KÍVIA LINHARES FERRAZZO

**EXPRESSÃO IMUNOISTOQUÍMICA DA PROTEÍNA GALECTINA-3
EM CARCINOMA ADENÓIDE CÍSTICO E ADENOCARCINOMA
POLIMORFO DE BAIXO GRAU DE MALIGNIDADE DE GLÂNDULAS
SALIVARES**

São Paulo
2006

Kívia Linhares Ferrazzo

**Expressão imunoistoquímica da proteína galectina-3 em carcinoma
adenóide cístico e adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de
malignidade de glândulas salivares**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, para obter o título de Mestre, pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia.

Área de Concentração: Patologia Bucal

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Suzana Cantanhede Orsini Machado de Sousa

São Paulo
2006

FOLHA DE APROVAÇÃO

Ferrazzo KL. Expressão imunoistoquímica da proteína galectina-3 em carcinoma adenóide cístico e adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade de glândulas salivares [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2006.

São Paulo, ____ / ____ / ____

Banca Examinadora

1) Prof (a). Dr (a).

Titulação:_____

Julgamento:_____ Assinatura:_____

2) Prof (a). Dr (a).

Titulação:_____

Julgamento:_____ Assinatura:_____

3) Prof (a). Dr (a).

Titulação:_____

Julgamento:_____ Assinatura:_____

DEDICATÓRIA

Ao meu marido Vilmar,

Exemplo de profissionalismo e competência que prima pela busca do conhecimento. Obrigada pelo amor, apoio e incentivo que me permitiram trilhar esse caminho. Sei o quanto você se sobrecarregou para que eu pudesse obter essa conquista e serei eternamente grata por isso. Amo você.

À minha querida filha Bruna,

Obrigada por cooperar e entender a importância de estarmos aqui, tão longe de casa e, apesar da pouca idade, superar com tanta maturidade os momentos difíceis. Você é muito especial.

Aos meus amigos e minha família, especialmente **Joaquim e Daisy** que sempre estiveram presentes e tornaram nossa vida mais agradável em São Paulo.

A vocês dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

À Professora Dra. **Suzana Cantanhede Orsini Machado de Sousa**, minha orientadora, por todo o conhecimento a mim transmitido, pela disponibilidade sempre que precisei e pela oportunidade de estar cursando esta Pós-Graduação em tão conceituada instituição. Sua inteligência e competência são admiráveis.

À Professora Dra. **Marilia Trierveiler Martins** que me recebeu com muito carinho e atenção quando cheguei para cursar a Pós-Graduação e colaborou de maneira significativa na interpretação dos resultados deste trabalho.

Ao Professor Dr. **Fábio Daumas Nunes** pela paciência e disponibilidade e por todos os ensinamentos transmitidos no Laboratório de Biologia Molecular.

À Profa Dra. **Andrea Mantesso** por estar sempre disposta a cooperar todas as vezes que solicitei sua ajuda, dando sugestões muito valiosas na obtenção das imagens para este trabalho.

Aos Professores da Disciplina de Patologia Bucal da FOUSP, Dr. **Décio dos Santos Pinto Jr.**, Dra. **Karem Ortega** e Dra. **Marina Helena Cury Gallottini de Magalhães** pelos ensinamentos concedidos, paciência e apoio prestados a mim e a todos os alunos.

Ao amigo **Sérgio de Melo Alves Jr.**, a primeira pessoa que me recebeu quando cheguei para cursar o Mestrado da FOU SP, e desde então tem se mostrado dedicado e atencioso, ajudando-me em vários momentos do curso.

Às amigas **Marina de Deus Moura** e **Yonara Freire** pela amizade, companheirismo e sobretudo pela confiança que tiveram em mim no momento em que mais precisei.

A todos os **colegas do curso de Pós-Graduação** que, compartilhando experiências e informações, foram de grande importância durante todo o curso.

À **Edna Toddai** e **Elisa Santos** não só pelo imprescindível auxílio técnico no Laboratório de Imunoistoquímica e de Patologia Cirúrgica, mas também pela amizade e pelos bons momentos.

Às funcionárias da Disciplina de Patologia Bucal **Bia, Nair, Néia, Patrícia** e **Zilda** pela atenção, gentileza e colaboração sempre presentes.

Às bibliotecárias **Glauci** e **Vânia** pela valiosa ajuda na formatação deste trabalho.

Ao Dr. **Carlos Renato de Almeida Melo**, médico patologista e eterno professor da Universidade Federal de Santa Maria, RS, pela fundamental ajuda durante o processo de otimização das reações de imunoistoquímica e por me fornecer os controles positivos para as reações.

À **CAPES** pelo auxílio financeiro com a bolsa de Mestrado.

Ferrazzo KL. Expressão imunoistoquímica da proteína galectina-3 em carcinoma adenóide cístico e adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade de glândulas salivares [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2006.

RESUMO

O carcinoma adenóide cístico e o adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade são neoplasias malignas das glândulas salivares que apresentam semelhança nos padrões histológicos, porém com comportamento clínico, tratamento e prognóstico completamente diferentes. A galectina-3 é uma proteína multifuncional da família das lectinas que está envolvida em vários fenômenos biológicos como crescimento celular, adesão celular, diferenciação celular e apoptose. Além disso, tem sido estudada como um marcador de invasão tumoral e metástase. O objetivo deste trabalho foi estudar qualitativamente a expressão imunoistoquímica da galectina-3 em 14 casos de carcinoma adenóide cístico (2 do subtipo tubular, 4 do subtipo sólido e 8 do subtipo cribriforme) e em 12 casos de adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade com padrões histológicos variados, incluindo os padrões lobular, tubular e cribriforme. Espécimes de glândula salivar normal foram também incluídos na amostra. Nas glândulas salivares normais houve forte marcação da galectina-3 no núcleo e no citoplasma das células luminiais dos ductos. Nos carcinomas adenóides císticos houve uma maior marcação da galectina-3 no subtipo tubular, localizada apenas nas células luminiais das estruturas tubulares. Nos subtipos sólido e cribriforme a marcação foi menor, mas sempre localizada nas células que circundavam espaços luminiais. Em todos os casos de

carcinomas adenóides císticos estudados a marcação foi predominantemente nuclear. Nos adenocarcinomas polimorfos de baixo grau de malignidade a marcação da galectina-3 foi predominantemente citoplasmática em praticamente todas as células neoplásicas. Diante disso podemos sugerir que, nas neoplasias estudadas, a expressão da galectina-3 parece estar mais relacionada à diferenciação celular do que à progressão tumoral e ao prognóstico.

Palavras-Chave: Galectina-3 – Carcinoma adenóide cístico – Adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade

Ferrazzo KL. Galectin-3 immunoprofile in adenoid cystic carcinoma and polymorphous low-grade adenocarcinoma of salivary glands [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2006.

ABSTRACT

Adenoid cystic carcinoma and polymorphous low-grade adenocarcinoma are malignant neoplasms of salivary glands which are similar in histologic patterns but very different in clinical behavior, treatment and prognosis. Galectin-3 is a multifunctional protein of a growing family of beta-galactoside-binding animal lectins which is implicated in a variety of biological events such as tumor cell adhesion, proliferation, differentiation and angiogenesis. This protein was found to be implicated in cellular transformation, and a correlation between its expression and cancer progression and metastasis has been described. The aim of this study was to determine the galectin-3 immunoprofile in 14 cases of adenoid cystic carcinoma (2 cases of tubular subtype, 4 cases of solid subtype and 8 cases of cribriform subtype) and in 12 cases of polymorphous low-grade adenocarcinoma with different histologic patterns, included lobular, tubular and cribriform. Moreover, slides of normal salivary glands were included. In normal salivary glands there were strong nuclei and cytoplasmic staining for galectin-3 in ductal luminal cells. Adenoid cystic carcinomas showed specific staining in luminal cells mainly in the nuclei. In the tubular subtype of adenoid cystic carcinoma galectin-3 was strong in the luminal cells of the ductiform structures. The cribriform and solid subtypes showed a few positive cells for galectin-3 only in the luminal cells of small ducts presenting in the cribriform structures and in solid nests respectively. In the cases of polymorphous low-grade adenocarcinoma,

independent of the histologic architecture, all tumor cells revealed a positive cytoplasmic reaction with the galectin-3 antibody. Galectin-3 expression seems to be related to cell differentiation more than tumor progression and prognosis in the neoplasms studied.

