem descrições do padrão de expressão de galectinas para o melanoma canino, assim a avaliação da expressão da galectina-1 e da galectina-3 nos melanomas caninos é o primeiro passo para o entendimento se essas moléculas podem estar associadas à progressão tumoral e desenvolvimento de metástases nesses animais, além de servirem como futuros alvos terapêuticos.

1.2 MICROAMBIENTE TUMORAL E AS GALECTINAS

As células neoplásicas apresentam diversas propriedades que as tornam capazes de se multiplicar e sobreviver no organismo, como a resistência à morte, evasão da destruição pelo sistema imune, proliferação ilimitada, evasão dos fatores supressores de crescimento, manutenção dos fatores de proliferação celular, reprogramação do metabolismo energético celular, capacidade de metástase, promoção da inflamação, instabilidade genômica e capacidade de induzir a angiogênese (HANAHAHAN; WEINBERG, 2011). Essas características dependem da sinalização entre as células neoplásicas e as outras células associadas ao tumor, como por exemplo, as células endoteliais, células do sistema imune e células do estroma tumoral como os fibroblastos que em conjunto compõe o microambiente tumoral (HANAHAHAN; HANAHAHAN; WEINBERG, 2011).

Estudos recentes apontam para a importância das galectinas no microambiente tumoral, pois elas contribuem para a transformação neoplásica, sobrevivência da célula neoplásica, angiogênese e formação de metástase (LIU; RABINOVICH, 2005). As galectinas

são proteínas com capacidade de ligação a carboidratos da família das lectinas que estão presentes no núcleo, no citoplasma, na superfície de células e secretadas por células em diversos tecidos (BARONDES et al., 1994). As galectinas intracelulares participam em vias de sinalização intracelulares contribuindo para o controle da proliferação celular, diferenciação celular e apoptose. Já as galectinas extracelulares são responsáveis pela interação entre a superfície celular de células adjacentes e pela interação entre a superfície celular e a matriz extracelular (LIU; PATTERSON; WANG, 2002; LIU; RABINOVICH, 2005). Existem 15 galectinas identificadas nos mamíferos, e todas possuem um domínio bem conservado de reconhecimento e ligação ao carboidrato (LIU; RABINOVICH, 2005). As galectinas-1, 2, 5, 7, 10, 11, 13, 14, 15 tem um único domínio de ligação ao carboidrato e são classificadas como protótipo. Já as galectinas-4, 6, 8, 9, 12 possuem múltiplos domínios de ligação ao carboidrato conectado por uma sequência de aminoácidos e são classificadas como repetição em tandem. A galectina-3 é a única classificada como quimérica, pois tem um domínio de ligação ao carboidrato e uma porção N-terminal (LIU; RABINOVICH, 2005; RUVOLO, 2016). A Figura 1 adaptada de Ruvolo (2016) mostra as diferentes estruturas das galectinas.

Figura 1 – Representações esquemáticas dos principais grupos de galectinas segundo suas estruturas.

Fonte: RUVOLO, 2016.

Acredita-se que estejam fortemente relacionadas com a progressão neoplásica e formação de metástases a galectina-1 (gal-1) e a galectina-3 (gal-3) (LIU; RABINOVICH, 2005). Acredita-se que principalmente a gal-1 e a gal-3 estejam associadas à transformação neoplásica, sobrevivência da célula neoplásica, angiogênese, evasão do sistema imune e formação de metástases (LIU; RABINOVICH, 2005; ZHANG et al., 2014; CHEN et al., 2014).

1.3 GALECTINA 1

A gal-1 pode apresentar-se em duas formas principais, como um dímero não covalente composto por subunidades com um domínio de reconhecimento de carboidrato e na forma monomérica. O dímero não covalente pode dissociar-se em monômero em baixas concentrações, e esse monômero é capaz de se ligar às moléculas de carboidrato, porém com baixa afinidade (CAMBY et al., 2006). A gal-1 exerce diversas funções fisiológicas, dentre elas participa da diferenciação celular em gônadas tanto masculinas quanto femininas, além de participar da embriogênese e das fases gestacionais iniciais (WOLFF et al., 2005; CAMBY et al., 2006). A gal-1 participa da diferenciação celular em mioblastos, células mesenquimais hematopoiéticas e é amplamente distribuída pelo sistema nervoso central e periférico durante o desenvolvimento de roedores (GOLDRING et al., 2002; VAS et al., 2005; MCGRAW et al., 2005). Além disso, contribui para a iniciação, a amplificação e a resolução de respostas inflamatórias (ALMKVIST; KARLSSON, 2004). As células epiteliais tímicas expressam gal-1 que participa da seleção negativa ou positiva de linfócitos no timo e suprime a liberação de IL-2 uma citocina pró-inflamatória favorecendo a liberação de IL-10 uma citocina anti-inflamatória (CAMBY et al., 2006). Tanto na forma dimérica quanto monomérica é capaz de se ligar as glicoproteínas de superfície dos linfócitos T ativados e desencadear sua apoptose através do envolvimento de diversos mediadores intracelulares. Como possui esse efeito imunomodulatório estudos vêm sendo realizados para o uso da gal-1 para tratamento de diversas doenças auto-imunes (GALVAN et al., 2000; CAMBY et al., 2006).

Acredita-se que alterações na expressão da gal-1 estejam associadas à transformação tumoral das células, proliferação das células neoplásicas, contribua para a adesão e migração de células tumorais e auxilie na evasão do tumor ao sistema imune (RABINOVICH, 2005).

A expressão da gal-1 está associada com a transformação tumoral das células devido à sua interação com as proteínas codificadas pelo oncogene Ras. Essas proteínas através da transdução de sinal auxiliada pela gal-1 intracelular controlam a proliferação, diferenciação e sobrevivência celular, então o aumento da expressão da gal-1 pode desregular a proliferação celular contribuindo para a transformação tumoral da célula (PAZ et al., 2001).

Em relação ao crescimento das células tumorais a gal-1 tem um papel dubio na dependência de sua quantidade e a via pela qual ela atua. Quando a expressão do gene da gal-1 foi silenciado em células tumorais de glioma seu crescimento foi inibido e ocorreu, inibição da proliferação celular quando foi adicionada de forma exógena às células de neuroblastoma (YAMAOKA et al., 2000; KOPITZ et al., 2001).

Sabe-se que a gal-1 aumenta a adesão das células tumorais à matriz extracelular (adesão celular heterotípica), aumenta a adesão entre as células tumorais (adesão celular homotípica) e auxilia a migração de células tumorais contribuindo para a formação de metástases (TINARI et al., 2001; RABINOVICH, 2005). Além disso, a gal-1 pode atuar na motilidade celular aumentando o potencial invasivo das células neoplásicas (RABINOVICH, 2005). Em células de glioma o aumento a gal-1 causou um aumento da motilidade dessas células pelo aumento da expressão da proteína RhoA, uma proteína que modula a polimerização da actina. A supressão da expressão da gal-1 nessas células de glioma reduziu sua motilidade e adesividade (CAMBY et al., 2002).

A evasão do sistema imune das células tumorais está associada com a expressão da gal-1 no estroma tumoral e nas células endoteliais dos vasos que infiltram os tumores e esta expressão está associada a um efeito imunossupressor (D'HAENE et al., 2005; CAMBY et al., 2006). Esse efeito imunossupressor é decorrente da capacidade da gal-1 em induzir a apoptose dos linfócitos T citotóxicos, protegendo o microambiente tumoral do efeito dessas células (CAMBY et al., 2006). Estudos mostram a expressão de gal-1 nos vasos tumorais de linfomas e não nos vasos dos tecidos linfóides normais, além de sua expressão ser detectada no estroma de diversas outras neoplasias (DANGUY; CAMBY; KISS et al., 2002; D'HAENE et al., 2005). Um estudo utilizando como modelo o melanoma murino mostrou que quando a atividade biológica da gal-1 foi bloqueada nos tecidos tumorais houve redução das massa tumoral e foi detectado um aumento da resposta anti-tumoral do hospedeiro mediada pelos dos linfócitos T (RUBINSTEIN et al., 2004).

A expressão da gal-1 tem sido estudada e identificada em diversos tipos de tumores em humanos (DANGUY et al., 2002; EBRAHIM et al., 2014) e em cães a gal-1 foi caracterizada somente em carcinomas mamários (OLIVEIRA et al., 2014). Neste trabalho, foi encontrado um aumento da expressão da gal-1 nas células do tumor e do estroma de carcinomas mamários, sugerindo sua contribuição na transformação e progressão tumoral

Em um estudo com tumores de mama em humanos a expressão da gal-1 foi correlacionada com sua graduação histológica, pois quanto maior o grau histológico maior foi a expressão gal-1 e nos tecidos de neoplasias mamárias benignas a gal-1 foi pouco expressa. O silenciamento do gene da gal-1 em tumores mamários em modelo murino mostrou redução do crescimento tumoral e diminuição do número de metástases pulmonares (MORENO et al., 2012).

Já nos tumores de próstata em humanos as células endoteliais dos vasos tumorais expressam grande quantidade de gal-1 sugerindo que sua expressão esteja correlacionada com

a angiogênese tumoral, além dessa expressão de gal-1 nas células endoteliais do tumor afetar a migração de linfócitos T para o microambiente tumoral contribuindo para evasão do sistema imune (COMPAGNO et al., 2014). A expressão de gal-1 no estroma tumoral foi correlacionada a um aumento de invasividade e formação de metástases humanos com câncer de colo de útero, além do mecanismo de radioresistência desses tumores estarem associados à modulação via gal-1 do oncogene Ras (HUANG et al., 2012; KIM et al., 2013).

O aumento da expressão de gal-1 nas células tumorais e nas células do estroma em amostras de pacientes humanos com câncer de pulmão de células não pequenas foi correlacionada com um pior prognóstico (CARLINI et al., 2014). Em estudo experimental em camundongos com glioma a expressão de gal-1 favoreceu a angiogênese e aumentou o infiltrado de células imunossupressoras no microambiente tumoral e quando a expressão de gal-1 foi silenciada nesses tumores houve aumento de sobrevida e redução do infiltrado de células imunossupressoras no microambiente tumoral (VERSCHUERE et al., 2014).

