

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU

Kamilla Paes de Siqueira

**O papel de galectina-3 no desenvolvimento de carcinoma
espinocelular de pele**

BAURU
2018

Kamilla Paes de Siqueira

**O papel de galectina-3 no desenvolvimento de carcinoma
espinocelular de pele**

Dissertação apresentada a Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências no Programa de Ciências Odontológicas Aplicadas, na área de concentração Biologia oral.

Orientador: Profa. Dra. Ana Paula Campanelli.

Versão Corrigida

BAURU
2018

Siqueira, Kamilla Paes

O papel de galectina-3 no desenvolvimento de carcinoma espinocelular de pele / Kamilla Paes de Siqueira. – Bauru, 2018.

71p. : il. ; 31cm.

Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Bauru. Universidade de São Paulo

Orientadora: Profa. Dra. Ana Paula Campanelli

Nota: A versão original desta dissertação encontra-se disponível no Serviço de Biblioteca e Documentação da Faculdade de Odontologia de Bauru – FOB/USP.

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, por processos fotocopiadores e outros meios eletrônicos.

Assinatura:

Data:

Comitê de Ética da FOB-USP

Protocolo nº: 003/2016

Data: 15/03/2016

FOLHA DE APROVAÇÃO

DEDICATÓRIA

A Deus e aos meus pais Pedro Geraldo de Siqueira e Zélia Maria Paes de Siqueira e toda minha família por permitirem e confiarem que eu viesse para Bauru.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora **Profª Drª. Ana Paula Campanelli**, que me acolheu em seu laboratório, sem me conhecer e que me deu suporte com suas correções, pelo respeito, pela paciência e compreensão.

Ao Professor **Dr. Roger Chamma**s por ceder à linhagem de camundongos Gal3KO.

A professora **Drª Maria Renata S. Nogueira** que gentilmente me ajudou com as análises de histopatologia.

À Profª **Drª Thais Helena Gasparoto** pelo auxílio na realização do ELISA.

Ao **Prof. Dr. Sergio Torres** pelas conversas e conselhos.

Aos colegas de laboratório **Graziela Perri, Rosimeire Primolan França, André Luís da Silva, Dalva Ribeiro de Oliveira, Lívia Maria de Melo** pela amizade, pela ajuda, pelos experimentos, pelos bolos, pelos cafés, pelos pudins, pelas caronas e etc. e a mais nova integrante da turma **Raissa Gabrielle**.

Minha colega de mestrado **Vanessa Villas Boas** pela amizade, pelos ensinamentos de Power point, internet, tutoriais de maquiagem, idas infinitas ao biotério, faça chuva ou faça sol; pela paciência no dia que joguei as células fora depois de 8h de trabalho, mas no final de tudo deu tudo certo, né? Sobrevivemos ao temperamento uma da outra e terminamos o mestrado.

Aos amigos de outros departamentos: **a Suelen Paini, Rodrigo Fonseca**. Em especial a **Rafael Ortiz, Angélica Fonseca, Jessica Melchiades** pelas missas de quarta-feira. Ao **Silas Antônio Juvêncio de Freitas Filho** pela amizade desde os tempos de 6T lá na UFU-MG.

A grande ajuda e aos ensinamentos da **Nádia Ghinelli Amôr**, que me inspiram; o *pc* mais organizado que já vi.

Minha colega de apartamento **Rebeca Placa**, que entende minhas loucuras de limpeza e que meu cabelo cai bastante e meu gosto musical digamos... *peculiar*.

A família **Rodrigues, Seu João Batista, Dona Dirce, Larissa e Laís** que me acolheram num momento de muita fragilidade e quando os meus pais não puderam estar comigo eles estavam.

Ao grupo de oração **Fonte de Vida Eterna** da igreja São Cristóvão por me sustentarem na fé.

MUITO OBRIGADA!

AGRADECIMENTOS INSTITUCIONAIS

À **Faculdade de Odontologia de Bauru – Universidade de São Paulo**, na pessoa de seu diretor, Prof. Dr. Carlos Ferreira dos Santos.

À **Comissão de Pós-Graduação da Área de Estomatologia e Biologia Oral da Faculdade de Odontologia de Bauru – USP**, na pessoa de sua coordenadora, Prof^a. Dr^a Izabel Regina Fischer Rubira de Bullen.

Ao **Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Odontologia de Bauru - USP**, na pessoa de seu chefe, Prof. Dr. Gustavo Pompermaier Garlet.

À **Faculdade de Medicina – Universidade de São Paulo (FMUSP)**, em especial ao **Prof. Dr. Roger Chammas** e toda a sua equipe de trabalho no biotério central por ceder à linhagem de camundongos Gal3KO.

O presente trabalho foi realizado com apoio da **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** – código de Financiamento 001.

Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - (CNPQ)**, pelo incentivo financeiro.

“Quando a minha alma está imersa no amor, resolvo claramente e depressa as questões mais complicadas - só o amor é capaz de passar por sobre abismos e pelos cumes das montanhas.”

Santa Faustina

RESUMO

A galectina-3 (GAL-3) é uma proteína multifuncional que pertence à família das lectinas e liga a carboidratos. A expressão de galectina-3 foi detectada em muitos tipos de tumores, como melanomas, astrocitomas e tumores da bexiga e de ovário. A galectina-3 é expressa por macrófagos e desempenha papel importante na polarização de macrófagos para o fenótipo M2. Sabe-se que macrófagos de fenótipo M2 estão associados com a progressão tumoral. Apesar dos avanços sobre o papel de galectina-3 na progressão tumoral, pouco se sabe sobre o papel desta lectina na ativação de macrófagos durante o desenvolvimento de carcinoma espinocelular (CEC). Desta forma, utilizando o modelo experimental de carcinoma espinocelular induzido quimicamente, testamos a hipótese de que a sinalização mediada por galectina-3 poderia modular a resposta imune e o desenvolvimento tumoral. Os resultados do presente estudo demonstraram que a ausência da galectina-3 está associada a menor progressão do carcinoma espinocelular. Além disso, observou-se o aumento nas percentagens de células TCD4⁺, TCD8⁺, associada a uma diminuição de células B, células dendríticas e macrófagos em amostras de tecido tumoral de animais Gal3KO. Em relação ao fenótipo dos macrófagos, os resultados evidenciaram uma menor porcentagem de macrófagos M2 em amostras de animais deficientes de galectina 3, bem como de citocinas do perfil Th2. Desta forma, os resultados do presente estudo fornecem evidências de que galectina-3 desempenha um papel importante na progressão do carcinoma espinocelular de pele e pode ser um alvo para futuras modalidades terapêuticas.