Keywords: Galectin-3 - Adenoid cystic carcinoma - Polymorphous low-grade adenocarcinoma

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 5.1- Glândula Salivar Normal.....	39
Figura 5.2- Carcinoma Adenóide Cístico, subtipo tubular.....	39
Figura 5.3- Carcinoma Adenóide Cístico, subtipo cribriforme.....	39
Figura 5.4- Carcinoma Adenóide Cístico, subtipo sólido.....	40
Figura 5.5- Adenocarcinoma Polimorfo de Baixo Grau de Malignidade – aspectos histopatológicos em Hematoxilina e Eosina.....	41
Figura 5.6- Adenocarcinoma Polimorfo de Baixo Grau de Malignidade – Imunoistoquímica.....	42
Figura 5.7- Adenocarcinoma Polimorfo de Baixo Grau de Malignidade – Áreas sólidas. Imunoistoquímica.....	43

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

9C4	clone do anticorpo contra a galectina-3
APBG	adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade
Bcl-2	proteína supressora da apoptose
CA	Califórnia
CAC	carcinoma adenóide cístico
C-kit	protooncogene
Co	“company”
DAB	diaminobenzidina
EDTA	“Etylenediamine-Tetraacetic Acid”
Et al	e colaboradores
Fem	Feminino
FOUSP	Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo
kDa	“kilodaltons”
Masc	Masculino
mM	milimolar
MO	“Missouri”
NI	não informado
NJ	“New Jersey”
pH	potencial hidrogeniônico
RDI	“Research Diagnostics Inc”
Ser-6	aminoácido serina resíduo 6
SP	São Paulo

TBST	“Tris-Buffered Saline Tween-20”
TRIS	“Tris-Hydroximetil-Aminometano”
USA	“United States of América”

LISTA DE SÍMBOLOS

%	por cento
°C	graus Celsius
β	beta – segunda letra do alfabeto grego
μm	micrômetro
x	vezes

SUMÁRIO

	p.
1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	17
2.1 Carcinoma adenóide cístico.....	17
2.2 Adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade.....	21
2.3 Galectina 3.....	24
3 PROPOSIÇÃO.....	29
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	30
4.1 Casuística e análise morfológica.....	30
4.2 Técnica imunoistoquímica.....	31
5 RESULTADOS.....	33
5.1 Glândula salivar normal.....	33
5.2 Carcinoma adenóide cístico.....	34
5.3 Adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade.....	37
6 DISCUSSÃO.....	44
7 CONCLUSÃO.....	52
REFERÊNCIAS.....	53
ANEXOS.....	59

1 INTRODUÇÃO

O carcinoma adenóide cístico representa uma neoplasia maligna originada a partir das glândulas salivares menores ou maiores, bem como pode estar localizado em outras regiões. Esta lesão é caracterizada por um crescimento lento e apresenta grande potencial de invasão dos tecidos adjacentes, além de grande propensão a recidivas e metástases. Dentre os três subtipos histológicos, o padrão sólido é reconhecidamente o de pior prognóstico.

O carcinoma adenóide cístico está entre as duas neoplasias malignas mais freqüentes acometendo as glândulas salivares, sendo a maior parte originada a partir de glândulas salivares menores. A faixa etária de maior incidência encontra-se entre a quinta e a sétima décadas de vida, não apresentando uma predileção significativa por sexo.

Dentre todas as neoplasias malignas glandulares, o carcinoma adenóide cístico, sem sombra de dúvida, merece atenção distinta em função de seu aspecto microscópico, curso clínico e prognóstico.

O adenocarcinoma polimorfo de baixo grau é um tipo de tumor maligno que acomete principalmente as glândulas salivares menores, é caracterizado por um crescimento lento e raramente está associado a metástases. Este tumor apresenta aspectos histológicos semelhantes ao carcinoma adenóide cístico o que muitas vezes pode dificultar o diagnóstico. Apesar da semelhança nos padrões histológicos entre essas duas neoplasias, o comportamento clínico, tratamento e prognóstico são completamente diferentes.

As galectinas são proteínas da família das lectinas e estão envolvidas em diversos processos biológicos, tais como controle do ciclo celular, resposta imune, apoptose e em processos neoplásicos. A galectina-3 é um dos membros mais estudados dessa família de galectinas e está envolvida em vários fenômenos biológicos como crescimento celular, adesão celular, diferenciação celular e apoptose. Esta proteína tem sido indicada como um potencial marcador de invasão tumoral e metástase devido ao seu envolvimento na angiogênese, interação célula-matriz extracelular e disseminação hematogênica das lesões tumorais.

Neste trabalho nos propusemos a traçar o perfil imunoistoquímico da proteína galectina-3 para o carcinoma adenóide cístico com seus subtipos histológicos, comparando-o ao adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Carcinoma adenóide cístico

As neoplasias de glândulas salivares são lesões raras e perfazem cerca de 6,0% dos tumores da região da cabeça e pescoço e 0,3% de todas as malignidades (BARNES et al., 2005). Considerando a ampla variedade de comportamentos biológicos e tipos histológicos que estes tumores apresentam, tornando mais difícil seu diagnóstico e tratamento, a abordagem deste tema é de grande importância.

Dentre todas as malignidades que afetam as glândulas salivares, o carcinoma adenóide cístico é considerado uma das neoplasias mais comuns (HYAM; VENESS; MORGAN, 2004; BOKO et al., 2004). Não há concordância na literatura com relação à localização preferencial do carcinoma adenóide cístico. Este tumor pode ocorrer em qualquer glândula salivar mas alguns estudos têm mostrado que ele tem uma predileção pelas glândulas salivares menores e glândula submandibular, sendo raramente encontrado na glândula parótida (KOLUDE; LAWOYIN; AKANG, 2001; QURESHI et al., 2005). Por outro lado, Khan et al. (2001) e Haddad et al. (1995) apontam as glândulas salivares maiores como a localização mais freqüente.

O carcinoma adenóide cístico é mais freqüente em adultos entre a quinta e sexta décadas de vida (GARDEN et al., 1995; HADDAD et al., 1995; KHAN et al., 2001) e observa-se uma discreta predileção pelo sexo feminino (RAUX-RAKOTOMALALA et al., 2003; CHUMMUN et al., 2001).

Não existem características clínicas específicas capazes de determinar o diagnóstico do carcinoma adenóide cístico. O tumor geralmente se apresenta como uma massa de crescimento lento e persistente e os sinais e sintomas irão depender, entre outros fatores, da sua extensão e localização anatômica. Na região das glândulas salivares maiores, desenvolve-se como um aumento de volume nas regiões pré-auricular ou submandibular. O modo de expansão neste tumor é característico, com uma propensão à invasão perineural responsável por dor e desconforto nos pacientes em aproximadamente 50% dos casos (ELLIS; AUCLAIR, 1996).

A tendência do carcinoma adenóide cístico de invadir o osso adjacente e se espalhar pela base do crânio é a maior causa de morte nesses tumores. Metástases tardias e recorrências locais são freqüentes (GARDEN et al., 1995; SPIERS et al., 1996), embora alguns estudos mostrem que o carcinoma adenóide cístico tem um potencial para desenvolver metástases à distância em fases bem precoces do desenvolvimento do tumor, independente de recorrências locais (YASUMATSU et al., 2004; RAPIDIS et al., 2005).

Existem três padrões histológicos diferentes para essa neoplasia: cribriforme, tubular e sólido (YAMAMOTO et al., 1998), entretanto, as células tumorais que a compõem são principalmente de dois tipos: células luminais e células mioepiteliais (BARNES et al., 2005; FURUSE et al., 2005).

O carcinoma adenóide cístico típico apresenta um padrão cribriforme com ninhos de células epiteliais arranjadas concetricamente formando numerosos espaços cilíndricos dando um aspecto de “queijo suíço”. Estes espaços são na sua maioria pseudocistos que apresentam no seu interior proteoglicanas e material semelhante à membrana basal. As células que envolvem estes pseudocistos são

células mioepiteliais de núcleo basofílico ovóide e citoplasma escasso. Os espaços ductais são preenchidos por material mucinoso eosinofílico e cercados por células cuboidais “duct-like” apresentando citoplasma mais volumoso e eosinofílico. Figuras de mitose são dificilmente encontradas (FIGUEIREDO; SOUSA; ARAÚJO, 1997; BARNES et al., 2005).

No padrão tubular as células são idênticas àquelas do tipo cribriforme, contudo diferem no arranjo. Este subtipo é formado por estruturas ductiformes ou tubulares envoltas por um estroma hialino. Os espaços tubulares são cercados por células do tipo epitelial luminal, que por sua vez são cercadas por uma camada periférica de células mioepiteliais (FIGUEIREDO; SOUSA; ARAÚJO, 1997; BARNES et al., 2005).

O padrão sólido apresenta células formando lençóis ou ninhos, de tamanhos ou formatos variados e, ocasionalmente, áreas de necrose podem ser vistas dentro de ninhos sólidos. As células tumorais são pequenas com núcleo hipercromático denso, cuja morfologia varia de cuboidal a basalóide (FIGUEIREDO; SOUSA; ARAÚJO, 1997; BARNES et al., 2005). Um pior prognóstico tem sido associado com este subtipo histológico (KHAN et al., 2001).

Apesar de existirem esses três padrões distintos constituindo subtipos histológicos diferentes, a presença simultânea de mais de um padrão histológico em um único tumor pode ocorrer, e nesse caso a classificação deve ser feita baseando-se no padrão predominante; (TOMICH, 1991; ELLIS; AUCLAIR, 1996).

Araújo, Carvalho e Araújo (1994) e Araújo e Sousa (1996) estudaram as áreas cribriformes do carcinoma adenóide cístico e perceberam que as células luminais dessa lesão são bem definidas pela expressão das citoqueratinas 7, 8, 14 e 19 enquanto que as demais células são do tipo mioepitelial com ausência de

marcação para as citoqueratinas, porém mostrando positividade de expressão para a vimentina e actina músculo-específica.