Em estudos com melanomas em humanos a expressão de gal-1 pelas células tumorais e células endoteliais do tumor foi associada à resistência desses tumores aos tratamentos com radioterapia e quimioterapia pela modulação da angiogênese e de células imunossupressoras no microambiente tumoral (LEFRANC; MATHIEU; KISS, 2011; MATHIEU et al., 2012). Já um estudo que avaliou a expressão de gal-1 em amostras de carcinoma renal de pacientes humanos, mostrou que tanto as células do tumor primário quanto as células das metástases apresentavam um aumento da expressão gal-1, além de testes in vitro comprovarem que quando o gene da gal-1 é silenciado nessas células existe uma redução da invasidade e redução da transição epitélio-mesenquima (HUANG et al., 2014).

Em pacientes humanos com carcinoma de células de transição o aumento da expressão de gal-1 nas células tumorais de foi correlacionada com a graduação histológica, sendo a expressão maior em tumores de alto grau (CINDOLO et al., 1999).

Assim, por tudo quanto exposto a caracterização da gal-1 em diversos tipos tumores é importante como um potencial alvo terapêutico na tentativa de retardar a progressão tumoral e diminuir o potencial metastático para aumentar a sobrevida dos pacientes (DANGUY et al., 2002; RABINOVICH, 2005; EBRAHIM et al., 2014).

1.4 GALECTINA 3

A gal-3 é uma molécula composta por um domínio N-terminal composto por 12 aminoácidos, seguida por uma sequência semelhante ao colágeno rico nos aminoácidos como glicina, prolina e tirosina com um domínio C-terminal composto por 140 aminoácidos. A porção N-terminal é uma sequência de aminoácidos conservados na família das galectinas e contém dois sítios de fosforilação em serina e é necessária para a secreção e translocação nuclear da gal-3. A porção C-terminal engloba um sítio de ligação ao carboidrato que está associada à invasão e metástases nos tumores (SONG et al., 2014).

A gal-3 pela sua habilidade de se ligar a carboidratos da superfície celular e de glicanos na matriz extracelular participa em diversas funções fisiológicas e também em diversos processos patológicos, atuando em diversos mecanismos celulares como a apoptose, a adesão, a migração, a angiogênese, além da resposta inflamatória (LI; LI; GAO, 2014).

No processo de apoptose a gal-3 intracelular possui uma similaridade e interage com várias proteínas da família Bcl-2 inibindo a apoptose, esse processo foi detectado em humanos com leucemia (RUVOLO, 2016). Além disso, a gal-3 extracelular pode se ligar à superfície de linfócitos T ativados e induzir a apoptose pela ativação das caspases, mostrando o papel dubio da gal-3 no processo de apoptose de acordo com a sua localização (FUKUMORI et al., 2003).

No processo de adesão e migração a gal-3 extracelular aumenta a adesividade entre as células e entre as células e a matriz extracelular participando no desenvolvimento renal, no processo de angiogênese e na progressão de doenças auto-imunes (OCHIENG; FURTAK; LUKYANOV, 2004). Ela também participa da adesão de células imunes como os neutrófilos e monócitos à laminina e sua posterior ativação, além de colaborar com a adesão vascular dos eosinófilos (RAO et al., 2007; POLLI et al., 2013). A gal-3 participa da angiogênese aumentando a expressão vascular de caderina endotelial e estimulando diretamente a formação de capilares pelas células endoteliais (NANGIA et al., 2000; MOURAD-ZEIDAN et al., 2008a).

A gal-3 é considerada uma potente proteína inflamatória que causa ativação e migração de macrófagos, indução, proliferação e ativação de fibroblastos participando do processo de fibrose em diversos tecidos como o fígado, vasos sanguíneos, rins, coração e pulmões (LI; LI; GAO, 2014). Em humanos a gal-3 é considerada um biomarcador de fibrose na insuficiência cardíaca congestiva, porém na medicina veterinária a dosagem sérica de gal-3 não foi capaz de identificar insuficiência cardíaca em cães e também não foi capaz de

identificar a diferença entre os diferentes estágios de doença valvar crônica de mitral que é a cardiopatia mais comum nos cães (TANG et al., 2011; DE BOER et al., 2014; CASTRO, 2016).

Acredita-se que mutações ou aumento da expressão da gal-3 estejam associados ao aumento da adesão entre as células neoplásicas (adesão celular homotípica) e também um aumento de adesão entre as células endoteliais (adesão celular heterotípica), além de evitar a apoptose das células neoplásicas quando elas se desprendem de um vaso sanguíneo (efeito anti-anoikis) (KIM et al., 1999; YU et al., 2007).

Um estudo utilizando carcinomas de mama em humanos demonstrou que as células metastáticas desse tumor expressam em sua superfície altos níveis de gal-3 e do antígeno oncofetal *Thomsen-Friedenreich* que é um ligante para a gal-3, e a expressão dessas moléculas de superfície nas células metastáticas contribuem para uma maior adesão entre as células tumorais, além de contribuir também para uma maior adesão das células tumorais com as células endoteliais, o que não ocorre nas células não metastáticas desse tipo de neoplasia (KHALDOYANIDI et al., 2003). Outro estudo com diversos tipos de câncer de mama em humanos mostrou que a expressão de gal-3 na membrana das células tumorais está relacionada à adesão das células tumorais ao endotélio facilitando a metástase e contribuindo para a imunossupressão do microambiente tumoral pelo desligamento dos linfócitos T ativados (SIMONE et al., 2014). Além das neoplasias de mama em humanos, alterações na expressão e mutações da gal-3 foram estudadas em diversos tipos de neoplasias e está correlacionada com o desenvolvimento, progressão e formação de metástases em diversos tipos de neoplasias por diferentes mecanismos, dentre os tipos tumorais estudados estão o câncer colorretal, o câncer gástrico, o carcinoma pancreático, o câncer de pulmão, o câncer de próstata, o melanoma de pele dentre outros (CHOI et al., 2005; PRIETO et al., 2006; KIM et al., 2010; XIE et al., 2012; SONG et al., 2012; KNAPP et al., 2013; WU et al., 2013).

Nos tumores de próstata em humanos a expressão de gal-3 foi relacionada à progressão da doença e o mecanismo envolvido foi associado à clivagem da gal-3 pelas metaloproteinases e esse processo causou um aumento do tamanho da neoplasia com resistência a apoptose (WANG et al., 2009). Nesse mesmo estudo utilizando modelo experimental com camundongos o silenciamento da gal-3 foi associado com a diminuição da migração celular, diminuição da invasividade e crescimento tumoral, já em modelos *in vitro* o silenciamento da gal-3 promoveu a parada do ciclo celular nas células tumorais (WANG et al., 2009). Outro estudo avaliou pela técnica de imunoistoquímica a expressão de gal-3 nos tumores de próstata em humanos e mostrou que nos tecidos prostáticos normais e nas

neoplasias benignas a gal-3 é expressa tanto no citoplasma quanto no núcleo das células e nos tumores malignos essa expressão é reduzida. Além disso, a expressão da gal-3 nesses tumores foi útil ao predizer a recorrência bioquímica desses tumores pela correlação com os níveis de PSA (KNAPP et al., 2013).

A expressão de gal-3 em carcinomas gástricos e em câncer colorretal em humanos foi associada ao aumento de motilidade nas células neoplásicas favorecendo o processo de metástase (KIM et al., 2010; WU et al., 2013). A gal-3 também é expressa em gliomas e um estudo utilizando modelo experimental em ratos mostrou que em gliomas em estágios iniciais a gal-3 é expressa nas células tumorais e não é expressa nas células da microglia, já em gliomas em estágios mais avançados além das células neoplásicas expressarem a gal-3 as células da micróglia também expressam, sugerindo que a gal-3 é ativada na micróglia de acordo com a progressão do glioma (BIHN et al., 2013).

O melanomas cutâneos em humanos também expressam a gal-3. Um estudo sugeriu um aumento da expressão de gal-3 nos melanomas quando comparou lesões melanocíticas benignas com os melanomas malignos, porém a maioria dos estudos sugerem o contrário que durante a progressão do melanoma ocorra uma diminuição da expressão da gal-3 quando comparadas lesões melanocíticas benignas, com melanomas primários iniciais, melanomas primários avançados e melanomas metastáticos (PRIETO et al., 2006; MOURAD-ZEIDAN 2008b; VEREECKEN et al., 2005; BROWN et al., 2012). Essa discordância de resultados pode ser explicada pela diferença entre as metodologias, especialmente em relação ao anticorpo utilizado, já que a gal-3 pode ser clivada pelas metaloproteinases de matriz extracelular (BROWN et al., 2012). Mourad-Zeidan (2008b) mostrou que as lesões metastáticas dos pacientes com melanoma apresentavam alta expressão nuclear de gal-3, concluindo que melanomas que apresentavam expressão de gal-3 nuclear maior ou igual à expressão citoplasmática apresentaram um menor tempo livre de doença. Já Brown et al. (2012) mostrou que os pacientes com melanoma que apresentavam menor expressão de gal-3 nuclear apresentaram um prognóstico pior comparado aos pacientes que apresentaram uma maior expressão nuclear de gal-3. Acredita-se que na progressão do melanoma a alta expressão de gal-3 nos melanomas primários iniciais contribuam para a resistência à apoptose dessas células e durante a progressão dos melanomas primários mais avançados as metaloproteinases são liberadas por essas células e utilizam a gal-3 como substrato (BROWN et al., 2012). Então na progressão do melanoma ocorre depleção dos estoques intracelulares de gal-3 e conseqüentemente uma diminuição da expressão de gal-3, e essa depleção gradual foi associada a um prognóstico desfavorável com aumento do risco de desenvolvimento de

metástases (BROWN et al., 2012). Em um estudo com linhagens celulares de melanoma a expressão de gal-3 foi associada com a regulação da expressão de uma autotaxina que estimula a angiogênese, o crescimento tumoral e o desenvolvimento de metástases (BRAEUER et al., 2012).