Palavras-chave: Galectina-3. Carcinoma espinocelular. Macrófagos.

ABSTRACT

Role of Galectin-3 in the development of skin squamous cell carcinoma

Galectin-3 (GAL-3) is a multifunctional protein belonging to the lectin family that binds to carbohydrates. Galectin-3 expression has been detected in many types of tumors, such as melanomas, astrocytomas, and bladder and ovary tumors. Galectin-3 is expressed by macrophages and plays an important role in the polarization of macrophages to the M2 phenotype. In addition, M2 macrophages are associated with tumor progression. Despite advances in the role of galectin-3 in tumor progression, little is known about the role of this lectin in the activation of macrophages during the development of squamous cell carcinoma (SCC). Thus, using the experimental model of squamous cell carcinoma, we tested the hypothesis that galectin-3-mediated signaling could modulate the immune response and tumor development. The results of the present study demonstrated that the absence of galectin-3 is associated with less progression of squamous cell carcinoma. In addition, increased percentages of CD4⁺ TCD8⁺ cells, TCD8⁺, associated with a decrease in B cells, dendritic cells and macrophages were observed in tumor samples from Gal3KO animals. Regarding the macrophages phenotype, the results showed a lower percentage of M2 macrophages in samples of Gal3KO mice, as well as Th2 profile cytokines. Thus, the results of the present study provide evidence that galectin-3 plays an important role in the progression of squamous cell carcinoma and may be a target for future therapeutic modalities.

Key words: Galectin-3. Squamous cell carcinoma. Macrophages.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Ilustração 1. A estrutura dos membros da família das galectinas.....	16
Figura 1. Análise do desenvolvimento tumoral.....	34
Figura 2. Análises histológicas da pele dos animais WT e Gal3KO coradas em H&E.....	35
Figura 3. Análise do infiltrado inflamatório	37
Figura 4. Análises do infiltrado inflamatório	38
Figura 5. A Gal-3 na caracterização dos leucócitos no microambiente Tumoral.....	39
Figura 6. A ausência de Gal-3 reduz a porcentagem de citocinas do perfil das células T CD4 ⁺	41
Figura 7. Análise dos níveis de citocinas.....	43

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

APC	aloficocianina
BALB/c.....	<i>Bagg Albinos C Mice</i> , camundogno Bagg albino C
BSA	<i>Bovine Serum Albumin</i> , albumina sérica bovina
Ca ²⁺	<i>Calcium</i> , cálcio
CBC	Carcinoma basocelular
CD.....	<i>Cluster of Differentiation</i> , agrupamentos de diferenciação
CEC	Carcinoma espinocelular
CRD.....	<i>Carbohydrate-recognition domain</i>
D	Maior diâmetro
d	Menor diâmetro
DC.....	<i>Dendritic Cell</i> , célula dendrítica
DMBA	<i>7,12-Dimethylbenz[a]anthracene</i> , 7,12-dimetilbenz[a]antraceno
EDTA	<i>Ethylenediaminetetraacetic Acid</i> , ácido etileno-dimano-tetra acético
FACS	<i>Fluorescence-activated Cell Sorting</i> , separação celular ativada por fluorescência
FITC	<i>Fluorescein Isothiocyanate</i> , isotiocianato de fluoersceína
g	<i>Grams</i> , gramas
GAL-3.....	<i>Galectin-3</i> , galectina-3
Gal3KO.....	<i>Gal-3 Knockout</i> , camundongo geneticamente deficiente de galectina-3
H&E.....	<i>Haematoxylin and Eosin</i> , hematoxilina e eosina
IFN- γ	Interferon-gamma
IL	<i>Interleukin</i> , interleucina
INCA	Instituto Nacional de Câncer
KRAS	Proto-oncogene, GTPase
LGALS3	Gene da Galectina-3
M1.....	<i>M1-polarized Macrophages</i> , macrófagos M1 polarizados
M2.....	<i>M2-polarized Macrophages</i> , macrófagos M2 polarizados
mg.....	<i>Milligram</i> , miligrama
mL.....	<i>Milliliter</i> , mililitros
mm.....	<i>Millimeter</i> , milímetro