Muitos estudos têm sido feitos na tentativa de se determinar fatores prognósticos para o carcinoma adenóide cístico. Alguns desses estudos se baseiam em parâmetros clínicos onde é levada em consideração a localização de ocorrência do tumor. Alguns autores relatam que os tumores localizados em glândulas salivares menores da cavidade bucal, nasal e seios paranasais têm uma evolução pior quando comparados àqueles de glândulas salivares maiores (KHAN et al., 2001).

Outro parâmetro utilizado para tentar determinar o prognóstico do carcinoma adenóide cístico é o padrão morfológico, onde se acredita que o subtipo sólido é o mais agressivo e está relacionado a um pior prognóstico, seguido dos padrões cribriforme e tubular (YAMAMOTO et al., 1998). Ainda com base no aspecto morfológico, a presença de invasão perineural tem sido considerada como um possível fator de prognóstico desfavorável para essa doença (GARDEN et al., 1995).

Nenhum desses fatores prognósticos descritos entretanto, são inteiramente confiáveis e muitos questionamentos existem com relação à sua eficácia. Na busca de fatores prognósticos mais seguros, alguns pesquisadores têm estudado a possível existência de marcadores imunoistoquímicos que possam esclarecer a origem e mecanismos de desenvolvimento desses tumores.

2.2 Adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade

O adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade é o segundo tipo mais comum de tumor que acomete as glândulas salivares ocorrendo quase que exclusivamente nas glândulas salivares menores (FREEDMAN; LUMERMAN, 1983). Na cavidade bucal aproximadamente 60% dos casos envolvem o palato duro, porém a lesão pode ocorrer com menor frequência em outras localizações, como região retromolar, lábio superior, base da língua, glândulas salivares maiores, nasofaringe e cavidade nasal (GNEPP; CHEN; WARREN, 1988; WALDRON; EL-MOFTY; GNEPP, 1988). Esse tumor é mais comum em pacientes idosos, com um pico de prevalência entre a quinta e a sétima décadas da vida, e tem predileção pelo sexo feminino em uma proporção de 2:1 (EVANS; LUNA, 2000).

O nome descritivo desse tumor se refere ao seu crescimento lento e indolente e à variação no seu aspecto histológico. Histopatologicamente, o adenocarcinoma polimorfo de baixo grau é caracterizado por uniformidade citológica e diversidade histológica. As células tumorais variam em tamanho de pequenas a médias, são palidamente coradas, apresentam núcleos ovóides e às vezes nucléolos. A presença de mitoses é incomum e necrose não é um achado típico. O interessante dessa neoplasia é a variedade de configurações morfológicas que pode haver de um tumor para outro, ou mesmo dentro de um mesmo tumor. Os principais padrões histológicos que podem ser encontrados são: lobular ou sólido, papilar, cribriforme (lembrando o carcinoma adenóide cístico), trabecular e tubular com estruturas ductiformes circundadas por uma única camada de células cuboidais. A invasão perineural também é um achado freqüente nessas lesões (BARNES et al., 2005).

Araújo e Sousa (1996) examinaram a expressão de diferentes queratinas em vários tumores de glândulas salivares. Foram utilizadas as citoqueratinas 7, 8, 10, 13, 14, 18 e 19. Praticamente todas as células no adenocarcinoma polimorfo de baixo grau apresentaram marcação nuclear positiva para as citoqueratinas 8 e 18. O subtipo tubular do carcinoma adenóide cístico marcou positivamente todas as citoqueratinas, exceto as citoqueratinas 10 e 13, sendo que nas citoqueratinas 7, 8 e 18 a marcação foi discreta e as células externas das estruturas ductiformes não marcaram. No tipo cribriforme do carcinoma adenóide cístico, houve marcação das células luminais para as citoqueratinas 7, 8, 14, 18 e 19. As células que circundavam os pseudocistos e as células externas das estruturas cribriformes não apresentaram marcação para as citoqueratinas.

Com o objetivo de caracterizar o componente celular do adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de glândulas salivares, um estudo morfológico e imunoistoquímico de 30 casos de adenocarcinoma polimorfo de baixo grau foi realizado utilizando as citoqueratinas 7, 8, 10, 13, 14, 18 e 19, vimentina e actina músculo-específica. A maioria das células tumorais foi positiva para vimentina e para as citoqueratinas 8, 14 e 18, mas foi negativa para a actina músculo-específica. Dessa forma os autores concluíram que o adenocarcinoma polimorfo de baixo grau deriva das células da junção ácino - ducto intercalar e não das células mioepiteliais (ARAÚJO et al., 1999).

Araújo et al. (2001) compararam as áreas cribriformes do adenocarcinoma polimorfo de baixo grau e do carcinoma adenóide cístico e concluíram que embora elas sejam similares, não são idênticas e a diferença está na composição celular de cada uma dessas lesões. Segundo os autores acima e Loducca et al. (2003), essas

lesões podem ser diferenciadas pelas proteínas do citoesqueleto, pelas integrinas ou por ambas.

Vários outros estudos imunoistoquímicos já foram feitos na tentativa de se descobrir marcadores eficientes para diferenciar o adenocarcinoma polimorfo de baixo grau do carcinoma adenóide cístico (LODUCCA et al., 2000). Entretanto, o único marcador que apresentou uma clara diferença no padrão de marcação entre esses dois tumores foi a vimentina que é negativa nas células luminais no carcinoma adenóide cístico e positiva em praticamente todas as células neoplásicas do adenocarcinoma polimorfo de baixo grau (DARLING; SCHNEIDER; PHILLIPS, 2002). Segundo Araújo et al. (2000), a vimentina está sempre presente nas células neoplásicas mioepiteliais mas não é exclusiva dessas células e pode ser expressa por outras células originárias do ducto intercalar, o que justificaria a positividade da vimentina nas células do adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade, que se origina das células da junção ácino – ducto intercalar, como já dito anteriormente.

Recentemente, um anticorpo indicador de proliferação celular, o protooncogene C-kit, um receptor transmembrana de tirosinoquinase e o marcador do componente mioepitelial dos tumores de glândulas salivares - actina de músculo liso - apresentaram forte marcação nos carcinomas adenóides císticos estudados em contraste ao adenocarcinoma polimorfo de baixo grau. Os autores sugerem esses marcadores como um painel para distinguir essas duas neoplasias (BELTRAN et al., 2006).

2.3 Galectina 3

As lectinas são proteínas ou glicoproteínas capazes de reconhecer e ligar-se com certa especificidade a carboidratos de maneira reversível. Essas proteínas foram isoladas de diversos organismos tanto animal como vegetal e estão envolvidas em inúmeros processos celulares. As superfícies celulares são ricas em glicoproteínas que interagem com as lectinas na porção glicídica, e esta interação lectina-célula pode desencadear várias alterações biológicas nos organismos. As galectinas constituem uma família de lectinas animais com afinidade por β -galactosídeos presentes na superfície de células normais e tumorais. Estão envolvidas em diversos processos biológicos, tais como controle do ciclo celular, resposta imune, adesão celular, apoptose e metástase (BARONDES et al., 1994). Dentre os 14 tipos de galectinas identificados em mamíferos, a galectina-3, uma proteína monomérica de 31kDa, destaca-se pela intensa participação em processos inflamatórios, sendo produzida por macrófagos ativados, neutrófilos, mastócitos, eosinófilos, células dendríticas e algumas subpopulações de linfócitos. Esta proteína tem sido detectada também no epitélio do trato gastrointestinal e respiratório, nos rins e em alguns neurônios sensitivos (KASAI; HIRABAYASHI, 1996; HUGHES, 1999).

Após a síntese, a galectina-3 se localiza predominantemente no citoplasma, mas pode ser encontrada também no núcleo sugerindo que esta proteína fica alternando entre o núcleo e o citoplasma (DAVIDSON et al., 2002). A localização intracelular da galectina-3 desempenha papel importante na sua função anti-apoptótica e a fosforilação da galectina-3 no resíduo serina (Ser-6) parece ter um

papel fundamental. Takenaka et al. (2004) demonstraram que a substituição do resíduo Ser-6 por um aminoácido não fosforilado (alanina) impediu a translocação núcleo-citoplasma da proteína galectina-3, inibindo assim a sua atividade anti-apoptótica.

Van den Brûle et al. (2000) e Califice et al. (2004) demonstraram que há uma visível mudança de localização da galectina-3 intracelular nas células do carcinoma de próstata quando comparado com células não tumorais. Segundo os autores, a galectina-3 está expressa tanto no núcleo quanto no citoplasma das células normais da próstata, enquanto que nas células do tecido tumoral a galectina-3 manteve-se expressa no citoplasma mas não no núcleo dessas células.

Em carcinomas de língua, os níveis de expressão nuclear da galectina-3 diminuíram durante a progressão tumoral quando comparados com a mucosa normal, enquanto que a expressão citoplasmática da galectina-3 aumentou. Os autores sugerem que a translocação da galectina-3 do núcleo para o citoplasma durante a progressão neoplásica pode servir como fator prognóstico em pacientes com carcinoma de língua (HONJO et al., 2000). Esses resultados juntos sugerem que a galectina-3 pode ter uma atividade anti-tumoral quando presente no núcleo e favorecer a progressão do tumor quando expressa no citoplasma.