O aumento da expressão de gal-3 foi observado também em amostras tumorais de pacientes humanos carcinomas renais de células claras, carcinomas de células de transição e carcinoma de células escamosas em bexiga, sendo que nessas duas últimas neoplasias o aumento da expressão da gal-3 foi correlacionado ao maior grau histológico (SAKAKI et al., 2008; SAKAKI et al., 2010). Em carcinomas pancreáticos humanos a expressão de gal-3 foi associada com aumento da motilidade e da sobrevivência das células neoplásicas contribuindo para a formação de metástases (SONG et al., 2012).

A expressão de gal-3 juntamente com outros marcadores foi útil para diferenciar o comportamento biológico de feocromocitoma em humanos (SAFFAR et al., 2011). Em amostras de tumores de pacientes humanos com câncer de pulmão de células não pequenas notou-se um aumento da expressão nuclear de gal-3 e uma diminuição da expressão citoplasmática nos pacientes que apresentaram um prognóstico pior (CHOI et al., 2005).

Em cães a gal-3 só foi estudada até então em carcinomas mamários e carcinoma gástrico. O estudo de carcinomas mamários de cães demonstrou um aumento da expressão da gal-3 nas células neoplásicas intravasculares e nas células metastáticas presentes nos linfonodos, sugerindo que esse aumento de expressão da gal-3 contribui para a formação de metástases (OLIVEIRA et. al, 2014). O estudo com carcinoma gástrico em cães evidenciou aumento da expressão da gal-3 no citoplasma e no núcleo das células tumorais (WOO et al., 2001).

A gal-3 também pode ser detectada no soro de pacientes com câncer. Em um estudo realizado em pacientes humanos com melanoma de pele e presença de metástase a concentração sérica de gal-3 estava aumentada sugerindo o uso da gal-3 como fator prognóstico nesses pacientes, pois acredita-se que a presença das células neoplásicas seja a responsável pela liberação da gal-3 na corrente sanguínea (VERECKEN et al., 2005b). Em um estudo experimental com ratos uma linhagem celular de melanoma amelanico foi estabelecida e quando esses tumores foram implantados nos ratos notou-se uma aumento da concentração sérica de gal-3 durante a progressão tumoral, sugerindo que a gal-3 pode ser um biomarcador de melanoma amelanico (BONDOC et al., 2016).

Foi detectado um aumento da concentração sérica de gal-3 em pacientes humanos com carcinoma hepatocelular e os pacientes que apresentaram os níveis mais elevados foram os

que tiveram um menor tempo de sobrevida, sendo então um fator prognóstico nesses pacientes (MATSUDA et al., 2008). Já um estudo que avaliou as concentrações séricas de gal-3 em pacientes portadores de carcinomas de células de transição foi detectado um aumento nos níveis de gal-3 nesses pacientes, porém não houve correlação com a sobrevida, graduação histológica e estágio da doença (SAKAKI et al., 2008). Em humanos com carcinoma pancreático também foi detectado um aumento da concentração sérica gal-3, sendo uma ferramenta útil para diferenciar o carcinoma pancreático de outras afecções pancreáticas crônicas (XIE et al., 2012).

Em cães um estudo avaliou a concentração sérica de gal-3 em animais portadores de neoplasias mamárias e foram realizadas dosagens seriadas, notou-se que as maiores concentrações foram detectadas um mês após a cirurgia para remoção da neoplasia e nas coletas posteriores somente os animais que eram portadores de metástases apresentaram aumento das concentrações séricas de gal-3, os animais que não desenvolveram metástases não apresentaram aumento da concentração sérica de gal-3 nas dosagens seguintes (RIBEIRO et al., 2016).

A gal-3 vêm sendo estudada como um potencial alvo terapêutico e moléculas estão sendo estudadas e testadas para diferentes tipos de neoplasias (RUVOLLO, 2016). Pectinas cítricas modificadas vêm sendo desenvolvidas e estudadas como agentes terapêuticos, pois podem competir com glicanos e bloquear a função de sobrevivência da célula mediada pela gal-3 (GLINSKY; RAZ, 2009). Uma dessas pectinas cítricas modificadas denominada GCS-100 têm se mostrado eficaz em estudos pré-clínicos para diferentes neoplasias como mieloma múltiplo, linfoma, leucemia (STREETLY et al., 2010; CLARK et al., 2012; DAVIS et al., 2014). Em um desses estudos o uso da GCS-100 em cultura de células de mieloma múltiplo mostrou uma inibição da proliferação celular e aumento da apoptose das células tumorais (STREETLY et al., 2010). Outro estudo que utilizou células de leucemia mielóide aguda utilizou GSC-100 sozinho ou em combinação com outro fármaco e foi observada a apoptose das células tumorais (DAVIS et al., 2014). O estudo que utilizou células de linfoma, mostrou que o uso de GSC-100 ajudou a remover a gal-3 do receptor CD45 dos linfócitos tumorais, processo que facilitou a morte celular causada pelos quimioterápicos utilizados concomitantemente (CLARK et al., 2012). Outra molécula inibidora de gal-3 a GM-CT-01 vêm sendo desenvolvida para o tratamento de fibrose e em um estudo recente sugere que ela seja capaz de melhorar a função dos linfócitos T citotóxicos que infiltram os tumores podendo ser utilizada futuramente como terapia em pacientes oncológicos (TRABER; ZOMER, 2013; DEMOTTE et al., 2014).

1.5 CONCLUSÃO

Conclui-se que o melanoma canino, independente de sua localização anatômica, expressa gal-1 e gal-3 com padrões diferentes; o padrão de expressão de gal-1 foi predominantemente citoplasmático independente do grau de agressividade, enquanto que para a gal-3 na progressão do melanoma foi verificado uma diminuição da frequência de células com marcação citoplasmática, com aumento de intensidade de marcação nuclear e com concomitante diminuição da frequência de células com marcação nuclear. Os cães com melanoma apresentaram aumento dos níveis séricos de gal-3 antes da exérese da neoplasia quando comparados aos animais clinicamente saudáveis, mostrando o seu potencial uso como biomarcador do melanoma.

REFERÊNCIAS

- ALMKVIST, J.; KARLSSON, A. Galectins as inflammatory mediators. **Glycoconjugate Journal**, v. 19, n. 7, p. 575-581, 2004. Disponível em <
<https://link.springer.com/article/10.1023/B:GLYC.0000014088.21242.e0> >. Acesso em: 5 abr. 2017.
- ATKINS, C. J.; BONAGURA, J.; ETTINGER, S.; FOX, P.; GORDON, S.; HAGGSTROM, J.; HAMLIN, R.; KEENE, B.; LUIS-FUENTES, V.; STEPIEN, R. Guidelines for the diagnosis and treatment of canine chronic valvular heart disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 23, n. 6, p. 1142-1150, 2009. Disponível em <
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1939-1676.2009.0392.x/pdf> >. Acesso em: 10 set 2015.
- BARONDES S. H.; COOPER, D. N. W.; GITTS, M. A.; LEFFLER, H. Galectins: Structure and function of a large family of animal lectins **The Journal of Biological Chemistry**, v. 269, n. 33, p. 20807 - 20810, 1994. Disponível em <
<http://www.jbc.org/content/269/33/20807.long> >. Acesso em: 2 set. 2015.
- BERGMAN, P. J.; WOLCHOK, J. D. Of mice and men (and dogs): Development of a xenogeneic DNA vaccine for canine oral malignant melanoma. **Cancer Therapy**, v. 6, p. 817-826, 2008. Disponível em <
<http://www.onehealthinitiative.com/publications/Bergman%20Wolchok%20Cancer%20Therapy%20Oct%202008.pdf> >. Acesso em: 10 nov. 2015.
- BERGMAN, P. J.; KENT, S. M.; FARESE, J. P. Melanoma. In: WITHROW, S. J., VAIL, D. M., PAGE, R. L. **Small Animal Clinical Oncology**. 5th ed. Elsevier Saunders: St. Louis, MO, USA, 2013; pp. 321-333.
- BINH, N. H.; SATOH, K.; KOBAYASHI, K.; TAKAMATSU, M.; HATANO, Y.; HIRATA, A.; TOMITA, H.; KUNO, T.; HARA, A. Galectin-3 in preneoplastic lesions of glioma. **Journal of Neuro-oncology**, v.111, n. 2, p. 123-132, 2013. Disponível em <
<https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11060-012-1005-2> >. Acesso em: 24 abr. 2017.
- BONDOC, A.; KATOU-ICHIKAWA, C.; GOLBAR, H. M.; TANAKA, M.; IZAWA, T.; KUWAMURA, M.; YAMATE, J. Establishment and characterization of a transplantable tumor line (RMM) and cell line (RMM-C) from a malignant amelanotic melanoma in the F344 rat, with particular reference to galectin-3 expression in vivo and in vitro. **Histology and Histopathology**, v. 31, n. 11, p. 1195-1207, 2016. Disponível em <
http://www.hh.um.es/Abstracts/Vol_31/31_11/31_11_1195.htm >. Acesso em: 20 mar. 2017.
- BORIA, P. A.; MURRY, D. J.; BENNETT, P. F.; GLICKMAN, N. W.; SNYDER, P. W.; MERKEL, B. L.; SCHLITTLER, D. L.; MUTSAERS, A. J.; THOMAS, R. M.; KNAPP, D.W. Evaluation of cisplatin combined with piroxicam for the treatment of oral malignant melanoma and oral squamous cell carcinoma in dogs. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 224, n. 3, p. 388-394, 2004. Disponível em <
<http://avmajournals.avma.org/doi/pdf/10.2460/javma.2004.224.388> >. Acesso em: 10 nov. 2015.

BRAEUER, R. R.; ZIGLER, M.; KAMIYA, T.; DOBROFF, A. S.; HUANG, L.; CHOI, W.; MCCONKEY, D. J.; SHOSHAN, E.; MOBLEY, A. K.; SONG, R.; RAZ, A.; BAR-ELI, M. Galectin-3 contributes to melanoma growth and metastasis via regulation of NFAT1 and autotaxin. **Cancer Research**, v. 72, n. 22, p. 5757-5766, 2012. Disponível em < <http://cancerres.aacrjournals.org/content/72/22/5757.long#ref-9> >. Acesso em: 22 abr. 2017.