NF- κ B	<i>Nuclear factor kappa B</i> , fator nuclear kappa B
NK	<i>Natural Killer Cell</i> , célula matadora natural
OMS	Organização Mundial de Saúde
PBS	<i>Phosphate Buffered Saline</i> , tapão fosfato salino
PE	<i>Phycoerythrin</i> , ficoeritrina
PercP	<i>Peridinin Chlorophyll Protein</i> , proteína clorofil peridina
pH	<i>Hydrogenionic Potential</i> , potencial hidrogeniônico
PI	<i>Propidium Iodide</i> , iodeto de propídeo
PI3K	<i>Fosfatidilinositol 3-quinase</i>
PKB	<i>Protein Kinase B</i> , proteína quinase B
PMA	<i>Phorbol Myristate Acetate</i> , acetate miristato de forbol
RAF1	<i>Raf-1 Proto-Oncogene</i> , Serine/Threonine Kinase
RNA	Ácido ribonucleico
RPMI	<i>Roswell Park Memorial Institute Medium</i> , meio de cultura Roswell Park Memorial Institute
SD	<i>Standard Deviation</i> , desvio padrão
SSC	<i>Side Scatter</i> , parâmetro de análise celular por granularidade
TCR	<i>T cell receptor</i> , receptor de células T
T CD4+	<i>Helper T Lymphocyte</i> , linfócito T auxiliary
T CD8+	<i>Cytotoxic T Lymphocyte</i> , linfócito T citotóxico
TGF- β	<i>Tumoral Growth Factor</i> , fator de transformação de crescimento
TH	<i>Helper T Lymphocyte</i> , linfócito T auxiliar
TH1	<i>Helper T Lymphocyte 1</i> , linfócito T auxiliar 1
TH2	<i>Helper T Lymphocyte 2</i> , linfócito T auxiliar 2
TNF- α	<i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i> , fator de necrose tumoral alfa
USP	Universidade de São Paulo
UV	Ultravioleta
V	Volume
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i> , fator de crescimento vascular endotelial
WT	<i>Wild Type</i>
WT ^{CEC}	<i>Wild Type CEC</i> , camundongo selvagem com carcinoma espinocelular

LISTA DE SÍMBOLOS

%.....	Porcentagem
°C.....	Graus Celsius
µg.....	<i>Microgram</i> , microgramas
µL.....	<i>Microliter</i> , microlitros
µM.....	<i>Micromolar</i> , micromolar
µm.....	<i>Micrometer</i> , micrômetro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2	PROPOSIÇÃO	23
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	27
3.1	Aspectos Éticos e Animais de experimentação.....	27
3.2	Carcinogênese química	27
3.3	Eutanásia e coleta de tecidos.....	27
3.4	Análise Histopatológica	28
3.5	Separação de leucócitos da lesão	28
3.6	Citometria de fluxo	29
3.7	Ensaio Imunoenzimático (ELISA) para dosagem de citocinas e quimiocinas	29
3.8	Análise estatística.....	30
4	RESULTADOS.....	33
4.1	Ausência de galectina-3 afeta o desenvolvimento de carcinoma espinocelular de pele.....	33
4.2	Caracterização dos leucócitos no microambiente tumoral.....	36
4.3	A ausência de galectina-3 influencia a produção de citocinas por células T CD4 ⁺	40
4.4	A ausência de Galectina-3 diminuiu o nível de IL-10 no microambiente tumoral.....	40
5	DISCUSSÃO.....	47
6	CONCLUSÕES	55
7	REFERÊNCIAS.....	59

1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

As lectinas são definidas como proteínas que ligam carboidratos sem alterá-los enzimaticamente (GOLDSTEIN et al., 1983; LIENER et al., 1986). As lectinas foram descobertas a mais de 100 anos, em plantas, e a primeira ideia de que as lectinas existiam em animais surgiu na década de 1960 (STILMARK, 1988; SHARON E LIS, 1972). A primeira evidência direta da existência de uma lectina em mamíferos surgiu durante um estudo de mecanismos que controlavam o turnover de glicoproteínas na circulação sanguínea (DRICKAMER e TAYLOR, 1993).

As lectinas compreendem uma classe de proteínas que possuem pelo menos um domínio de reconhecimento de carboidrato (CRD, *carbohydrate-recognition domain*) e que se ligam especificamente a açúcares, de maneira reversível (LIU e RABINOVISCH, 2005; NAKAHARA; OKA; RAZ, 2005). Estão presentes em todos os organismos vivos, como plantas, vírus, bactérias e mamíferos. As lectinas de mamíferos fazem parte de um importante grupo de moléculas que participam da resposta imune, especialmente da imunidade inata, atuando na primeira linha de defesa (GABIUS, 1997). As lectinas participam da interação célula á célula, adesão, proliferação, apoptose, splicing do RNA e também na modulação das respostas celulares (DINGS et al., 2018).

A partir do CRD, as lectinas de mamíferos podem ser agrupadas em famílias e superfamílias estruturalmente relacionadas (SHARON e LIS, 2004). Essas proteínas foram classificadas em pelo menos 4 grupos: lectinas do tipo C, tipo P, tipo I e do tipo S (ou S-Lac), onde se encontram as galectinas, proteínas ligante de β -galactosídeos (BARONDES et al., 1994; RINI e LOBSANOV, 1999; KRZESLAK e LIPINSKA, 2004; LIU e RABINOVICH, 2005). Membros das galectinas são amplamente distribuídos na natureza, presente desde organismos primitivos como esponjas e nematoides até fungos e animais superiores (BONALUMI, 2014). Atualmente são identificados 15 tipos de galectinas que de acordo com sua estrutura são divididas em três subgrupos: o grupo proto, com um CRD representado pelas galectinas 1, 2, 5, 7, 10, 11, 13, 14 e 15; o grupo quimera, com um CRD e uma cauda N-terminal, representado apenas pela galectina-3; e o grupo *tandem repeat*, com dois CRD na mesma cadeia conectados por um peptídeo de ligação, representado pelas galectinas 4, 6, 8, 9 e 12 (Ilustração 1) (CHIARIOTTI et al., 2004; SCIACCHITANO et al., 2018).