A localização extracelular da galectina-3 na membrana celular indica uma participação no mecanismo de adesão celular, exercendo dessa forma também a função anti-apoptótica. A galectina-3 extracelular pode não ser uma molécula anti-apoptótica por si só, mas há a possibilidade de que a sua interação com um ligante glicoconjugado na superfície celular, possa exercer essa atividade anti-apoptótica em algumas células, contribuindo dessa forma para a sobrevivência celular (NAKAHARA; OKA; RAZ, 2005). Por outro lado, recentemente foi descrito que a

galectina-3 extracelular secretada pelas células tumorais pode exercer uma função pró-apoptótica nas células T contribuindo no mecanismo de “escape imunológico” das células tumorais, e indiretamente favorecendo a progressão tumoral (FUKUMORI et al., 2003).

Outros estudos demonstraram o envolvimento da galectina-3 na inibição da apoptose. Células que apresentaram uma superexpressão da galectina-3 mostraram também um aumento da resistência à estimulação apoptótica quando induzidas por radiação e óxido nítrico (YANG; HSU; LIU, 1996; MOON et al., 2001). O mecanismo molecular pelo qual a galectina-3 regula a apoptose não está bem esclarecido, contudo, é possível que ela possa mimetizar a Bcl-2, uma proteína mitocondrial bem conhecida como supressora da apoptose.

Muitos trabalhos têm sido feitos no sentido de demonstrar que a expressão da galectina-3 está relacionada com a invasão tumoral e o potencial metastático de certos carcinomas da cabeça e pescoço, da tireóide e de tumores gástricos. Alguns dados são conflitantes e inconsistentes e não há um consenso geral na literatura a respeito do papel da galectina-3 na progressão tumoral (DUMIC; DABELIC; FLÖGEL, 2006).

A expressão da galectina-3 tem sido bem estudada em tecidos tireoideanos normais e neoplásicos por vários pesquisadores. Esses estudos demonstraram que a galectina-3 tem se mostrado ausente ou com uma fraca expressão em tecidos normais e neoplasias benignas da tireóide, e superexpressa em carcinomas tireoideanos, principalmente nos carcinomas papilíferos (WILSON et al., 1986; FERNANDEZ et al., 1997; ROSA; KANAMURA; CARVALHO, 2005).

Em contraste, em algumas lesões como tumores de mama, próstata e ovário, a expressão da galectina é inversamente proporcional ao potencial metastático da

lesão (CASTRONOVO et al., 1996; PACIS et al., 2000; KRZESLAK; LIPINSKA, 2004).

Nos tumores malignos epiteliais da cabeça e do pescoço, a galectina-3 está localizada na superfície celular, onde pode estar associada às interações celulares. Seu padrão de expressão parece estar associado à diminuição do padrão de diferenciação do tumor, sugerindo que a galectina-3 pode ser utilizada como um marcador biológico e de diferenciação nesse tipo de lesão (GILLENWATER et al., 1996; PLZAK et al., 2004).

Xu et al. (2000) estudaram a expressão da galectina-3 em carcinomas adenóides císticos. Os autores verificaram que houve marcação da proteína em 3 dos 14 casos de carcinomas adenóides císticos estudados, em 8 de 9 casos de adenocarcinomas polimorfos de baixo grau e em 8 de 9 casos de carcinomas ex-adenoma pleomórfico. Diante desse resultado os autores concluíram que a expressão da galectina-3 pode estar associada à diferenciação celular.

Penner, Folpe e Budnick (2002) compararam a expressão da galectina-3 em carcinoma adenóide cístico e adenocarcinoma polimorfo de baixo grau e concluíram que a galectina-3 não exerce nenhuma função na diferenciação celular dessas duas lesões.

Recentemente, Teymoortash et al. (2006) estudaram a galectina-3 em carcinomas adenóides císticos de cabeça e pescoço, relacionando a marcação dessa proteína ao potencial metastático da lesão, e concluíram que a expressão da galectina-3 está associada ao aumento de metástases locais e à distância. Os autores sugerem que a galectina-3 pode ser útil para identificar pacientes com carcinoma adenóide cístico com alto risco para desenvolvimento de metástases.

Resumindo, os resultados de vários estudos mostram que embora a galectina-3 esteja localizada com mais frequência no citoplasma, ela também pode ser detectada no núcleo, na superfície celular ou no meio extracelular, o que indica uma multifuncionalidade desta molécula (HUGHES, 1999). Os níveis de expressão da galectina-3 dependem do organismo ou do tecido avaliado, sugerindo que fatores específicos do tumor ou do tecido podem modular a expressividade da galectina-3 (TAKENAKA et al., 2004).

3 PROPOSIÇÃO

A proposta deste trabalho é avaliar qualitativamente a expressão imunoistoquímica da proteína galectina-3 em neoplasias malignas de glândulas salivares, especificamente no carcinoma adenóide cístico e seus subtipos histológicos, comparando-os aos do adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Casuística e análise morfológica

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, através do Parecer de Aprovação número 186/05 (Anexo A).

Para este estudo foram utilizados materiais selecionados dos Arquivos do Serviço de Anatomia Patológica da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo – SP obtidos de biópsias de lesões bucais de glândulas salivares, sendo 14 casos de carcinoma adenóide cístico e 12 casos de adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade.

Cortes corados em Hematoxilina e Eosina dos tumores supracitados foram submetidos a um estudo morfológico em microscopia de luz realizado por três patologistas experientes para confirmação do diagnóstico e classificação em subtipos histológicos, no caso do carcinoma adenóide cístico.

Os tumores foram então submetidos ao estudo imunoistoquímico utilizando o método do polímero marcado com peroxidase, e os cortes submetidos ao anticorpo primário galectina-3.

4.2 Técnica imunoistoquímica

Para realização da técnica de imunoistoquímica foram utilizados cortes de 3 μ m de espessura a partir de material previamente fixado em formol 10% e emblocado em parafina. Os cortes foram estendidos em lâminas de vidro previamente lavadas em álcool absoluto, secas e mergulhadas por um minuto em solução de 3-aminopropytriethoxy-silane (Sigma Chemical CO., St Louis, MO / USA) a 10% em álcool absoluto. A desparafinação foi realizada em dois banhos de xilol, um a 60 °C por 30 minutos, e outro em temperatura ambiente por 20 minutos. Em seguida os cortes foram hidratados em uma série descendente de etanol, a partir de três passagens em etanol absoluto, seguido por etanol 95% e 85% durante 5 minutos cada. Com a finalidade de se remover o pigmento formólico, os cortes foram imersos em hidróxido de amônia a 10% em solução alcoólica a 95% durante 10 minutos. Posteriormente, foram lavados em água corrente por 10 minutos e passados por dois banhos de água destilada de 5 minutos cada.

Os cortes receberam tratamento para recuperação antigênica com tampão TRIS / EDTA a 10mM, pH 9.0 por 10 minutos em microondas. O bloqueio da peroxidase endógena foi feito com dois banhos de quinze minutos cada um em solução de peróxido de hidrogênio a 6% e metanol (1:1). Os cortes foram encubados “overnight” por 18 horas com o anticorpo primário anti-galectina 3 (clone 9C4, RDI, USA) em cuba úmida à temperatura de 4° C, na diluição de 1:200. As secções foram encubadas em um ciclo de kit EnVision Mouse (Dako Corporation, Carpinteria, CA, USA) por 30 minutos e lavadas com TBST pH 6.0.

Para revelação foi utilizado o cromógeno diaminobenzidina 0,025% (DAB, 3,3-diaminobenzidina, Sigma Chemical Co., St Louis MO / USA). Após a lavagem, os cortes foram contra-corados com hematoxilina de Mayer previamente filtrada. Os passos seguintes foram desidratação em uma cadeia ascendente de etanol seguindo a seqüência de 70%, 90% e 100% durante 2 minutos cada banho e diafanização em xilol (2 banhos de 5 minutos cada). As lâminas de vidro foram então montadas com lamínulas de vidro e com Permount (Fischer Scientific, Fair Lawn, NJ, USA).

Como controle negativo não foi realizada a incubação com o anticorpo primário, e como controle positivo foi utilizado um bloco parafinado de carcinoma papilífero de tireóide previamente testado e positivo para a galectina 3. Controles positivos internos, como epitélio estratificado da mucosa de revestimento e vasos sangüíneos estavam presentes na maioria dos casos utilizados. Tecidos de glândula salivar normal estavam presentes na maioria dos casos estudados e foram também avaliados.

A análise dos resultados foi feita mediante uma avaliação qualitativa da marcação imunoistoquímica da galectina-3 nos carcinomas adenóides císticos e adenocarcinomas polimorfos de baixo grau de malignidade. Todos os resultados foram avaliados por três patologistas experientes.

5 RESULTADOS

Os resultados para a proteína estudada revelaram três padrões diferentes de marcação nas células do tecido normal e das neoplasias: foram observadas marcações predominantemente no citoplasma, predominantemente no núcleo ou no núcleo e citoplasma indiscriminadamente.

Os cortes das neoplasias expressaram aspectos peculiares de marcação, expressando mais ou menos a galectina-3 em locais específicos. As áreas de estroma das lesões e os componentes epiteliais também apresentaram marcação.