BROCKLEY, L. K.; COOPER, M. A.; BENNETT, P. F. Malignant melanoma in 63 dogs (2001–2011): the effect of carboplatin chemotherapy on survival. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 61, n. 1, p. 25-31, 2013. Disponível em < <http://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/00480169.2012.699433?needAccess=true> >. Acesso em: 8 nov. 2015.

BROWN, E. R.; DOIG, T.; ANDERSON, N.; BRENN, T.; DOHERTY, V.; XU, Y.; BARTLETT, J. M.; SMYTH, J. F.; MELTON, D. W. Association of galectin-3 expression with melanoma progression and prognosis. **European Journal of Cancer**, v. 48, n. 6, p. 865-874, 2012. Disponível em < [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0959-8049\(11\)00714-3](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0959-8049(11)00714-3) >. Acesso em: 10 ago. 2016.

CAMBY, I.; BELOT, N.; LEFRANC, F.; SADEGHI, N.; LAUNOIT, Y.; KALTNER, H.; MUSETTE, S.; DARRO, F.; DANGUY, A.; SALMON, I.; GABIUS, H. J.; KISS, R. Galectin-1 modulates human glioblastoma cell migration into the brain through modifications to the actin cytoskeleton and levels of expression of small GTPase. **Journal of Neuropathology and Experimental Neurology**, v. 61, n. 7, p. 585-596, 2002. Disponível em <<https://academic.oup.com/jnen/article/61/7/585/2916320/Galectin-1-Modulates-Human-Glioblastoma-Cell>>. Acesso em: 3 abr. 2017.

CAMBY, I.; LE MERCIER, M.; LEFRANC, F.; KISS, R. Galectin-1: a small protein with major functions. **Glycobiology**, v. 16, n. 11, p. 137-157, 2006. Disponível em <<https://academic.oup.com/glycob/article-lookup/doi/10.1093/glycob/cwl025>>. Acesso em: 10 abr. 2017.

CARLINI, A.; ROITMAN, P.; NUÑEZ, M.; PALLOTTA, M. G.; BOGGIO, G.; SMITH D.; SALATINO, M.; JOFFÉ, E. D.; RABINOVICH, G. A.; PURICELLI, L.I. Clinical relevance of galectin-1 expression in non-small cell lung cancer patients. **Lung Cancer**, v. 84, n. 1, p. 73-78, 2014. Disponível em < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016950021400052X> >. Acesso em: 10 set. 2015.

CASTRO, J. R. **Galectina-3 como biomarcador na insuficiência cardíaca secundária à degeneração valvar crônica de mitral em cães**. 158f. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo, 4 de maio de 2016. Disponível em < <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10136/tde-03102016-102425/pt-br.php> >. Acesso em: 12 jun. 2016.

CHEN, J.; TANG, D.; WANG, S.; LI, Q. G.; ZHANG, J. R.; LI, P.; LU, Q.; NIU, G.; GAO, J.; YE, N. Y.; WANG, D. R. High expressions of galectin-1 and VEGF are associated with poor prognosis in gastric cancer patients. **Tumor Biology**, v. 35, n. 3, p. 2513-2519, 2014. Disponível em < <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs13277-013-1332-8> >. Acesso: 6 ago. 2015.

CHOI, J. H.; LIM, H. Y.; PARK, J. S.; LEE, H. W.; JUNG, Y. M.; KIM, H. C.; OH, Y. T.; CHOI, H.; HWANG, S. C.; HAN, J. H. Expression of galectin-3 in non-small cell lung cancer (NSCLC): prognostic significance in adenocarcinoma. **Journal of Clinical Oncology**, v. 23, n. 16, p. 9761- 9671, 2005. Disponível em <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304383504002022>>. Acesso em: 20 ago. 2015.

CHOI, C.; KUSEWITT, D. F. Comparison of Tyrosinase-related Protein-2, S-100, and Melan A Immunoreactivity in Canine Amelanotic Melanomas. **Veterinary Pathology**, v. 40, n. 6, p. 713–718, 2003. Disponível em <<http://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1354/vp.40-6-713>>. Acesso em: 20 de jan. 2016.

CINDOLO, L.; BENVENUTO, G.; SALVATORE, P.; PERO, R.; SALVATORE, G.; MIRONE, V.; PREZIOSO, D.; ALTIERI, V.; BRUNI, C. B.; CHIARIOTTI, L. Galectin-1 and galectin-3 expression in human bladder transitional-cell carcinomas. **International Journal of Cancer**, v. 84, n. 1, p. 39-43, 1999. Disponível em <[http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/\(SICI\)1097-0215\(19990219\)84:1%3C39::AID-IJC8%3E3.0.CO;2-E/abstract](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/(SICI)1097-0215(19990219)84:1%3C39::AID-IJC8%3E3.0.CO;2-E/abstract)>. Acesso em: 15 set. 2015.

CLARK, M. C.; PANG, M.; HSU, D. K.; LIU, F. T.; DE VOS, S.; GASCOYNE, R. D.; SAID, J.; BAUM, L. G. Galectin-3 binds to CD45 on diffuse large B-cell lymphoma cells to regulate susceptibility to cell death. **Blood**, v. 120, n. 23, p. 4635-4664, 2012. Disponível em <<http://www.bloodjournal.org/content/120/23/4635.long?sso-checked=true>>. Acesso em: 23 abr. 2017.

COMPAGNO, D.; GENTILINI, L. D.; JAWORSKI, F. M.; PÉREZ, I. G.; CONTRUFO, G.; LADERACH, D. J. Glycans and galectins in prostate cancer biology, angiogenesis and metastasis. **Glycobiology**, v. 24, n. 10, p. 899-906, 2014. Disponível em <<https://academic.oup.com/glycob/article-lookup/doi/10.1093/glycob/cwu055>>. Acesso em: 12 abr. 2017.

DALOTTO-MORENO, T.; CROCI, D. O.; CERLIANI, J. P.; MARTINEZ-ALLO, V. C.; DERGAN-DYLON, S.; MÉNDEZ-HUERGO, S. P.; STUPIRSKI, J. C.; MAZAL, D.; OSINAGA, E.; TOSCANO, M. A.; SUNDBLAD, V.; RABINOVICH, G. A.; SALATINO, M. Targeting galectin-1 overcomes breast cancer-associated immunosuppression and prevents metastatic disease. **Cancer Research**, v. 73, n. 3, p. 1107-1117, 2013. Disponível em <<http://cancerres.aacrjournals.org/content/73/3/1107.long>>. Acesso em: 28 jan. 2017.

DANGUY, A.; CAMBY, I.; KISS, R. Galectins and cancer. **Biochimica and Biophysica Acta**, v. 1572, n. 2-3, p. 285-293, 2002. Disponível em <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030441650200315X>>. Acesso em: 2 ago. 2015.

DAVIS, R. E.; RUVOLO, V. R.; WANG, Z.; MA, W.; SCHOBBER, W. D.; ROLKE, J.; TIDMARSH, G.; ANDREEFF, M.; RUVOLO, P. P. GSC-100 induces apoptosis of acute leukemia cells by disrupting galectin-mediated survival signaling. **Blood**, v. 124, n. 21, p. 904, 2014. Disponível em <<http://www.bloodjournal.org/content/124/21/904>>. Acesso em: 23 abr. 2017.

DE BOER, R. A.; VELDE, A. R.; MUELLER, C.; VELDHUISEN, D. J.; ANKER, S. D.; PEACOCK, W. F.; ADAMS, K. F.; MAISEL, A. Galectin-3: A Modifiable Risk Factor in Heart Failure. **Cardiovascular Drugs and Therapy**, v. 28, n. 3, p. 237-246, 2014. Disponível em < <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10557-014-6520-2>>. Acesso em: 14 out. 2015.

DEMOTTE, N.; BIGIRIMANA, R.; WIEËRS, G.; STROOBANT, V.; SQUIFFLET, J. L.; CARRASCO, J.; THIELEMANS, K.; BAURAIN, J. F.; SMISSEN, P.; COURTOY, P. J.; BRUGGEN, P. A short treatment with galactomannan GM-CT-01 corrects the functions of freshly isolated human tumor-infiltrating lymphocytes. **Clinical Cancer Research**, v. 20, n. 7, p. 1823-1833, 2014. Disponível em < <http://clincancerres.aacrjournals.org/content/20/7/1823.long>>. Acesso em: 23 abr. 2017.

D'HAENE, N.; MARIS, C.; SANDRAS, F.; DEHOU, M. F.; REMMELINK, M.; DECAESTECKER, C.; SALMON, I. The differential expression of galectin-1 and galectin-3 in normal lymphoid tissue and non-Hodgkins and Hodgkins lymphomas. **International Journal of Immunopathology and Pharmacology**, v. 18, n. 3, p. 431-443, 2005. Disponível em < <http://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/039463200501800304>>. Acesso em: 12 abr. 2017.

DUZTSEV, A.; GOLDSZMID, R. S.; VIAUD, S.; ZITVOGEL, L.; TRINCHIERI, G. The role of the microbiota in inflammation, carcinogenesis, and cancer therapy. **European Journal of Immunology**, v. 45, n. 1, p. 17-31, 2015. Disponível em < <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/eji.201444972/epdf>>. Acesso em: 10 abr. 2017.

EBRAHIM, A. H.; ALALAWI, Z.; MIRANDOLA, L.; RAKHSHANDA, R.; DAHLBECK, S.; NGUYEN, D.; JENKINS, M.; GRIZZI, F.; COBOS, E.; FIGUEROA, J. A.; CHIRIVA-INTERNATI, M. Galectins in cancer: carcinogenesis, diagnosis and therapy. **Annals of Translational Medicine**, v. 2, n. 9, p. 88-94, 2014. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4205868/pdf/atm-02-09-88.pdf>>. Acesso em: 12 abr. 2017.