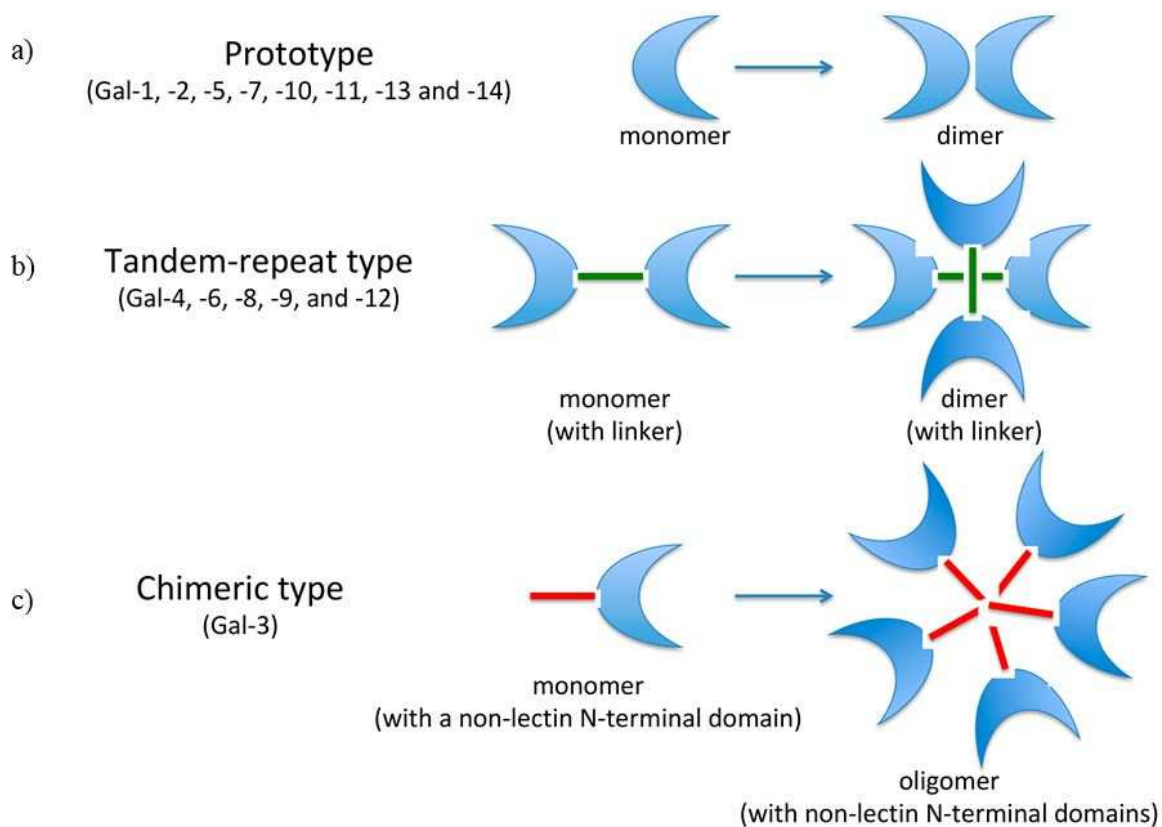


Ilustração 1. A estrutura dos membros da família das galectinas. Os membros da família das galectinas são divididos em três tipos: a) Proto com um domínio de reconhecimento de carboidratos (CRD); b) *tandem repeat*, com dois CRDs conectados por um ligante não conservado; c) quimera com um CRD e um domínio N terminal não lectina (ND). Algumas galectinas podem se associar em dímeros ou oligômeros. Retirado de Sciacchitano et al. 2018. (SCIACCHITANO et al., 2018).

As galectinas foram primeiramente isoladas como proteínas de ligação a β -galactosídeo constituem uma família de lectinas amplamente expressas em animais e evolutivamente conservadas que exibem similaridade no domínio de reconhecimento de carboidratos (CRD) e liga-se a glicoconjugados ricos em N-acetil-lactosamina (RABINOVICH, 1999; BARTOLAZZI, SCIACCHITANO, D’ALESSANDRIA, 2012). A galectina-3 é o membro mais estudado da família de galectinas (OCHIENG et al, 2004). A galectina-3 humana, pertence ao grupo quimera da família das galectinas, é codificada por um único gene, o gene LGALS3, é um monómero de 32-35kDa (KADROSFKE, OPENO, WANG, 1998). Sua estrutura é formada por um domínio de reconhecimento de carboidratos (CRD); e por um pequeno domínio amino-terminal de ligação protéica, que contém seqüências repetidas ricas em prolina, tirosina e glicina (LIU, 1990).

A galectina-3 pode ser encontrada no núcleo, citoplasma e na superfície de muitas células e a expressão desta proteína foi observada em vários tipos de tecidos como cólon, tireoide e próstata (LOTZ et al., 1993; PACIS et al., 2000; SAGGIORATO et al., 2004). A sua expressão em grande variedade de tipos celulares, como por exemplo, eosinófilos, neutrófilos, células dendríticas, mastócitos, linfócitos e células epiteliais (FLOTTE, SPRINGER, THORBECKE, 1983; HAINES et al., 1983; TRUONG et al., 1993). A galectina-3 é encontrada em solução como um monômero, mas pode formar oligômeros quando se liga a múltiplos carboidratos (AHMAD et al., 2004) formando estruturas supramoleculares conhecidas como *lattices*, que são importantes para aumentar a exposição de glicoproteínas na superfície celular influenciando a resposta celular (BOSCHER, DENNIS, NABI, 2011; FORTUNA-COSTA, 2014). As galectinas interagem com glicoconjugados enriquecidos com β -galactósídeos presentes em vários patógenos. Embora a natureza dessas interações não seja bem caracterizada, a formação da rede provavelmente desempenha um papel na ligação da galectina e o patógeno assim influenciando a resposta a este patógeno (RABINOVICH et al., 2007).

Em relação a suas atividades biológicas, a galectina-3 apresenta uma multifuncionalidade, regula o crescimento celular, a apoptose, transformações neoplásicas e aumenta sua expressão durante o processo inflamatório, induzindo a ativação de mastócitos, macrófagos, neutrófilos e linfócitos (HSU et al., 2000; SANO et al., 2000). Estudos demonstram que células que tiveram uma alta expressão de galectina-3 apresentaram aumento da resistência a apoptose quando induzida por óxido nítrico e radiação (TRUONG et al., 1993; YANG, HDSU, LIU, 1996). No processo de regulação da proliferação celular, a galectina-3 pode aumentar a expressão de fatores de transcrição atuando nas vias de sinalização celular (SHIMURA et al., 2004).