A análise morfológica e os resultados imunoistoquímicos estão descritos a seguir separadamente.

5.1 Glândula salivar normal

As amostras que apresentavam tecido glandular normal, compreendiam em sua maioria fragmentos de glândulas salivares menores. As lâminas coradas pela hematoxilina e eosina e observadas sob microscópio de luz, revelaram parênquima glandular composto de unidades secretoras de tamanhos variados, separadas por septos fibrosos, constituídas por células serosas e/ou mucosas circundadas por membrana basal e envolvidas por células mioepiteliais, nem sempre detectáveis pela microscopia de luz.

Os ácinos serosos eram formados por grupos de 3 a 6 células acinares serosas arranjadas em pequenos ductos esféricos circundando um pequeno lúmen. Essas células eram triangulares e trapedoizais, com ápice voltado para a superfície luminal, citoplasma abundante, granuloso e eosinofílico, e núcleo arredondado localizado no pólo basal.

Os ácinos mucosos eram formados por células mucosas de citoplasma abundante, claro e delicadamente granular e núcleo arredondado voltado para a basal.

O sistema de ductos observado era simples, consistindo de ductos estriados revestidos por células colunares com núcleo central e citoplasma eosinofílico (Figura 5.1A).

A marcação imunoistoquímica para a galectina-3 foi positiva nos casos de glândula salivar normal observados. Essa marcação foi bastante intensa nas células lumbais dos ductos, marcando núcleo e citoplasma, porém com predomínio de marcação citoplasmática. As células acinares e mucosas bem como as células mioepiteliais na periferia dos ácinos apresentaram-se livres de marcação (Figura 5.1B).

5.2 Carcinoma adenóide cístico

Os casos de carcinoma adenóide cístico estudados incluíram 2 casos do tipo tubular, 4 casos do tipo sólido e 8 casos do tipo cribriforme, totalizando 14 casos. Os

dados clínicos dos pacientes como idade, sexo e localização da lesão estão resumidos na Tabela 5.1.

Tabela 5.1 – Lesões separadas por tipos histológicos e dados clínicos dos pacientes

Caso	Tipo de Tumor	Sexo	Idade (anos)	Localização da Lesão
01	CAC tubular	Fem	65	Palato
02	CAC tubular	Fem	NI	Palato
03	CAC cribriforme	Fem	39	Palato
04	CAC cribriforme	Fem	32	Mucosa jugal – túber maxila
05	CAC cribriforme	Masc	45	Mucosa jugal
06	CAC cribriforme	Masc	34	Mucosa jugal – túber maxila
07	CAC cribriforme	Fem	45	Mucosa jugal – anterior mandíbula
08	CAC cribriforme	Fem	53	Glândula sublingual
09	CAC cribriforme	Fem	38	Assoalho bucal
10	CAC cribriforme	Fem	75	Borda lateral da língua
11	CAC sólido	Masc	69	Maxila
12	CAC sólido	NI	NI	Palato
13	CAC sólido	Masc	45	Região retromolar
14	CAC sólido	Fem	50	Palato
15	APBG	Fem	62	Palato
16	APBG	Fem	58	Mucosa jugal (ducto parótida)
17	APBG	Fem	38	Lábio superior
18	APBG	Masc	11	Mucosa jugal
19	APBG	Fem	36	Lábio superior
20	APBG	Fem	47	Palato
21	APBG	Fem	52	Palato
22	APBG	Masc	75	Mucosa jugal
23	APBG	Masc	49	Palato
24	APBG	Fem	75	Palato
25	APBG	Fem	56	Lábio superior
26	APBG	Fem	39	Palato

CAC: carcinoma adenóide cístico; APBG: adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade;

NI: não informado

O subtipo histológico tubular apresentou células cuboidais de citoplasma eosinofílico e escasso, arranjadas em estruturas ductiformes de duas camadas de células (Figura 5.2A).

A marcação imunoistoquímica da galectina-3 no carcinoma adenóide cístico tubular foi intensa nas células internas das estruturas ductiformes com predomínio de marcação nuclear (Figura 5.2B).

No subtipo histológico cribriforme as células arranjavam-se em ilhas contendo múltiplos espaços pseudocísticos caracterizando o aspecto cribriforme. Individualmente as células eram cuboidais, com citoplasma claro e escasso e núcleos ovalados (Figura 5.3A).

Os casos do subtipo cribriforme do carcinoma adenóide cístico mostraram, de uma maneira geral, poucas células positivas para a galectina-3. A marcação foi puntiforme e ocorreu exclusivamente nas células que formavam os pequenos ductos no interior das ilhas neoplásicas cribriformes, as células luminais (Figura 5.3B).

A variante sólida do carcinoma adenóide cístico apresentava arranjos celulares em ninhos sólidos de tamanhos e formas variadas, formando às vezes estruturas ductiformes. As células neoplásicas apresentavam morfologia cuboidal com núcleos ovais e hipercromáticos. O citoplasma dessas células era claro e escasso (Figura 5.4A).

No subtipo sólido houve marcação imunoistoquímica em algumas células luminais dos espaços ductiformes que, eventualmente, se formavam. Essa marcação foi tanto nuclear quanto citoplasmática, com predomínio de marcação nuclear (Figura 5.4B). Em um dos casos estudados houve uma marcação diferente dos demais casos do subtipo sólido, marcando indiscriminadamente quase todas as

células da lesão. Nesse caso a marcação foi predominantemente citoplasmática (Figura 5.4C).

5.3 Adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade

Foram incluídos neste trabalho 12 casos de adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade. Os dados clínicos dos pacientes como idade, sexo e localização da lesão estão resumidos na Tabela 5.1.

Os espécimes de adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade estudados eram compostos arquiteturalmente por uma combinação variada de quatro padrões: lobular, formado por lóbulos de células neoplásicas arranjadas em ilhas sólidas; estruturas tubulares ductiformes com uma única camada de células; ilhas de células com múltiplos espaços pseudocísticos, configurando o aspecto cribriforme e áreas formando cordões e trabéculas. Todos os casos apresentavam intenso polimorfismo com uma mistura dos padrões acima descritos.

Apesar da variedade de padrões de crescimento, as células neoplásicas eram essencialmente caracterizadas por um aspecto monótono e ausência de atipia celular. Estas células apresentavam morfologia cuboidal ou colunar, com contorno nuclear oval e vesicular, cromatina pouco visível e nucléolo pequeno. Em algumas áreas podiam-se observar células com núcleos pequenos, fusiformes e mais basofílicos com pouco ou quase nenhum citoplasma (Figuras 5.5A, 5.5B e 5.5C).

A marcação imunoistoquímica do adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade para a galectina-3 foi intensa e predominantemente citoplasmática. Nas

áreas mais tubulares e trabeculares, houve marcação de praticamente todas as células que formavam os túbulos, trabéculas e cordões (Figuras 5.6A e 5.6B). Nas áreas cribriformes houve marcação das células onde se abriam os espaços luminiais (Figura 5.6C). As regiões sólidas eram compostas por ninhos e lençóis de células onde a marcação foi difusa, marcando todas as células que formavam esses ninhos e lençóis, com exceção daquelas células descritas com núcleo fusiforme e basofílico e sem citoplasma visível (Figuras 5.7A e 5.7B). Em algumas áreas onde havia formação desses ninhos ou ilhas sólidas, a marcação imunoistoquímica se concentrou nas células que se localizavam mais na periferia desses ninhos (Figura 5.7C).

Figura 5.1- Glândula Salivar Normal

A- Ducto estriado em corte transversal e ácinos mucosos. Hematoxilina e Eosina (aumento original 200x)

B- Marcação da Galectina-3 nas células luminais dos ductos. Imunoistoquímica (aumento original 25x); no detalhe predomínio de marcação citoplasmática

Figura 5.2- Carcinoma Adenóide Cístico, subtipo tubular

A- Aspectos histopatológicos em Hematoxilina e Eosina (aumento original 100x)

B- Marcação da Galectina-3 nas células luminais das estruturas tubulares. Imunoistoquímica (aumento original 100x)

Figura 5.3- Carcinoma Adenóide Cístico, subtipo cribriforme

A- Aspectos histopatológicos em Hematoxilina e Eosina (aumento original 100x)

B- Marcação da Galectina-3 nas células luminais dentro das estruturas cribriformes. Imunoistoquímica (aumento original 100x)

Figura 5.4- Carcinoma Adenóide Cístico, subtipo sólido

A- Aspectos histopatológicos em Hematoxilina e Eosina (aumento original 25x)

B- Ausência de marcação da Galectina-3 na maioria das células. No detalhe, marcação da Galectina-3 nas células que circundam alguns espaços luminais. Imunoistoquímica (aumento original 100x)

C- Marcação citoplasmática da Galectina-3. Imunoistoquímica (aumento original 400x)

Figura 5.5- Adenocarcinoma Polimorfo de Baixo Grau de Malignidade – aspectos histopatológicos em Hematoxilina e Eosina

A- Área lobular (aumento original 100x)

B- Área tubular (aumento original 100x)

C- Área cribriforme (aumento original 100x)

Figura 5.6- Adenocarcinoma Polimorfo de Baixo Grau de Malignidade – Imunoistoquímica