FOWLES, J. S. S.; DENTON, C. L.; GUSTAFSON, D. L. Comparative analysis of MAPK and PI3K/AKT pathway activation and inhibition in human and canine melanoma. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 13, n. 3, p. 288-304, 2013. Disponível em < <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/vco.12044/epdf>>. Acesso em: 5 fev. 2016.

FREEMAN, K. P.; HAHN, K. A.; HARRIS, F. D.; KING, G. K. Treatment of dogs with oral melanoma by hypofractionated radiation therapy and platinum-based chemotherapy (1987-1997). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 17, n. 1, p. 96-101, 2003. Disponível em < <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1939-1676.2003.tb01329.x/epdf>>. Acesso em: 5 nov. 2015.

FUKUMORI, T.; TAKENAKA, Y.; YOSHII, T.; KIM, H. R.; HOGAN, V.; INOHARA, H.; KAGAWA, S.; RAZ, A. CD29 and CD7 Mediate Galectin-3-Induced Type II T-Cell Apoptosis. **Cancer Research**, v. 63, n. 23, p. 8302-8311, 2003. Disponível em < <http://cancerres.aacrjournals.org/content/63/23/8302.full-text.pdf>>. Acesso em: 15 abr. 2017.

GALVAN, M.; TSUBOI, S.; FUKUDA, M.; BAUM, L. G. Expression of a specific glycosyltransferase enzyme regulates T cell death mediated by galectin-1. **Journal of Biologic Chemistry**, v. 275, n. 22, p. 16730-16737, 2000. Disponível em < <http://www.jbc.org/content/275/22/16730.long>>. Acesso em: 12 abr. 2017.

GILLARD, M.; CADIEU, E.; DE BRITO, C.; ABADIE, J.; VERGIER, B.; DEVAUCHELLE P.; DEGORCE, F.; DRÉANO, S.; PRIMOT, A.; DORSO, L.; LAGADIC, M.; GALIBERT F.; HÉDAN, B.; GALIBERT, M. D.; ANDRÉ, C. Naturally occurring melanomas in dogs as models for non-UV pathways of human melanomas. **Pigment Cell Melanoma Res**, v. 27, n. 1, p. 90–102, 2013. Disponível em < <http://www.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/pcmr.12170/epdf>>. Acesso em: 5 ago. 2015.

GIUDICE, C.; CECILIANI, F.; RONDENA, M.; STEFANELLO, D.; GRIECO, V. Immunohistochemical investigation of PNL2 reactivity of canine melanocytic neoplasms and comparison with Melan A. **Journal of Veterinay Diagnostic Investigation**, v. 22, n. 3, p. 389-394, 2010. Disponível em < <http://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/104063871002200307>>. Acesso em: 22 jan. 2016.

GLINSKY, V. V.; RAZ, A. Modified citrus pectin anti-metastatic properties: one bullet, multiple targets. **Carbohydrate Research**, v. 344, n. 14, p. 1788-1791, 2009. Disponível em < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0008621508004102>>. Acesso em: 22 abr. 2017.

GOEL, V. K.; LAZAR, A. J.; WARNEKE, C. L.; REDSTON, M. S.; HALUSKA, F. G. Examination of Mutations in BRAF, NRAS, and PTEN in Primary Cutaneous Melanoma. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 126, n. 1, p. 154-160, 2006. Disponível em < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022202X15325963>>. Acesso em: 5 abr. 2017.

GOLDRING, K.; JONES, G. E.; THIAGARAJAH, R.; WATT, D. J. The effect of galectin-1 on the differentiation of fibroblasts and myoblasts in vitro. **Journal of Cell Science**, v. 115, n. 2, p.355–366, 2002. Disponível em < <http://jcs.biologists.org/content/115/2/355.long>>. Acesso em: 4 abr. 2017.

GOLDSCHMIDT, M. H. Pigmented lesions of the skin. **Clinics in dermatology**, v. 12, n. 4, p. 507-514, 1994. Disponível em < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0738081X94902178?via%3Dihub>>. Acesso em: 6 ago. 2015.

HAHN, K. A.; DENICOLA, D. B.; RICHARDSON, R. C.; HAHN, E. A. Canine oral malignant melanoma: prognostic utility of an alternative staging system. **Journal of Small Animal Practice**, v. 35, n. 5, p. 251–256, 1994. Disponível em < <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1748-5827.1994.tb03273.x/abstract>>. Acesso em 10 ago. 2015.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of câncer: the next generation. **Cell**, v.144, n. 5, p. 646-674, 2011. Disponível em < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867411001279>>. Acesso em: 12 ago. 2015.

HENRY, C. J.; BREWER, W. G.; WHITLEY, E. M.; TYLER, J. W.; OGILVIE, G. K.; NORRIS, A.; FOX, L. E.; MORRISON, W. B.; HAMMER, A.; VAIL, D. M.; BERG, J. Canine digital tumors: a veterinary cooperative oncology group retrospective study of 64 dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 19, n. 5, p. 720-724, 2005. Disponível em < <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1939-1676.2005.tb02751.x/epdf> >. Acesso em: 10 dez. 2015.

HOGGE, G. S.; BURKHOLDER, J. K.; CULP, J.; ALBERTINI, M. R.; DUBIELZIG R. R.; KELLER, E. T.; YANG, N. S.; MACEWEN, E. G. Development of human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor- transfected tumor cell vaccines for treatment of spontaneous canine cancer. **Human Gene Therapy**, v. 9, n. 13, p. 1851-1861, 1998. Disponível em <<http://online.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/hum.1998.9.13-1851> >. Acesso em: 25 ago. 2015.

HUANG, E. Y.; HEN, Y. F.; CHEN, Y. M.; LIN, I. H.; WANG, C. C.; SU, W. H.; CHUANG, P. C.; YANG, K. D. A novel radioresistant mechanism of galectin-1 mediated by H-Ras-dependent pathways in cervical cancer cells. **Cell Death Disease**, v. 3, e251, 2012. Disponível em < <https://www.nature.com/cddis/journal/v3/n1/full/cddis2011120a.html> >. Acesso em: 15 abr. 2017.

HUANG, C. S.; TANG, S. J.; CHUNG, L. Y.; YU, C. P.; HO, J. Y.; CHA, T. L.; HSIEH, C. C.; WANG, H. H.; SUN, G. H.; SUN, K. H. GALECTIN-1 upregulates CXCR4 to promote tumor progression and poor outcome in kidney cancer. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 25, n. 7, p. 1486-1495. Disponível em < <http://jasn.asnjournals.org/content/25/7/1486.long> > Acesso em: 10 abr. 2017.

KHALDOYANIDI, S. K.; GLINSKY, V. V.; SIKORA, L.; GLINSKII, A. B.; MOSSINE, V. V.; QUINN, T. P.; GLINSKY, G. V.; SRIRAMARAO, P. MDA-MB-435 Human breast carcinoma cell homo- and heterotypic adhesion under flow conditions is mediated in part by *Thomsen-Friedenreich* antigen-galectin-3 interactions. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 6, p. 4127-4134, 2003. Disponível em < <http://www.jbc.org/content/278/6/4127.long> >. Acesso em: 17 ago. 2015.

KIM, H. J.; DO, I. G.; JEON, H. K.; CHO, Y. J.; PARK, Y. A.; CHOI, J. J.; SUNG, CO.; LEE, Y. Y.; CHOI, C. H.; KIM, T. J.; KIM, B. G.; LEE, J. W.; BAE, D. S. Galectin 1 expression is associated with tumor invasion and metastasis in stage IB to IIA cervical cancer. **Human Pathology**, v. 44, n. 1, p. 62-68, 2013. Disponível em < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0046817712001475> >. Acesso em 12 abr. 2017.

KIM, H. R. C.; LIN, H. M.; BILIRAN, H.; RAZ, A. Cell cycle arrest and inhibition of anoikis by galectin-3 in human breast epithelial cells. **Cancer Research**, v. 59, n. 16, p. 4148-4154, 1999. Disponível em < <http://cancerres.aacrjournals.org/content/59/16/4148.long> >. Acesso em: 15 ago. 2015.

KIM, S. J.; CHOI, I. J.; CHEONG, T. C.; LEE, S. J.; LOTAN, R.; PARK, S. H.; CHUN, K. H. Galectin-3 Increases gastric cancer cell motility by up-regulating fascin-1 expression. **Gastroenterology**, v. 138, n. 3, p. 1035-1045, 2010. Disponível em <

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0016508509017569> > Acesso em: 5 ago. 2015.

KNAPP, J. S.; LOKESHWAR, S. D.; VOGEL, U.; HENNENLOTTER, J.; SCHWENTNER, C.; KRAMER, M. W.; STENZL, A.; MERSEBURGER, A. S. Galectin-3 expression in prostate cancer and benign prostate tissues: correlation with biochemical recurrence. **World Journal of Urology**, v. 31, n. 2, p. 351-358, 2013. Disponível em < <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00345-012-0925-y> >. Acesso em: 28 jul. 2015.

KOPITZ, J.; VON REITZENSTEIN, C.; ANDRÉ, S.; KALTNER, H.; UHL, J.; EHEMANN, V.; CANTZ, M.; GABIUS, H. J. Negative regulation of neuroblastoma cell growth by carbohydrate-dependent surface binding of galectin-1 and functional divergence from galectin-3. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 38, p. 35917–35923, 2001. Disponível em < <http://www.jbc.org/content/276/38/35917.long> >. Acesso em: 15 set. 2015.

LANDMAN, G.; MULLER, H.; NETO, J. F.; MACEIRA, J. M. P.; MARQUES, M.; COSTA, M. B.; ENOKIHARA, M.; SOTTO, M. N.; VALENTE, N. Y.; MICHALANY, N. S. Consenso para o laudo anatomopatológico do melanoma cutâneo. **Boletim Informativo do GBM**, v. 23, p. 1-6, 2003. Disponível em < <http://gbm.org.br/wp-content/uploads/2016/09/Edicao23.pdf> >. Acesso em: 13 abr. 2017.