Em relação ao papel de galectina-3 na ativação e/ou inibição das células do sistema imunológico, dados indicam que galectina-3 apresenta importante papel na função dos macrófagos (YAN E LIU, 2003; OCHIENG, FURTAK, LUKYANOV, 2004). Estudos sugerem que está proteína contribui para a migração destas células para o foco inflamatório. Além disso, demonstrou-se que galectina-3 expressa por células da linhagem monocítica atua como molécula pró-inflamatória induzindo a secreção de citocinas e quimiocinas (MELO et al., 2003). A ausência de galectina-3 em macrófagos compromete a atividade fagocítica (SANO et al., 2003). A ativação de macrófagos via a sinalização mediada por galectina-3 seria importante para a polarização destas células para o fenótipo M2 (MACHADO et al.,

2014). Dados também apontam para um papel de galectina-3 na ativação de linfócitos T. A galectina-3 é expressa por em vários subtipos de células T (PFOERTNER et al., 2006). Análises de *microarray* indicaram a expressão de galectina-3 na subpopulação de células T CD8, em resposta a *Yersinia pseudotuberculosis* (FAHRER et al., 2001). Em células de T CD4⁺ de memória observa-se aumento da expressão de galectina-3, quando comparado as células T *naïve* (HAINING et al., 2008), e a presença de RNAm para galectina-3 foi detectada em células T reguladoras (Tregs) (PFOERTNER et al., 2006).

Em relação ao papel de galectina-3 na ativação e/ou inibição das células T, dados indicam que a galectina-3 pode desempenhar papel negativo na ativação de células T, um processo que requer agrupamento de um número de receptores de células T (TCRs) no local de apresentação do antígeno. Quando a galectina-3 interage com glicanos modificados com Mgat5 na superfície das células T, restringindo o recrutamento do TCR para o local de apresentação de antígeno (DEMETRIOU et al., 2001), promovendo a anergia de células T. A galectina-3 induz a apoptose de células T, devido a sua ligação as moléculas CD45 e/ou CD71 (STILLMAN et al., 2006). A expressão de galectina-3 por linfócitos é induzida pelos sinais de ativação mediada pelo TCR e aumentada pelas citocinas IL-2, IL-4 e IL-7 (JOO et al., 2001). Em linfoma de células T, a galectina-3 desencadeia um influxo de Ca²⁺ que é bloqueado pela lactose, sugerindo que a galectina-3 liberada por outros tipos celulares como macrófagos também podem participar da sinalização de Ca²⁺ durante a ativação de células T (DONG E HUGHES, 1996).

Dentre as galectinas mais estudadas e relacionadas com o desenvolvimento tumoral destacam-se a galectina 1 e 3, estudos mostraram a importância dessas galectinas na progressão do câncer e metástase (LIU E CUMMINGS, 2009; SONG et al., 2014). A expressão de galectina-3 foi detectada em muitos tipos de tumores, como melanomas, astrocitomas e tumores da bexiga e de ovário. A expressão aumentada de galectina-3 geralmente está relacionada com a agressividade clínica do tumor e metástase (LIU E CUMMINGS, 2009). A galectina-1 pode promover a transformação maligna de células de glioma, contribuindo para a progressão tumoral (YAMAOKA et al., 2000). A galectina-1 correlacionar-se com o oncogênese RAS e a galectina-3 preferencialmente ao KRAS permitindo a ativação de RAF1 e PI3K (fosfatidilinositol 3-quinase) colaborando com ativação das vias de sinalização e a regulação da expressão do gene (PAZ et al., 2001; ELAD-SFADIA et al., 2004). Além disso, as galectinas podem contribuir para a metástase ligando-se as integrinas ou regulando a expressão destas. A galectina-7 promove um perfil metastático e

resistência a apoptose em câncer de mama, a galectina 4 e 8 podem contribuir para a adesão das células cancerígenas ao endotélio vascular e assim contribuindo para a metástase (BARROW et al., 2011; CAMPION et al., 2013).

A expressão da galectina-3 foi detectada em diversos tipos de tumores como tireoide, colón, pâncreas, mama, cabeça e pescoço (CATRONOVO et al., 1996; PERILLO et al., 1998; CHOUFANI et al., 1999; COLI et al., 2002). Estudos demonstraram que em células epiteliais de mama a galectina-3 induz uma variedade de genes associados a processos biológicos alterados em neoplasias, como os processos de invasão e proliferação celular (MAZUREK et al., 2005). O aumento da adesão das células tumorais à matriz extracelular, induzido pela galectina-3, pode ter um papel importante no mecanismo de invasão e metástases tumorais (MATARRESE et al., 2000). A presença de galectina-3 acelera o crescimento tumoral em melanomas e favorece a angiogênese associado ao tumor (MACHADO et al., 2014). Um estudo envolvendo o silenciamento da expressão da galectina-3 em células de melanoma resultou na perda da tumorigenicidade e metástase acompanhada de um comprometimento na angiogênese e diminuição da invasão. Os autores apontaram que a galectina-3 pode ser um alvo para a terapia do melanoma (MOURAD-ZEIDAN et al., 2008).