A e B- Expressão da Galectina-3 nas estruturas tubulares de camada celular única e cordões (aumento original 100x)

C- Expressão da Galectina-3 nas áreas cribriformes (aumento original 200x)

Figura 5.7- Adenocarcinoma Polimorfo de Baixo Grau de Malignidade – Áreas sólidas. Imunoistoquímica

A e B- Ninhos e lençóis de células mostrando marcação citoplasmática para a Galectina-3 em praticamente todas as células, exceto nas células de núcleo mais basofílico (aumento original 200x)

C- Ilhas de células neoplásicas mostrando marcação para a Galectina-3 somente nas células localizadas na periferia das ilhas (aumento original 100x)

6 DISCUSSÃO

No presente trabalho foram estudados 14 casos de carcinoma adenóide cístico e 12 casos de adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade. A idade dos pacientes que apresentaram as respectivas lesões variou de 32 a 75 anos de idade no carcinoma adenóide cístico, com uma média de idade de 49 anos, e de 11 a 75 anos de idade no adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade, com uma média de idade de 49,8 anos. Em ambos os tumores houve predileção pelo sexo feminino sendo de 2,25:1 no carcinoma adenóide cístico e de 3:1 no adenocarcinoma polimorfo de baixo grau. Esses dados estão em conformidade com a literatura que relata para ambas as lesões picos de prevalência entre a quinta e a sétima décadas de vida e predileção pelo sexo feminino (GARDEN et al., 1995; HADDAD et al., 1995; EVANS; LUNA, 2000; KHAN et al., 2001; CHUMMUN et al., 2001; RAUX-RAKOTOMALALA et al., 2003).

Apesar de não haver um consenso na literatura quanto à localização mais freqüente do carcinoma adenóide cístico (HADDAD et al., 1995; KHAN et al., 2001; KOLUDE; LAWOYIN; AKANG, 2001; QURESHI et al., 2005), neste estudo observou-se que a lesão ocorreu quase que exclusivamente em glândulas salivares menores, com apenas um caso em glândula salivar maior (glândula sublingual). Para o adenocarcinoma polimorfo de baixo grau os dados deste estudo foram muito similares aos descritos na literatura (GNEPP; CHEN; WARREN, 1988; WALDRON; EL-MOFTY; GNEPP, 1988), com todos os casos ocorrendo em glândulas salivares menores sendo que em 50% dos casos a lesão ocorreu em palato, seguidos de mucosa jugal e lábio superior.

A distinção histológica entre o carcinoma adenóide cístico e o adenocarcinoma polimorfo de baixo grau se faz baseada principalmente nos aspectos citológicos. As células no adenocarcinoma polimorfo de baixo grau são cuboidais ou colunares, apresentam núcleo vazado e citoplasma claro, sem o aspecto basofílico característico do carcinoma adenóide cístico. Entretanto muitas vezes esta distinção se torna difícil, principalmente quando o padrão arquitetural dessas lesões é muito similar. Quando o adenocarcinoma polimorfo de baixo grau apresenta padrão de crescimento sólido ou cribriforme, ele pode ser confundido com o carcinoma adenóide cístico. Histologicamente, as áreas sólidas do adenocarcinoma polimorfo de baixo grau apresentam menos pleomorfismo celular, menos figuras de mitoses e quase nunca apresentam áreas de necrose quando comparados ao carcinoma adenóide cístico (BARNES et al., 2005). Por outro lado, quando há áreas cribriformes semelhantes, a distinção pode ser feita por painéis imunoistoquímicos que incluem especialmente citoqueratinas de vários pesos moleculares, vimentina e actina de músculo liso (ARAÚJO et al., 2000; ARAÚJO et al., 2001).

Um outro aspecto histológico em comum entre essas duas lesões é o neurotropismo, com a tendência dos tumores a fazer uma invasão perineural (BARNES et al., 2005).

Porém, apesar dessas duas lesões apresentarem aspectos histológicos similares, em contraste ao adenocarcinoma polimorfo de baixo grau, o carcinoma adenóide cístico apresenta uma alta taxa de recorrência não só localmente como tem capacidade de fazer metástases à distância, e isso está associado ao pior prognóstico dessa lesão (GARDEN et al., 1995; SPIERS et al., 1996; YASUMATSU et al., 2004; RAPIDIS et al., 2005).

Nos casos de carcinoma adenóide cístico estudados neste trabalho, o padrão de marcação para a galectina-3 foi bastante característico, marcando principalmente o núcleo das células luminais. No carcinoma adenóide cístico tubular houve marcação das células da camada interna das estruturas ductiformes. No carcinoma adenóide cístico cribriforme e sólido, da mesma forma, a marcação foi nas células que circundavam os espaços luminais.

Comparando-se a quantidade de marcação entre os subtipos histológicos do carcinoma adenóide cístico, uma associação entre o padrão de marcação e o comportamento clínico de cada um dos subtipos histológicos poderia ser feita. No carcinoma adenóide cístico tubular, considerado o subtipo de melhor prognóstico (YAMAMOTO et al., 1998), houve marcação das células internas de praticamente todas as estruturas tubulares. Já no carcinoma adenóide cístico cribriforme a marcação foi menor, não ocorrendo em todas as estruturas cribriformes observadas e, quando ocorreu, ela se restringia às células luminais. No carcinoma adenóide cístico sólido, considerado o subtipo de pior prognóstico (YAMAMOTO et al., 1998), essa marcação foi menor ainda, com vários campos apresentando áreas onde se abriam espaços luminais sem apresentar marcação. Eventualmente, algumas células circundando esses lúmens eram positivas para a galectina-3. Portanto, sendo a galectina-3 sempre expressa em células luminais e sendo o subtipo tubular o que mais apresenta essas células, talvez o melhor prognóstico esteja ligado ao maior número de células mais diferenciadas presentes na lesão.

Ao contrário, há uma tendência grande na literatura de se relacionar a maior expressão da galectina-3 à transformação maligna e à agressividade da lesão. Recentemente Teymoortash et al. (2006) estudaram 35 casos de carcinoma adenóide cístico de cabeça e pescoço e observaram que todos os casos que

apresentaram metástases à distância eram positivos para a galectina-3 e todos os casos onde não ocorreram metástases à distância eram negativos para a galectina-3. Da mesma forma, todos os pacientes que apresentaram metástases regionais também eram positivos para a galectina-3, com uma marcação predominantemente citoplasmática. Diante disso concluíram que a expressão da galectina-3 está associada ao aumento da incidência de metástases regionais e à distância nos carcinomas adenóides císticos de cabeça e pescoço. Apesar de terem mencionado que o padrão histológico de crescimento tumoral foi avaliado, os autores não associaram o padrão histológico ao comportamento clínico dessas lesões.

Portanto, no presente estudo a marcação da galectina-3 parece ser inversamente proporcional à agressividade da lesão. Estudos têm mostrado que a galectina-3 pode exibir marcação citoplasmática ou nuclear com diferentes funções (HONJO et al., 2000; VAN DEN BRÜLE et al., 2000; DAVIDSON et al., 2002; TAKENAKA et al., 2004; CALIFICE et al., 2004). Os casos de carcinoma adenóide cístico tubular, o subtipo menos agressivo, apresentaram mais células marcadas pela galectina-3 quando comparados aos subtipos cribriforme e sólido, com uma marcação predominantemente nuclear. Entretanto, em um caso isolado de carcinoma adenóide cístico do subtipo sólido, o padrão de marcação foi diferente do restante da amostra apresentando marcação citoplasmática na maioria das células neoplásicas. Com base nestes resultados, pode-se afirmar que, nos carcinomas adenóides císticos a expressividade nuclear da galectina-3 é maior no subtipo tubular e esta expressividade vai diminuindo nos demais subtipos histológicos. No único caso de carcinoma adenóide cístico sólido em que se observou intensa marcação para a galectina-3, essa marcação foi apenas citoplasmática. Juntando-se

estes resultados com os resultados de Teymoortash et al. (2006), pode-se sugerir que esse caso apresenta uma maior propensão de desenvolver metástases.

Como foi comentado acima, a galectina-3 exerce diferentes funções dependendo da sua localização intracelular. Está bem descrito na literatura que a marcação citoplasmática da galectina-3 está associada à sua função anti-apoptótica, favorecendo a progressão tumoral, e, quando essa proteína está expressa no núcleo, ela perde a função anti-apoptótica (HONJO et al., 2000; VAN DEN BRÜLE et al., 2000; CALIFICE et al., 2004; TAKENAKA et al., 2004).

Associando-se os padrões de marcação encontrados nos diferentes subtipos histológicos do carcinoma adenóide cístico com a observação da marcação ora predominantemente nuclear, ora predominantemente citoplasmática, pode-se concluir que a marcação da galectina-3 está realmente associada ao comportamento clínico da lesão. Por outro lado, ao se avaliar o padrão de marcação da galectina-3 nos adenocarcinomas polimorfos de baixo grau estudados, torna-se difícil fazer esse tipo de afirmação.

No adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade houve intensa marcação de praticamente todas as células tumorais, e essa marcação era predominantemente citoplasmática. Esse padrão de marcação foi o mesmo observado em um dos casos de carcinoma adenóide cístico sólido do presente trabalho e nos casos de carcinoma adenóide cístico estudados por Teymoortash et al. (2006). O padrão de marcação da galectina-3 é inconsistente com o comportamento clínico indolente do adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade se tentarmos associá-lo à possibilidade de recorrências e metástases, porém, poderia estar relacionado à agressividade local desse tumor.

A positividade da galectina-3 nos carcinomas adenóides císticos ocorreu em células previamente descritas como células luminais, positivas para as citoqueratinas. O carcinoma adenóide cístico apresenta um padrão de marcação para as citoqueratinas semelhante ao visto no ducto intercalar das glândulas salivares normais, apresentando, contudo, algumas diferenças que sugerem variados graus de diferenciação para os três subtipos histológicos (ARAÚJO; SOUSA, 1996). Esse padrão de marcação foi o mesmo observado nas glândulas salivares normais do presente trabalho onde houve marcação imunoistoquímica para a galectina-3 apenas dos ductos, sem nenhuma positividade nos ácinos ou nas células mioepiteliais.

Nas áreas cribriformes do carcinoma adenóide cístico, as células luminais são bem definidas pela marcação imunoistoquímica das citoqueratinas 7, 8, 14 e 19. Todas as demais células são células mioepiteliais, negativas para as citoqueratinas e positivas para vimentina e actina músculo-específica (ARAÚJO; CARVALHO; ARAÚJO, 1994; ARAÚJO; SOUSA, 1996).

As áreas cribriformes do adenocarcinoma polimorfo de baixo grau são compostas por um único tipo de célula que expressa as citoqueratinas 7 e 14 (ARAÚJO et al., 2001). Previamente já havia sido demonstrado que na maioria dos casos esse tumor é constituído por células luminais e as células mioepiteliais ocorrem apenas raramente, não sendo o seu principal componente celular (ARAÚJO et al., 1999). Isso está de acordo com os achados deste estudo, onde houve marcação de praticamente todas as células neoplásicas do adenocarcinoma polimorfo de baixo grau, sugerindo realmente que essas células são células luminais. A distribuição uniforme da galectina-3 na maioria das células neoplásicas do adenocarcinoma polimorfo de baixo grau, mostra que, sem dúvida, esse tumor é

composto por um único tipo de célula com arranjos histológicos diferentes, confirmando o que já foi verificado em trabalhos anteriores (ARAÚJO et al., 1999; LODUCCA et al., 2000).

Os dados da literatura associados à marcação imunoistoquímica dos carcinomas adenóides císticos cribriformes e das áreas cribriformes do adenocarcinoma polimorfo de baixo grau apresentados neste trabalho, mostram que o padrão de marcação da galectina-3 é similar à marcação das citoqueratinas nestas lesões.

As áreas que apresentavam ilhas sólidas no adenocarcinoma polimorfo de baixo grau, algumas células de núcleo pequeno, fusiforme e basofílico não mostraram nenhuma marcação para a galectina-3. O fato de nessas lesões a marcação ter sido predominantemente citoplasmática e essas células não apresentarem citoplasma, sugere que essas células não mostraram nenhuma marcação visível devido à ausência de citoplasma, ou essas células são menos diferenciadas e possuem um fenótipo que não expressa a galectina-3.

Através dos tumores de glândulas salivares estudados nesse trabalho pela imunomarcação da galectina-3, demonstrou-se que, de forma geral, eles mantêm o mesmo padrão de marcação das citoqueratinas observado nas glândulas salivares normais, porém, com intensidade e padrões de expressão distintos, sugerindo participação dessa proteína na diferenciação celular.

A expressividade da galectina-3 parece estar mais associada ao tipo de célula presente em cada uma das lesões. Isso justifica o fato de haver mais marcação no subtipo histológico do carcinoma adenóide cístico tubular, que apresenta muitas estruturas tubulares e, conseqüentemente, mais células luminais, quando comparado aos subtipos cribriforme e sólido que apresentam menos células luminais

e mais células mioepiteliais, que são as células proliferativas nessas lesões. No adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade isto também se aplica, uma vez que a marcação da galectina-3 em quase todas as células neoplásicas mostra o isomorfismo celular nessas lesões e ainda que estas células não são de origem mioepitelial.

Uma série de evidências clínicas tem sido relatada dando embasamento à correlação entre a expressão da galectina-3 e a transformação maligna de algumas lesões, bem como ao papel desta proteína na diferenciação celular (DUMIC; DABELIC; FLÖGEL, 2006). Diante dos nossos resultados é mais coerente pensarmos que a galectina-3 está associada à diferenciação celular nas neoplasias estudadas neste trabalho, e não ao comportamento clínico dessas lesões. Apesar de haver dados conflitantes na literatura, o estudo da galectina-3 para determinação de diagnóstico diferencial e prognóstico não deve ser descartado.

7 CONCLUSÃO

Nas neoplasias de glândulas salivares estudadas, carcinoma adenóide cístico e adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade, a proteína galectina-3 apresentou um padrão de marcação distinto e característico que parece estar mais associado à diferenciação celular do que ao prognóstico.

REFERÊNCIAS¹

Araújo VC, Carvalho YR, Araújo NS. Actin versus vimentin in myoepithelial cells of salivary gland tumours. A comparative study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1994;77:387-91.

Araújo VC, Sousa SOM. Expression of different keratins in salivary gland tumours. *Oral Oncol* 1996;32B:14-8.

Araujo V, Sousa S, Jaeger M, Jaeger R, Loyola A, Crivelini M, et al. Characterization of the cellular component of polymorphous low-grade adenocarcinoma by immunohistochemistry and electron microscopy. *Oral Oncol* 1999;35:164–72.

Araújo VC, Sousa SOM, Carvalho YR, Araújo NS. Application of immunohistochemistry in the diagnosis of salivary gland tumors. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2000;8:195-202.

Araújo VC, Loducca SVL, Sousa SOM, Williams DM, Araújo NS. The Cribriform Features of Adenoid Cystic Carcinoma and Polymorphous Low-Grade Adenocarcinoma: Cytokeratin and Integrin Expression. *Annals of Diagnostic Pathology* 2001;5:330-4.

Barondes SH, Cooper DNW, Gitt MA, Leffler H. Galectins. Structure and function of a large family of animal lectins. *J Biol Chem* 1994;269:20807-10.

Barnes L, Everson JW, Reichart P, Sidransky D. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours. 1^a ed. Lyon: IARC Press; 2005. cap.5, p.221-4.

Beltran D, Faquin WC, Gallagher G, August M. Selective Immunohistochemical Comparison of Polymorphous Low-Grade Adenocarcinoma and Adenoid Cystic Carcinoma. *J Oral Maxillofac Surg* 2006;64:415-23.

Boko E, Napo-Koura G, Kpemissi E, Boko-Bessi L. Tumours of the accessory salivary glands. Epidemiological and anatomopathological aspects. *Rev Laryngol Otol Rhinol* 2004;125:233-37.

---

¹ De acordo com o Estilo Vancouver. Abreviatura de periódicos segundo base de dados MEDLINE.

Califice S, Castronovo V, Bracke M, Van Den Brule F. Dual activities of galectin-3 in human prostate cancer: Tumor suppression of nuclear galectin-3 vs tumor promotion of cytoplasmic galectin-3. *Oncogene* 2004;23:7527-36.

Castronovo V, Van Den Brule FA, Jackers P, Clausse N, Liu FT, Gillet C, et al. Decreased expression of galectin-3 is associated with progression of human breast cancer. *J Pathol* 1996;179:43–8.

Chummun S, Mclean NR, Kelly CG, Dawes PJ, Meikle D, Fellows S, et al. Adenoid cystic carcinoma of the head and neck. *Br J Plast Surg* 2001;54:476-80.

Darling MR, Schneider JW, Phillips VM. Polymorphous low-grade adenocarcinoma and adenoid cystic carcinoma: a review and comparison of immunohistochemical markers. *Oral Oncology* 2002;38:641–5.

Davidson PJ, Davis MJ, Patterson RJ, Ripoche MA, Poirier F, Wang JL. Shuttling of galectin-3 between the nucleus and cytoplasm. *Glycobiology* 2002;12(5):329-37.

Dumic J, Dabelic S, Flögel M. Galectin-3: An open-ended story. *Biochim Biophys Acta*. In Press Jan 2006.

Ellis GL, Auclair PL. Tumors of the salivary glands. Washington: Armed Forces Institute of Pathology; 1996.

Evans HL, Batsakis JG. Polymorphous low-grade adenocarcinoma of minor salivary glands: a study of 14 cases of a distinctive neoplasm. *Cancer* 1984;53:935-42.

Evans HL, Luna MA. Polymorphous low-grade adenocarcinoma: a study of 40 cases with long-term follow up and an evaluation of the importance of papillary areas. *Am J Surg Pathol* 2000;24:1319-28.

Fernandez PL, Merino MJ, Gomez M, Campo E, Medina T, Castronovo V, et al. Galectin-3 and laminin expression in neoplastic and non neoplastic thyroid tissue. *J Pathol* 1997;181:80-6.

Figueiredo CRLV, Sousa SCOM, Araújo VC. Estudo imunohistoquímico do carcinoma adenóide cístico de glândula salivar menor. *Rev Pos Grad* 1997;4:231-7.