LEFRANC, F.; MATHIEU, V.; KISS, R. Galectin-1-mediated biochemical controls of melanoma and glioma aggressive behavior. **World Journal of Biological Chemistry**, v. 2, n. 9, p. 193-201, 2011. Disponível em < <http://www.wjgnet.com/1949-8454/full/v2/i9/193.htm> >. Acesso em: 10 abr. 2017.

LI, L.; LI, J.; GAO, J. Functions of Galectin-3 and Its Role in Fibrotic Diseases. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 351, n. 2, p. 336-343, 2014. Disponível em < <http://jpet.aspetjournals.org/content/jpet/351/2/336.full.pdf> >. Acesso em 10 abr. 2017.

LIU, F. T.; PATTERSON, R. J.; WANG, J. L. Intracellular functions of galectin. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1572, n. 2-3, p. 263-273, 2002. Disponível em < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304416502003136> >. Acesso em: 5 set. 2015.

LIU, F. T.; RABINOVICH, G. A. Galectins as modulators of tumor progression. **Nature Reviews Cancer**, v. 5, n. 1, p. 29-41, 2005. Disponível em < <https://www.nature.com/nrc/journal/v5/n1/pdf/nrc1527.pdf> >. Acesso em 4 ago. 2015.

LYU, J.; WU, Y.; LI, C.; WANG, R.; SONG, H.; REN, G.; GUO, W. Mutation scanning of BRAF, NRAS, KIT, and GNAQ/GNA11 in oral mucosal melanoma: a study of 57 cases. **Journal of Oral Pathology and Medicine**, v. 45, n. 4, p. 295-301, 2016. Disponível em < <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jop.12358/epdf> >. Acesso em: 5 abr. 2017.

MACEWEN, E. G. et al. Canine oral melanoma: Comparison of surgery versus surgery plus *Corynebacterium parvum*. **Cancer Investigation**, v. 4, n. 5, p. 397- 402, 1986.

MATHIEU, V.; DE LASSALLE, E. M.; TOELEN, J.; MOHR, T.; BELLAHCÈNE, A.; VAN, GOIETSENOVEN, G.; VERSCHUERE, T.; BOUZIN, C.; DEBYSER, Z.; DE VLEESCHOUWER, S.; VAN GOOL, S.; POIRIER, F.; CASTRONOVO, V.; KISS,

- R.; FERON, O. Galectin-1 in melanoma biology and related neo-angiogenesis processes. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 132, n. 9, p. 2245-2254, 2012. Disponível em < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022202X15358711> >. Acesso em: 20 abr. 2017.
- MCGRAW, J.; GAUDET, A. D.; OSCHIPOK, L. W.; KADOYA, T.; HORIE, H.; STEEVES, J. D.; TETZLAFF, W.; RAMER, M. S. Regulation of neuronal and glial galectin-1 expression by peripheral and central axotomy of rat primary afferent neurons. **Experimental Neurology**, v. 195, n. 1, p. 103-114, 2005. Disponível em < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014488605001408> >. Acesso em: 4 abr. 2017.
- MARINO, D. J.; MATTHIESEN, D. T.; STEFANACCI, J. D.; MOROFF, S. D. Evaluation of dogs with digit masses: 117 cases (1981–1991). **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 207, n. 6, p. 726–728, 1995.
- MATSUDA, Y.; YAMAGIWA, Y.; FUKUSHIMA, K.; UENO, Y.; SHIMOSEGAWA, T. EXPRESSION of galectin-3 involved in prognosis of patients with hepatocellular carcinoma. **Hepatology Research**, v. 38, n. 11, p.1098-1111, 2008. Disponível em < <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1872-034X.2008.00387.x/epdf> >. Acesso em: 28 jul. 2015.
- MUNDAY, J. S.; LÖHR, C. V.; KIUPEL, M. Tumors of the alimentary tract. In: MEUTEN, D. J. **Tumors in domestic Animals**. 5th ed. Wiley Blackwell: Ames, Iowa, 2017, p. 515-523.
- MILLER, W. H.; GRIFIN, I.; CAMPBELL, K. L. **Muller and Kirk's Small Animal Dermatology**. 7th ed. Elsevier Mosby: St. Louis, MO, USA, 2013, p. 774-843.
- MODIANO, J. F.; RITT, M. G.; WOJCIESZYN, J. The Molecular Basis of Canine Melanoma: Pathogenesis and Trends in Diagnosis and Therapy. **Journal of Veterinarian Internal Medicine**, v. 13, n. 3, p. 163-174, 1999. Disponível em < <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1939-1676.1999.tb02173.x/epdf> >. Acesso em: 4 set. 2015.
- MORENO, T. D.; CROCI, D. O.; CERLIANI, J. P.; MARTINEZ-ALLO, V. C.; DERGAN-DYLON, S.; MÉNDEZ-HUERGO, S. P.; STUPIRSKI, J. C.; MAZAL, D.; OSINAGA, E.; TOSCANO, M. A.; SUNDBLAD, V.; RABINOVICH, G. A.; SALATINO, M. Targeting galectin-1 overcomes breast cancer-associated immunosuppression and prevents metastatic disease. **Cancer Research**, v. 73, n. 3, p. 1107-1117, 2012. Disponível em < <http://cancerres.aacrjournals.org/content/73/3/1107.long> >. Acesso em: 15 set. 2015.
- MOURAD-ZEIDAN, A. A.; MELNIKOVA, V. O.; WANG, H.; RAZ, A.; BAR-ELI, M. Expression profiling of galectin-3-depleted melanoma cells reveals its major role in melanoma cell plasticity and vasculogenic mimicry. **The American Journal of Pathology**, v. 173, n. 6, p. 1839-1852, 2008a. Disponível em < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2626394/pdf/JPATH173001839.pdf> >. Acesso em: 20 de abr. 2017.

MOURAD-ZEIDAN, A. A. Role of galectin-3 in melanoma progression. Munich: Faculty of Medicine Ludwig-Maximilians-University, 2008b. Disponível em <https://edoc.ub.uni-muenchen.de/9425/2/Mourad-Zeidan_Alexandra.pdf>. Acesso em: 5 ago. 2016.

MURPHY, S.; HAYES, A. M.; BLACKWOOD, L.; MAGLENNON, G.; PATTINSON, H.; SPARKES, A. H. Oral malignant melanoma – the effect of coarse fractionation radiotherapy alone or with adjuvant carboplatina therapy. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 3, n. 4, p. 222-229, 2005. Disponível em <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1476-5810.2005.00082.x/epdf>>. Acesso em: 5 nov. 2015.

NANGIA, P. M.; HONJO, Y.; SARVIS, R.; AKAHANI, S.; HOGAN, V.; KENNETH, J. PIENTA, [‡] ANDAVRAHAM RAZ ^{*§} Galectin-3 induces endothelial cell morphogenesis and angiogenesis. **American Journal of Pathology**, v. 156, n. 3, p. 899-090, 2000. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1876842/pdf/2092.pdf>>. Acesso em: 12 abr. 2017.

OCHIENG, J.; FURTAK, V.; LUKYANOV, P. Extracellular functions of galectin-3. **Glycoconjugate Journal**, v. 19, n. 7-9, p. 527-535, 2004. Disponível em <<https://link.springer.com/article/10.1023/B:GLYC.0000014082.99675.2f>>. Acesso em: 10 abr. 2017.

OLIVEIRA, J. T.; DE MATOS, A. J.; BARROS, R.; RIBEIRO, C.; CHEN, A.; HESPANHOL, V.; RUTTEMAN, G. R.; GÄRTNER, F. Differential expression of galectina-1 and galectina-3 in canine non-malignant and malignant mammary tissues and in progression to metastases in mammary tumors. **Anticancer Research**, v. 34, n. 5, p. 2211-2222, 2014. Disponível em <<http://ar.iiarjournals.org/content/34/5/2211.long>>. Acesso em: 10 jul. 2015

OTTNOD, J. M.; SMEDLEY, R. C.; WALSHAW, R.; HAUPTMAN, J. G.; KIUPEL, M.; OBRADOVICH, J. E. A retrospective analysis of the efficacy of Oncept vaccine for the adjunct treatment of canine oral malignant melanoma. **Veterinary Comparative Oncology**, v. 11, n. 3, p. 219-229, 2013. Disponível em <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/vco.12057/abstract>>. Acesso em: 18 nov. 2015.

OWEN, L. N. TNM classification of tumours in domestic animals. In: **World Health Organization**, 1980, Genebra, p. 16-20. Disponível em <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/68618/1/VPH_CMO_80.20_eng.pdf>. Acesso em: 24 jan. 2016.

PAZ, A.; HAKLAI, R.; ELAD-SFADI, G.; BALLAN, E.; KLOOG, Y. Galectin-1 binds oncogenic H-Ras to mediate Ras membrane anchorage and cell transformation. **Oncogene**, v. 20, n. 51, p. 7486-7493, 2001. Disponível em <<https://www.nature.com/onc/journal/v20/n51/pdf/1204950a.pdf>>. Acesso em: 12 ago. 2015.

POLLI, C. D.; TOLEDO, K. A.; FRANCO, L. H.; MARIANO, V. S.; OLIVEIRA, L. L.; BERNARDES, E. S.; ROQUE-BARREIRA, M. C.; AND PEREIRA-DA-SILVA, G. Monocyte migration driven by galectin-3 occurs through distinct mechanisms involving selective interactions with the extracellular matrix. **ISRN Inflammation**, v. 2013, p. 1-9, 2013. Disponível em < <https://www.hindawi.com/journals/isrn/2013/259256/> >. Acesso em: 13 abr. de 2017.

PRIETO, V. G.; MOURAD-ZEIDAN, A. A.; MELNIKOVA, V.; JOHNSON, M. M.; LOPEZ, A.; DIWAN, A. H.; LAZAR, A. J.; SHEN, S. S.; ZHANG, P. S.; REED, J. A.; GERSHENWALD, J. E.; RAZ, A.; BAR-ELI, M. Galectin-3 expression is associated with tumor progression and pattern of sun exposure in melanoma. **Clinical Cancer Research**, v. 12, n. 22, p. 6709-6715, 2006. Disponível em < <http://clincancerres.aacrjournals.org/content/12/22/6709.full-text.pdf> >. Acesso em: 24 ago. 2015.