Em carcinoma espinocelular de língua foi demonstrado um aumento da expressão de galectina-3 no citoplasma de células epiteliais enquanto que a expressão nuclear diminuiu (HONJO et al., 2000). Avaliando a relação entre a expressão de galectina-3 e níveis de apoptose de células T em tecido de carcinoma de células renais e características clínicas e patológicas, os resultados sugerem que galectina-3 é um das moléculas alvo para modular o escape imunológico do carcinoma de células renais (TOMOHARU et al., 2008). Análises imuno-histoquímicas de galectina-3 e CD68 em biópsias de pacientes com carcinoma oral evidenciaram alta expressão de galectina-3 (WEBER et al., 2017). Dependendo do microambiente tumoral e localização da galectina-3 ela pode ter atividade pró ou antitumoral. Em carcinoma de células escamosas foi observada a diminuição dos níveis de galectina-3 ao passo que em melanoma foi observado um aumento destes níveis (PRIETO, 2006). Sendo galectina-3 associada com os mecanismos de invasão e metástase tumoral e com a migração de neutrófilos e macrófagos para o microambiente inflamatório estudos sugerem que o bloqueio da função da galectina-3 limite a metástase tumoral (HSU et al., 2000; KAPUCUOGLU et al., 2009; SONG et al., 2014). A expressão da galectina-3 foi relatada em carcinoma espinocelular e carcinoma basocelular e correlaciona-se com o grau de

diferenciação tumoral. Em amostras de carcinoma espinocelular há uma maior expressão do que em carcinoma basocelular (LARSEN et al., 2009; KAPUCUOGLU et al., 2009).

O câncer de pele é a neoplasia maligna mais comum no mundo e representa mais da metade dos diagnósticos de câncer (INCA, 2018). Os cânceres de pele podem ser de dois tipos: não melanoma e melanoma. O câncer de pele não melanoma é o tumor mais incidente no Brasil, com 165.580 novos casos, segundo estimativas do Instituto Nacional de Câncer (INCA, 2018). O câncer não melanoma, por sua vez, tem origem a partir das células epidérmicas, variando apenas a localização na camada da epiderme. Quando originado de células da camada basal da epiderme, resulta em carcinoma basocelular (CBC) e, se originado da camada espinhosa resulta no desenvolvimento de carcinoma espinocelular (CEC) (SIMÕES, SOUZA, PAIS, 2015). Assim, o termo câncer de pele não melanoma abrange, principalmente, o carcinoma basocelular e o espinocelular. Esses dois tumores malignos apresentam-se de forma diferente ao exame clínico e ao exame histopatológico (HOLMES, 2014). No entanto, ambos são muito parecidos quanto ao prognóstico: apresentam baixa letalidade, ou seja, raramente levam à morte e as metástases são raras (QUINN e PERKINS, 2010). O carcinoma espinocelular é segundo mais prevalente dentre todos os tipos de câncer (*Skin Cancer Foundation*, 2018). Pode se desenvolver em todas as partes do corpo como trato digestivo superior, pulmão, cavidade oral, língua, cavidade nasal, seios paranasais, laringe e faringe (incluindo a nasofaringe, orofaringe e hipofaringe), embora seja mais comum nas áreas expostas ao sol, como orelhas, rosto, couro cabeludo, pescoço (YAN et al., 2011).

O mecanismo envolvido na progressão tumoral do carcinoma espinocelular é desconhecido. Estudos recentes têm demonstrado que existe uma relação direta entre a resposta imune Th1-relacionados e um melhor prognóstico em pacientes com carcinoma espinocelular (SPARANO et al., 2004). Estes resultados levaram-nos a hipótese de que a resposta imune do tipo Th1 protetora contra o carcinoma espinocelular pode ser prejudicada por fatores endógenos (SHARMA et al., 1999; SPARANO et al., 2004; CHEN et al., 2009; CHOW et al., 2012) como por exemplo, galectina-3. A galectina-3 teria importante papel na polarização de macrófagos para o fenótipo M2, e estas células estariam associadas com a inibição de células T e, conseqüentemente, a progressão tumoral (MACKINNON et al., 2008; JIA et al., 2013). Assim, diante de tudo que foi descrito anteriormente e considerando a importância da galectina-3 nos fenômenos biológicos que podem influenciar na formação e progressão tumoral, o objetivo deste trabalho foi analisar se a ausência da sinalização de galectina-3 afeta o desenvolvimento do carcinoma espinocelular induzido quimicamente.

6 CONCLUSÃO

6 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos no presente estudo podemos concluir:

- 1) Os animais deficientes de galectina-3 apresentaram menor progressão tumoral lesões em comparação aos animais do grupo controle.

- 2) Os animais deficientes em galectina-3 apresentaram aumento na percentagem de células TCD4⁺, TCD8⁺, associada à diminuição de células B, dendríticas e macrófagos no microambiente tumoral. Dentro da população de macrófagos, os dados evidenciaram menor percentagem dos macrófagos M2 no microambiente tumoral.

- 3) Os animais deficientes em galectina-3 apresentaram baixos níveis de IL-10 no microambiente tumoral.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

Aaltomaa S, Lipponen P, Eskelinen M, Kosma VM, Marin S, Alhava E, Syrjänen K. Lymphocyte infiltrates as a prognostic variable in female breast cancer. *Eur J Cancer*. 1992;28(4-5):859-64.

Ahmad, N. Gabius, H.J. André, S. Kaltner, H. Sabesan, S. Roy R, et al. Galectin-3 precipitates as a pentamer with synthetic multivalent carbohydrates and forms heterogeneous cross-linked complexes *J. Biol. Chem*. 2004; 279(12): 10841-7.

Amôr, Nádia Ghinelli. Papel do receptor ST2 no desenvolvimento de carcinoma espinocelular induzido quimicamente [dissertação]. Bauru (SP):Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo; 2015.

Barondes SH, Castronovo V, Cooper DN, Cummings RD, Drickamer K, Feizi T, et al. Galectins: a family of animal beta-galactoside-binding lectins. *Cell*. 1994; 76(4): 597-8.

Barrow H, Rhodes JM, Yu LG. The role of galectins in colorectal cancer progression. *Int J Cancer*. 2011; 129(1):1-8.

Bartolazzi A, Bellotti C, Sciacchitano S. Methodology and technical requirements of the galectin-3 test for the preoperative characterization of thyroid nodules. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2012; 20(1):2-7.

Benchetrit F, Ciree A, Vives V, Warnier G, Gey A, Sautès-Fridman C, et al. Interleukin-17 inhibits tumor cell growth by means of a T-cell-dependent mechanism. *Blood*. 2002 Mar 15;99(6):2114-21.