Freedman PD, Lumerman H. Lobular carcinoma of intraoral minor salivary gland origin. Report of twelve cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1983;56:157–65.

Fukumori T, Takenaka Y, Yoshii T, Kim HR, Hogan V, Inohara H, et al. CD29 and CD7 mediate galectin-3-induced type II T-cell apoptosis. *Cancer Res* 2003;63:8302-11.

Furuse C, Sousa SO, Nunes FD, Magalhães MH, Araújo VC. Myoepithelial cell markers in salivary gland neoplasms. *Int J Surg Pathol* 2005;13(1):57-65.

Garden AS, Weber RS, Morrison WH, Ang KK, Peters LJ. The influence of positive margins and nerve invasion in adenoid cystic carcinoma of the head and neck treated with surgery and radiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1995;32(3):619-26.

Gillenwater A, Xu XC, El-Naggar AK, Clayman GL, Lotan R. Expression of galectins in head and neck squamous cell carcinoma. *Head Neck* 1996;18:422-32.

Gnepp DR, Chen JC, Warren C: Polymorphous low-grade adenocarcinoma of minor salivary gland: An immunohistochemical and clinicopathologic study. *Am J Surg Pathol* 1988;12:461.

Haddad A, Enepekides D, Manolidis S, Black M. Adenoid cystic carcinoma of the head and neck: a clinicopathologic study of 37 cases. *J Otolaryngol* 1995;24(3):201-5.

Honjo Y, Inohara H, Akahani S, Yoshii T, Takenaka Y, Yoshida J, et al. Expression of cytoplasmic galectin-3 as a prognostic marker in tongue carcinoma. *Clin Cancer Res* 2000;6(12):4635-40.

Hoyer KK, Pang M, Gui D, Shintaku IP, Kuwabara I, Liu FT, et al. An anti-apoptotic role for galectin-3 in diffuse large B-cell lymphomas. *Am J Pathol* 2004;164:893-902.

Hyam DM, Veness MJ, Morgan GJ. Minor salivary gland carcinoma involving the oral cavity or oropharynx. *Aust Dent J* 2004;49:16-9.

Hughes RC. Secretion of the galectin family of mammalian carbohydrate-binding proteins. *Biochem Biophys Acta* 1999;1473:172-85.

Kasai K, Hirabayashi J. Galectins: a family of animal lectins. *J Biochem* 1996;119:1-8.

Khan AJ, Digiovanna MP, Ross DA, Sasaki CT, Carter K, Son YH, et al. Adenoid cystic carcinoma: a retrospective clinical review. *Int J Cancer* 2001;96:149-58.

Kolude B, Lawoyin JO, Akang EE. Salivary gland neoplasms: a 21year review of cases seen at University College Hospital, Ibadan. *Afr J Med Sci* 2001;30:95-8.

Krzeslak A, Lipinska A. Galectin-3 as a multifunctional protein. *Cell Mol Biol Lett* 2004;9:305-28.

Loducca SVL, Raitz R, Araújo NS, Araújo VC. Polymorphous low-grade adenocarcinoma and adenoid cystic carcinoma: comparative study of collagen IV, laminin and their integrin ligands ($\alpha 2\beta 1$ and $\alpha 3\beta 1$). *Histopathol* 2000;37:118-23.

Loducca SVL, Mantesso A, Kapas S, Williams DM, Araújo NS, Araújo VC. Salivary gland tumours: immunoexpression of integrins $\beta 1$, $\beta 3$ and $\beta 4$. *J Oral Pathol Med* 2003;32:305-9.

Moon BK, Lee YJ, Battle P, Jessup JM, Raz AK. Galectin-3 protects human breast carcinoma cells against nitric oxide induced apoptosis. Implication of galectin-3 function during metastasis. *Am J Pathol* 2001;159:1055-60.

Nakahara S, Oka N, Raz A. On the role of galectin-3 in cancer apoptosis. *Apoptosis*. 2005;10(2):267-75.

Pacis RA, Pilat MJ, Pienta KJ, Wojno K, Raz A, Hogan V, et al. Decreased galectin-3 expression in prostate cancer. *Prostate* 2000;44:118-23.

Penner CR, Folpe AL, Budnick SD. C-kit expression distinguishes salivary gland adenoid cystic carcinoma from polymorphous low-grade adenocarcinoma. *Mod Pathol* 2002;15:687-91.

Plzak J, Betka J, Smetana K Jr, Chovanec M, Kaltner H, Andre S, et al. Galectin-3 - an emerging prognostic indicator in advanced head and neck carcinoma. *Eur J Cancer* 2004;40:2324-30.

Qureshi SS, Nadkarni MS, Shrikhande SV, Desai S, Deodhar K, Ramadwar M, et al. Hepatic resection for metastasis from adenoid cystic carcinoma of parotid gland. *Indian J Gastroenterol* 2005;24:29-30.

Rapidis AD, Givalos N, Gakiopoulou H, Faratzis G, Stavrianos SD, Vilos GA, et al. Adenoid cystic carcinoma of the head and neck. Clinicopathological analysis of 23 patients and review of the literature. *Oral Oncology* 2005;41:328-35.

Raux-Rakotomalala F, Houliat T, Martel J, Stoll D, Bebear JP, Darrouzet V. Adenoid cystic carcinoma of the head and neck: a review of 30 cases. *Rev Laryngol Otol Rhinol* 2003;124:235-41.

Rosa MP, Kanamura CT, Carvalho MB. Expressão de galectina-3 e citoqueratina 19 nas neoplasias epiteliais da glândula tireóidea e correlação histopatológica. *J Bras Patol Med Lab* 2005;41:61-70.

Spiers ASD, Esseltine DLW, Ruckdeschel JC, Davies JNP, Horton J. Metastatic adenoid cystic carcinoma of salivary glands: case reports and review of the literature. *Cancer Control* 1996;3(4):336-42.

Takenaka Y, Fukumori T, Raz A. Galectin-3 and metastasis. *Glycoconj J* 2004;19:543–549.

Takenaka Y, Fukumori T, Yoshii T, Oka N, Inohara H, Kim HR, et al. Nuclear export of phosphorylated galectin-3 regulates its antiapoptotic activity in response to chemotherapeutic drugs. *Mol Cell Biol* 2004;24:4395–4406.

Teymoortash A, Pientka A, Schrader C, Tiemann M, Werner JA. Expression of galectin-3 in adenoid cystic carcinoma of the head and neck and its relationship with distant metastasis. *J Cancer Res Clin Oncol* 2006;132:51-6.

Tomich CE. Adenoid cystic carcinoma. In: Ellis GL, Auclair PL, Gnepp DR. *Surgical pathology of the salivary glands*. Philadelphia: WB Saunders Company; 1991. c.19, p.333-49.

Van den Brule FA, Waltregny D, Liu FT, Castronovo V. Alteration of the cytoplasmic/nuclear expression pattern of galectin-3 correlates with prostate carcinoma progression. *Int J Cancer* 2000;89(4):361-7.

Waldron CA, El-Mofty SK, Gnepp DR. Tumors of the intraoral minor salivary glands: a demographic and histologic study of 426 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1988;66(3):323-33.

Wilson NW, Pambakian H, Richardson TC, Stokoe MR, Makin CA, Heyderman E. Epithelial markers in thyroid carcinoma: an immunoperoxidase study. *Histopathology* 1986;10:815-29.

Xu XC, El-Naggar AK, Lotan R. Differential expression of galectin-1 and galectin-3 in thyroid tumors. Potential diagnostic implications. *Am J Pathol* 1995;147:815-22.

Xu XC, Sola Gallego JJ, Lotan R, El-Naggar AK. Differential expression of galectin-1 and galectin-3 in benign and malignant salivary gland neoplasms. *Int J Oncol* 2000;17:271-6

Yamamoto Y, Wistuba IL, Kishimoto Y, Virmani AK, Vuitch F, Albores-Saavedra J, et al. DNA analysis at p53 locus in adenoid cystic carcinoma: comparison of molecular study and p59 immunostaining. *Pathol Int* 1998;48(4):273-80.

Yang RY, Hsu DK, Liu FT. Expression of galectin-3 modulates T-cell growth and apoptosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:6737-42.

Yasumatsu R, Kuratomi Y, Nakashima T, Masuda M, Yamamoto T. Cyclin D1 expression does not effect cell proliferation in adenoid cystic carcinoma of the salivary gland. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2004;261:526-30.

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

PARECER DE APROVAÇÃO
Protocolo 186/05

O Grupo de Trabalho indicado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, **APROVOU** o protocolo de pesquisa "*Estudo da imunoexpressão da Galectina-3 em carcinoma adenóide cístico de glândulas salivares*", de responsabilidade da Pesquisadora **Kívia Linhares Ferrazzo**, sob orientação da Professora Doutora **Suzana Orsini Machado de Sousa**.

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados a este Comitê relatórios anuais referentes ao andamento da pesquisa e ao término cópia do trabalho em "cd". Qualquer emenda do projeto original deve ser apresentada a este CEP para apreciação, de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

São Paulo, 07 de dezembro de 2005

Prof.Dr. **Rogério Nogueira de Oliveira**
Coordenador do CEP-FOUSP