PROULX, D. R.; RUSLANDER, D. M.; DODGE, R. K.; HAUCK, M. L.; WILLIAMS, L. E.; HORN, B.; PRICE, G. S.; THRALL, D. E. A retrospective analysis of 140 dogs with oral melanoma treated with external beam radiation. **Veterinary Radiology and Ultrasonography**, v. 44, n. 3, p. 353-359, 2003. Disponível em < <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1740-8261.2003.tb00468.x/epdf> >. Acesso em: 5 nov. 2015.

RABINOVICH, G. A. Galectin-1 as a potential cancer target. **British Journal of Cancer**, v. 92, n. 7, p. 1188-1192, 2005. Disponível em < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2361964/> >. Acesso em: 10 ago. 2015.

RAMOS-VARA, J. A.; BEISSENHERZ, M. E.; MILLER, M. A.; JOHNSON, G. C.; PACE, L. W.; FARD, A.; KOTTLER, S. J. RETROSPECTIVE Study of 338 Canine Oral Melanomas with Clinical, Histologic, and Immunohistochemical Review of 129 cases. **Veterinary Pathology**, v. 37, n. 6, p. 597-608, 2000. Disponível em < http://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1354/vp.37-6-597?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%3dpubmed >. Acesso em: 20 jul. 2015.

RAMOS-VARA, J. A.; MILLER, M. A. Immunohistochemical identification of canine melanocytic neoplasms with antibodies to melanocytic antigen PNL2 and tyrosinase: comparison with melan A. **Veterinary Pathology**, v. 48, n. 2, p. 443-450, 2011. Disponível em < <http://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/0300985810382095> >. Acesso em: 22 jan. 2016.

RAO, S. P.; WANG, Z.; ZUBERI, R. I.; SIKORA, L.; BAHAE, N. S.; ZURAW, B. L.; LIU, F. T.; SRIRAMARAO, P. Galectin-3 functions as an adhesion molecule to support eosinophil rolling and adhesion under conditions of flow. **The Journal of Immunology**, v. 179, n. 11, p. 7800-7807, 2007. Disponível em < <http://www.jimmunol.org/content/179/11/7800.long> >. Acesso em: 17 abr. de 2017.

RASSNICK, K. M.; RUSLANDER, D. M.; COTTER, S. M.; AL-SARRAF, R.; BRUYETTE, D. S.; GAMBLIN, R. M.; MELEO, K. A.; MOORE, A. S. Use of carboplatin for treatment of dogs with malignant melanoma: 27 cases (1989–2000). **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 218, n. 9, p. 1444-1448, 2001. Disponível em < <http://avmajournals.avma.org/doi/pdf/10.2460/javma.2001.218.1444> >. Acesso em: 10 nov. 2015.

RIBEIRO, C.; SANTOS, M. S.; DE MATOS, A. J.; BARROS, R.; GÄRTNER, F.; RUTTEMAN, G. R.; DE OLIVEIRA, J. T. Serum Galectin-3 Levels in Dogs with Metastatic and Non-metastatic Mammary Tumors. **In Vivo**, v. 30, n. 1, p. 13-16, 2016. Disponível em < <http://iv.iijournals.org/content/30/1/13.long> >. Acesso em: 5 mai. 2016.

RUBINSTEIN, N.; ALVAREZ, M.; ZWIRNER, N. W.; TOSCANO, M. A.; ILARREGUI, J. M.; BRAVO, A.; MORDOH, J.; FAINBOIM, L.; PODHAJECER, O. L.; RABINOVICH, G. A. Targeted inhibition of galectin-1 gene expression in tumor cells results in heightened T cell-mediated rejection: A potential mechanism of tumor-immune privilege. **Cancer Cell**, v. 5, n. 3, p. 241-251, 2004. Disponível em < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1535610804000248> >. Acesso em: 10 set. 2015.

RUVOLLO, P. P. Galectin 3 as a guardian of the tumor microenvironment. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1863, n. 3, p. 427-437, 2016. Disponível em < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167488915002700> >. Acesso em: 8 mar. 2017.

SAFFAR, H.; SANII, S.; HESHMAT, R.; HAGHPANAH, V.; LARIJANI, B.; RAJABIANI, A.; AZIMI, S.; TAVANGAR, S. M. EXPRESSION of galectin-3, nm-23, and cyclooxygenase-2 could potentially discriminate between benign and malignant pheochromocytoma. **American Journal of Clinical Pathology**, v.135, n. 3, p. 454-460, 2011. Disponível em < <https://academic.oup.com/ajcp/article-lookup/doi/10.1309/AJCPI8AJLUZ3CZLN> >. Acesso em: 19 abr. 2017.

SAKAKI, M.; OKA, N.; NAKANISHI, R.; YAMAGUCHI, K.; FUKUMORI, T.; KANAYAMA, H. O. SERUM level of galectin-3 in human bladder cancer. **Journal of Medical Investigation**, v. 55, n. 1-2, p. 127-132, 2008. Disponível em < https://www.jstage.jst.go.jp/article/jmi/55/1,2/55_1,2_127/_article >. Acesso em: 25 abr. 2017.

SAKAKI, M.; FUKUMORI, T.; FUKAWA, T.; ELSAMMAN, E.; SHIIREVNYAMBA, A.; NAKATSUJI, H.; KANAYAMA, H. O. Clinical significance of Galectin-3 in clear cell renal cell carcinoma. **Journal of Medical Investigation**, v. 57, n. 1-2, p. 152-157, 2010. Disponível em < https://www.jstage.jst.go.jp/article/jmi/57/1,2/57_1,2_152/_article >. Acesso em: 25 abr. 2017.

SCHULTHEISS, P. C. Histologic features and clinical outcomes of melanomas of lip, haired skin, and nail bed locations of dogs. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.18, n. 4, p. 422-425, 2006. Disponível em < http://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/104063870601800422?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%3dpubmed >. Acesso em: 20 jul. 2015.

SHOLZEN, T.; GERDES, J. The ki-67 protein: from the known and the unknown. **Journal of Cellular Physiology**, v. 3, n. 3, p. 311-322, 2000. Disponível em < [http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/\(SICI\)1097-4652\(200003\)182:3%3C311::AID-JCP1%3E3.0.CO;2-9/abstract](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/(SICI)1097-4652(200003)182:3%3C311::AID-JCP1%3E3.0.CO;2-9/abstract) >. Acesso em: 10 mar. 2017.

SILVA, A. P.; SILVA, R. G.; COGLIATI, B.; DIAS, A. S. M.; LE BAS, A. E.; HERNANDEZ-BLAZQUEZ, F. J. Bleaching of melanin in the epidermis of South American fur seal and its application on enzyme immunohistochemistry. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 3, p. 267-270, 2011. Disponível em <

[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2011000300014&lng=en&nrm=iso&tlng=en)

[736X2011000300014&lng=en&nrm=iso&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2011000300014&lng=en&nrm=iso&tlng=en)>. Acesso em: 2 fev. 2016.

SILVEIRA, L. M. G.; BRUNNER, C. H. M.; CUNHA, F. M.; FUTEMA, F.; CALDERARO, F. F.; KOZLOWSKI, D. Utilização de eletroquimioterapia em neoplasias de origem epitelial ou mesenquimal localizadas em pele ou mucosas de cães. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 47, n. 1, p. 55-66, 2010. Disponível em <

<http://www.revistas.usp.br/bjvras/article/view/26849/28632>>. Acesso em nov. 2016.

SIMONE, G.; MALARA, N.; TRUNZO, V.; RENNE, M.; PEROZZIELLO, G.; FABRIZIO, E.; MANZ, A. Galectin-3 coats the membrane of breast cells and makes a signature of tumours. **Molecular Biosystems**, v. 10, n. 2, p. 258-265, 2014. Disponível em <

<https://arxiv.org/ftp/arxiv/papers/1511/1511.02092.pdf>>. Acesso em 20 abr. 2017.

SMEDLEY, R. C.; LAMOUREUX, J.; SLEDGE, D. G.; KIUPEL, M. Immunohistochemical diagnosis of canine oral amelanotic melanocytic Neoplasms. **Veterinary Pathology**, v. 48, n. 1, p. 32-40, 2011a. Disponível em <

<http://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/0300985810387447>>. Acesso em: 20 jan. 2016.

SMEDLEY, R. C.; SPANGLER, W. L.; ESPLIN, D. G.; KITCHELL, B. E.; BERGMAN, P. J.; HO, H. Y.; BERGIN, I. L.; KIUPEL, M. Prognostic markers for canine melanocytic neoplasms: a comparative review of the literature and goals for future investigation.

Veterinary Pathology, v. 48, n. 1, p. 54-72, 2011b. Disponível em <

<http://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/0300985810390717>>. Acesso em: 10 out. 2016.

SMITH, S. H.; GOLDSCHMIDT, M. H.; MACMANUS, P.M. A comparative review of melanocytic neoplasms. **Veterinary Pathology**, v. 39, n. 6, p. 651-678, 2002. Disponível em <

http://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1354/vp.39-6-651?url_ver=Z39.88-2003&rft_id=ori:rid:crossref.org&rft_dat=cr_pub%3dpubmed>. Acesso em: 2 ago. 2015.

SONG, S.; JI, B.; RAMACHANDRAN, V.; WANG, H.; HAFLEY, M.; LOGSDON, C.; BRESALIER, R. S. Overexpressed galectin-3 in pancreatic cancer induces cell proliferation and invasion by binding Ras and activating Ras signaling. **PLoS One**, v. 7, n. 8, p. e42699, 2012. Disponível em <

<http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0042699>>. Acesso em: 19 abr. 2017.

SONG, L.; TANG, J. W.; OWUSU, L.; SUN, M.Z.; WU, J.; ZHANG, J. Galectin-3 in cancer. **Clinica Chimica Acta**, v. 431, p. 185-191. 2014. Disponível em <

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009898114000369>>. Acesso em: 15 set. 2015.