Bonalumi JKR. Caracterização estrutural e avaliação de aspectos funcionais de galectinas humanas do grupo *tandem-repeat*. [Tese]. Ribeirão Preto: Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2014.

Boscher C, Dennis JW, Nabi IR. Glycosylation, galectins and cellular signaling. *Curr. Opin Cell Biol*. 2011; 23(4):383-392.

Buckman SY, Gresham A, Hale P, Hruza G, Anast J, Masferrer J, Pentland AP: COX-2 expression is induced by UVB exposure in human skin: Implications for the development of skin cancer. *Carcinogenesis*. 1998; 19:723–729.

Camp BJ, Dyhrman ST, Memoli VA, Mott LA, Barth RJ Jr. In situ cytokine production by breast cancer tumor-infiltrating lymphocytes. *Ann Surg Oncol*. 1996; 3:176-84.

Campion CG, Labrie M, Lavoie G, St-Pierre Y. Expression of galectin-7 is induced in breast cancer cells by mutant p53. *PLoS One*. 2013 Aug 14;8(8).

Castronovo V, Van Den Brûle 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(1):43-8.

Chan KS, Sano S, Kiguchi K, Anders J, Komazawa N, Takeda J, DiGiovanni J:Disruption of Stat3 reveals a critical role in both the initiation and the promotion stages of epithelial carcinogenesis. *J Clin Invest*.2004; 114:720–728.

Chaudhari AD, Gude RP2, Kalraiya RD, Chiplunkar SV. Endogenous galectin-3 expression levels modulate immune responses in galectin-3 transgenic mice. *Mol Immunol*. 2015 Dec;68(2 Pt A):300-11.

Chen HY, Fermin A, Vardhana S, Weng IC, Lo KF, Chang EY, et al. Galectin-3 negatively regulates TCR-mediated CD4+ T-cell activation at the immunological synapse. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Aug 25;106(34):14496-501.

Chiariotti L, Salvatore P, Frunzio R, Bruni CB. Galectin genes: regulation of expression. *Glycoconj J*. 2004; 19(7-9): 441–449.

Choufani G, Nagy N, Saussez S, Marchant H, Bisschop P, Burchert M, et al. The levels of expression of galectin-1, galectin-3, and Thomsen–Friedenreich antigen and their binding sites decrease as clinical aggressiveness increases in Head and Neck Cancers. *Cancer*. 1999; 86(11): 2353-2362.

Coli A, Bigotti G, Zucchetti F, Negro F, Massi G. Galectin-3, a marker of well-differentiated thyroid carcinoma, is expressed in thyroid nodules with cytological atypia. *Histopathology*. 2002; 40(1): 80-87.

Corthay A, Skovseth DK, Lundin KU, Røsjø E, Omholt H, Hofgaard PO, Haraldsen G, Bogen B. Primary antitumor immune response mediated by CD4+ T cells. *Immunity*. 2005 Mar;22(3):371-83.

Cui W, Fowlis DJ, Bryson S, Duffie E, Ireland H, Balmain, et al. TGFbeta1 inhibits the formation of benign skin tumors, but enhances progression to invasive spindle carcinomas in transgenic mice. *Cell*. 1996 Aug 23;86(4):531-42.

Danguy A, Camby I, Kiss R. Galectins and cancer. *Biochim Biophys Acta (BBA)*. 2002; (1572)2–3:285-293.

Demetriou M, Granovsky M, Quaggin S, Dennis JW. Negative regulation of T-cell activation and autoimmunity by Mgat5 N-glycosylation. *Nature*. 2001; 409(6821):733-9.

Demotte N, Wieërs G, Van Der Smissen P, Moser M, Schmidt C, Thielemans K, et al. A galectin-3 ligand corrects the impaired function of human CD4 and CD8 tumor-infiltrating lymphocytes and favors tumor rejection in mice. *Cancer Res*. 2010 Oct 1;70(19):7476-88.

Dings RPM, Miller MC, Griffin RJ, Mayo KH. Galectins as Molecular Targets for Therapeutic Intervention. *Int J Mol Sci*. 2018; 19(3): 905.

Dondoo TO, Fukumori T, kdaizumoto K, Fukawa T, Kohzuki M, Kowada M, et al. Galectin-3 Is Implicated in Tumor Progression and Resistance to Anti-androgen Drug Through Regulation of Androgen Receptor Signaling in Prostate Cancer. *Anticancer Research* January 2017; 37 (1): 125-134.

Dong S, Hughes RC. Galectin-3 stimulates uptake of extracellular Ca²⁺ in human Jurkat T-cells. *FEBS Lett*. 1996 Oct 21;395(2-3):165-9.

Dragomir A-CD, Sun R, Choi H, Laskin JD, Laskin DL. Role of Galectin-3 in Classical and Alternative Macrophage Activation in the Liver following Acetaminophen Intoxication. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 2012;189(12):5934-5941.

Drickamer K, Taylor ME. Biology of Animal Lectins. *Annu Rev Cell Biol*. 1993; 9:1, 237-264.

Du JW, Xu KY, Fang LY, Qi XL. Interleukin-17, produced by lymphocytes, promotes tumor growth and angiogenesis in a mouse model of breast cancer. *Mol Med Rep*. 2012 Nov;6(5):1099-102.

Edwards JP, Zhang X, Frauwirth KA, Mosser DM. Biochemical and functional characterization of three activated macrophage populations. *J Leukoc Biol*. 2006 Dec;80(6):1298-307.

Elad-Sfadia G, Haklai R, Ballan E, Gabius HJ, Kloog Y. Galectin-1 augments Ras activation and diverts Ras signals to Raf-1 at the expense of phosphoinositide 3-kinase. *J Biol Chem*. 2004; 277: 37169-37175.

Fahrer AM, Konigshofer Y, Kerr EM, Ghandour G, Mack DH, Davis MM, et al. Attributes of gammadelta intraepithelial lymphocytes as suggested by their transcriptional profile. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001; 98(18):10261-6.