SPLANGER, W.L.; KASS, P. H. The histologic and epidemiologic bases for prognostic considerations in canine melanocytic neoplasia. **Veterinary Pathology**, v. 43, n. 2, p.136-149, 2006. Disponível em < <http://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1354/vp.43-2->

136?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%3dpubmed >. Acesso em: 2 ago. 2015.

STREETLY, M. J.; MAHARAJ, L.; JOEL, S.; SCHEY, S. A.; GRIBBEN, J. G.; COTTER, F. E. GSC-100, a novel galectin-3 antagonist, modulates MCL-1, NOXA, and cell cycle to induce myeloma cell death. **Blood**, v. 115, n. 19, p. 3939-3948, 2010. Disponível em < <http://www.bloodjournal.org/content/115/19/3939.long?sso-checked=true>>. Acesso em: 22 abr. 2017.

TAMURA, K.; YAMADA, M.; ISOTANI, M.; ARAI, H.; YAGIHARA, H.; ONO, K.; WASHIZU, T.; BONKOBARA, M. Induction of dendritic cell-mediated immune responses against canine malignant melanoma cells. **The Veterinary Journal**, v. 175, n. 1, p. 126–129, 2008. Disponível em < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1090023306002425>>. Acesso em: 20 ago. 2015

TANG, W. H.; SHRESTHA, K.; SHAO, Z.; BOROWSKI, A. G.; TROUGHTON, R. W.; THOMAS, J. D.; KLEIN, A. L. Usefulness of plasma galectin-3 levels in systolic heart failure to predict renal insufficiency and survival. **The American Journal of Cardiology**, v. 108, n. 3, p. 385-390, 2011. Disponível em <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0002914911013518>>. Acesso em: 14 out. 2015.

TEIXEIRA, T. F.; SILVA, T. C.; COGLIATI, B.; NAGAMINE, M. K.; DAGLI, M. L. Z. Retrospective study of melanocytic neoplasms in dogs and cats. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, v. 3, n. 2, p. 100-104, 2010. Disponível em < http://www.producao.usp.br/bitstream/handle/BDPI/2210/art_DAGLI_Retrospective_study_of_melanocytic_neoplasms_2010.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 5 ago. 2015.

TINARI, N.; KUWABARA, I.; HUFLEJT, M. E.; SHEN, P. F.; IACOBELLI, S.; LIU, F. T. Glycoprotein 90K/MAC-2BP interacts with galectin-1 and mediates galectin-1-induced cell aggregation. *International Journal of Cancer*, v. 91, n. 2, p. 167–172, 2001. Disponível em < [http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1097-0215\(200002\)9999:9999%3C::AID-IJC1022%3E3.0.CO;2-Z/epdf](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1097-0215(200002)9999:9999%3C::AID-IJC1022%3E3.0.CO;2-Z/epdf)>. Acesso em: 29 ago. 2015.

TRABER, P. G.; ZOMER, E. Therapy of experimental NASH and fibrosis with galectin inhibitors. **PLoS One**, v. 8, n. 12, e83481, 2013. Disponível em < <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0083481>>. Acesso em: 23 de abr. 2017.

TRONNIER, M.; SEMKOVA, K.; WOLLINA, U.; TCHERNEV, G. Malignant melanoma: epidemiologic aspects, diagnostic and therapeutic approach. **Wien Med Wochenschr**, v. 163, n. 15-16, p. 354–358, 2013. Disponível em < <https://link.springer-com.ez67.periodicos.capes.gov.br/article/10.1007/s10354-013-0207-3>>. Acesso em: 2 abr. 2017.

TUOHY, J. L.; SELMIC, L. E.; WORLEY, D. R.; EHRHART, N. P.; WITHROW, S. J. Outcome following curative-intent surgery for oral melanoma in dogs: 70 cases (1998–2011). **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 245, n. 11, p. 1266–1273, 2014.

Disponível em < <http://avmajournals.avma.org/doi/pdf/10.2460/javma.245.11.1266> >. Acesso em: 9 nov. 2015.

VAS, V.; FAJKA-BOJA, R.; ION, G.; DUDICS, V.; MONOSTORI, E.; UHER, F. Biphasic effect of recombinant galectin-1 on the growth and death of early hematopoietic cells. **Stem Cells**, v.23, n. 2, p. 279–287, 2005. Disponível em < <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1634/stemcells.2004-0084/epdf> >. Acesso em: 4 abr. 2017.

VEREECKEN, P.; DEBRAY, C.; PETEIN, M.; AWADA, A.; LALMAND, M. L.; LAPORTE, M.; VAN DEN HEULE, B.; VERHEST, A.; POCHET, R.; HEENEN, M. Expression of galectin-3 in primary and metastatic melanoma: immunohistochemical studies on human lesions and nude mice xenograft tumors. **Archives of Dermatological Research**, v. 296, n. 8, p. 353-358, 2005a. Disponível em < <https://link.springer.com/article/10.1007/s00403-004-0536-6> >. Acesso em: 20 abr. 2017.

VEREECKEN, P.; ZOUAOU BOUDJELTIA, K.; DEBRAY, C.; AWADA, A.; LEGSSYER, I.; SALES, F.; PETEIN, M.; VANHAEVERBEEK, M.; GHANEM, G.; HEENEN, M. High serum galectin-3 in advanced melanoma: preliminary results. **Clinical and Experimental Dermatology**, v. 31, n. 1, p. 105-109, 2005b. Disponível em < <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2230.2005.01992.x/abstract> >. Acesso em: 6 ago. 2015.

VERSCHUERE, T.; TOELEN, J.; MAES, W.; POIRIER, F.; BOON, L.; TOUSSEYN, T.; MATHIVET, T.; GERHARDT, H.; MATHIEU, V.; KISS, R.; LEFRANC, F.; VAN GOOL, S. W.; DE VLEESCHOUWER, S. Glioma-derived galectin-1 regulates innate and adaptive antitumor immunity. **International Journal of Cancer**, v. 134, n. 4, p. 873-884, 2014. Disponível em < <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ijc.28426/abstract> >. Acesso em: 10 abr. 2017.

WANG, Y.; NANGIA-MAKKER, P.; TAIT, L.; BALAN, V.; HOGAN, V.; PIENTA, K. J.; RAZ, A. Regulation of prostate cancer progression by galectin-3. **The American Journal of Pathology**, v. 174, n. 4, p. 1515-1523, 2009. Disponível em < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0002944010610073> >. Acesso em: 22 abr. 2017.

WOLFF, M.; WANG, X.; GABIUS, H. J.; STROWITZKI, T. Galectin fingerprinting in human endometrium and decidua during the menstrual cycle and in early gestation. **Molecular Human Reproduction**, v. 11, p. 189-194, n. 3, 2005. Disponível em < <https://academic.oup.com/molehr/article-lookup/doi/10.1093/molehr/gah144> >. Acesso em: 2 abr. 2017.

WILLIAMS, L. E.; PACKER, R. A. Association between lymph node size and metastasis in dogs with oral malignant melanoma: 100 cases (1987–2001). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 222, n. 9, p. 1234-1236, 2003. Disponível em < <http://avmajournals.avma.org/doi/pdf/10.2460/javma.2003.222.1234> >. Acesso em: 8 nov. 2015.

WU, K. L.; HUANG, E. Y.; JHU, E. W.; HUANG, Y. H.; SU, W. H.; CHUANG, P. C.; YANG, K. D. Overexpression of galectin-3 enhances migration of colon cancer cells

related to activation of the K-Ras–Raf–Erk1/2 pathway. **Journal Gastroenterology**, v. 48, n. 3, p. 350-359, 2013. Disponível em < <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00535-012-0663-3> >. Acesso em: 5 ago. 2015

WOO, H. J.; JOO, H. G.; SONG, S. W.; SOHN, Y. S.; CHAE, C. Immunohistochemical detection of galectin-3 in canine gastric carcinomas. **Journal of Comparative Pathology**, v. 124, n. 2-3, p. 216-218, 2001. Disponível em < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021997500904420?via%3Dihub> >. Acesso em: 10 ago. 2015.

XIE, L.; NI, W. K.; CHEN, X. D.; XIAO, M. B.; CHEN, B. Y.; HE, S.; LU, C. H.; LI, X. Y.; JIANG, F.; NI, R. Z. The expressions and clinical significances of tissue and serum galectin-3 in pancreatic carcinoma. **Journal Cancer Research Clinical Oncology**, v. 138, n. 6, p. 1035- 1043, 2012. Disponível em < <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00432-012-1178-2> >. Acesso em: 1 ago. 2015

YAMAOKA, K.; MISHIMA, K.; NAGASHIMA, Y.; ASAI, A.; SANAI, Y.; KIRINO, T. Expression of galectin-1 mRNA correlates with the malignant potential of human gliomas and expression of antisense galectin-1 inhibits the growth of glioma cells. **Journal of Neuroscience Research**, v. 59, n. 6, p. 722–730, 2000. Disponível em <>. Acesso em: 15 set. 2015.

YU, L. G.; ANDREWS, N.; ZHAO, Q.; MCKEAN, D.; WILLIAMS, J. F.; CONNOR, L. J.; GERASIMENKO, O. V.; HILKENS, J.; HIRABAYASHI, J.; KASAI, K.; RHODES, J. M. Galectin-3 interaction with Thomsen-Friedenreich disaccharide on cancer-associated muc1 causes increased cancer cell endothelial adhesion. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 282, n. 1, p. 773-781, 2007. Disponível em < <http://www.jbc.org/content/282/1/773.long> >. Acesso em: 15 ago. 2015.

ZHANG, P.; ZHANG, P.; SHI, B.; ZHOU, M.; JIANG, H.; ZHANG, H.; PAN, X.; GAO, H.; SUN, H.; LI, Z. Galectin-1 overexpression promotes progression and chemoresistance to cisplatin in epithelial ovarian cancer. **Cell Death and Disease**, v. 5, p. 1-8, 2014. Disponível em <<https://www.nature.com/cddis/journal/v5/n1/pdf/cddis2013526a.pdf>>. Acesso em: 2 ago. 2015.