Flotte TJ, Springer TA, Thorbecke GJ. Dendritic cell and macrophage staining by monoclonal antibodies in tissue sections and epidermal sheets. *Am. J. Pathol.* 1983; 111(1):112-24.

Fortuna-Costa A, Gomes AM1, Kozlowski EO1, Stelling MP1, Pavão MS. Extracellular galectin-3 in tumor progression and metastasis. *Front Oncol.* 2014; 16(4):138.

Gabius HJ. Animal lectins. *Eur J Biochem.* 1997; 243(3):543-76.

Ghosh P, Komschlies KL, Cippitelli M, Longo DL, Subleski J, Ye J, et al. Gradual loss of T-helper 1 populations in spleen of mice during progressive tumor growth. *J Natl Cancer Inst.* 1995 Oct 4;87(19):1478-83.

Girardi M, Oppenheim D, Glusac EJ, Filler R, Balmain A, Tigelaar RE, et al. Characterizing the protective component of the alphabeta T cell response to transplantable squamous cell carcinoma. *J Invest Dermatol.* 2004 Mar;122(3):699-706.

Goldstein IJ et al. *Chemical taxonomy molecular biology and function of plant lectin*. New York: R. Liss Incorp, 1983, p.225-36.

Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. Immunity, inflammation, and cancer. *Cell.* 2010 Mar 19;140(6):883-99.

Haines KA, Flotte TJ, Springer TA, Gigli I, Thorbecke GJ. Staining of Langerhans cells with monoclonal antibodies to macrophages and lymphoid cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1983; 80(11):3448-51.

Haining WN, Angelosanto J, Brosnahan K, Ross K, Hahn C, Russell K, Druryet K, et al. High-throughput gene expression profiling of memory differentiation in primary human T cells. *BMC Immunol.* 2008; 9:44.

He YF, Wang XH, Zhang GM, Chen HT, Zhang H, Feng ZH. Sustained low-level expression of interferon-gamma promotes tumor development: potential insights in tumor prevention and tumor immunotherapy. *Cancer Immunol Immunother.* 2005 Sep;54(9):891-7.

Holmes D. The cancer that rises with the sun. *Nature.* 2014 Nov 20;515(7527): S110-1.

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.

Hsu DK, Chernyavsky AI, Chen HY, Yu L, Grando SA, Liu FT. Endogenous galectin-3 is localized in membrane lipid rafts and regulates migration of dendritic cells. *J Invest Dermatol.* 2009b; 129:573–583.

Hsu DK, Yang RY, Pan Z, Yu L, Salomon DR, Fung-Leung WP, et al. Targeted disruption of the galectin-3 gene results in attenuated peritoneal inflammatory responses. *Am J Pathol.* 2000; 156(3):1073-83.

Hu HM, Urba WJ, Fox BA. Gene-modified tumor vaccine with therapeutic potential shifts tumor-specific T cell response from a type 2 to a type 1 cytokine profile. *J Immunol.* 1998 Sep 15;161(6):3033-41.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. Incidência do câncer no Brasil 2018.

Jia W, Kidoya H, Yamakawa D, Naito H, Takakura N. Galectin-3 Accelerates M2 Macrophage Infiltration and Angiogenesis in Tumors. *Am J Pathol.* 2013; 182(5): 1821-1831.

Jiang HR, A Rasebi Z, Mensah-Brown E, Shahin A, Xu D, Goodyear CS, Fukada SY, Liu FT, Liew FY, Lukic ML. Galectin-3 deficiency reduces the severity of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol.* 2009 Jan 15;182(2):1167-73.

Kadrofske MM, Openo KP, Wang JL. The human LGALS3 (galectin-3) gene: determination of the gene structure and functional characterization of the promoter. *Arch Biochem Biophys.* 1998; 349(1):7–20.

Kang Y, Siegel PM, Shu W, Drobnjak M, Kakonen SM, Cordon-Cardo C et al. . A multigenic program mediating breast cancer metastasis to bone. *Cancer Cell* 2003;3:537–549.

Kapucuoglu N, Basak PY, Bircan S, Sert S, Akkaya VB. Immunohistochemical galectin-3 expression in non-melanoma skin cancers. *Pathol Res Pract.* 2009; 205:97–103.

Kouo T, Huang L, Pucsek AB, Cao M, Solt S, Armstrong T, Jaffee E. Galectin-3 Shapes Antitumor Immune Responses by Suppressing CD8+ T Cells via LAG-3 and Inhibiting Expansion of Plasmacytoid Dendritic Cells. *Cancer Immunol Res.* 2015 Apr;3(4):412-23.

Krześlak A, Lipińska A. Galectin-3 as a multifunctional protein. *Cell Mol Biol Lett.* 2004; 9(2):305-28.

Lança T, Silva-Santos B. The split nature of tumor-infiltrating leukocytes Implications for cancer surveillance and immunotherapy. *Oncoimmunology*. 2012 Aug 1; 1(5): 717–725.

Landskron G, De la Fuente M, Thuwajit P, Thuwajit C, and Hermoso MA. Chronic Inflammation and Cytokines in the Tumor Microenvironment. *Journal of Immunology Research*. 2014; 19.

Larsen L, Chen HY, Saegusa J, Liu FT. Galectin-3 and the skin. *J Dermatol Sci*. 2011 Nov;64(2):85-91.

Lee PP, Zeng D, McCauley AE, Chen YF, Geiler C, Umetsu DT, et al. T helper 2-dominant antilymphoma immune response is associated with fatal outcome. *Blood*. 1997 Aug 15;90(4):1611-7.

Liener, IE, N. Sharon and I.J. Goldstein. In: Liener, I.E., N. Sharon and I.J. Goldstein (Eds.). *Thelectins*. Orlando: Academic Press. 1986; 529-55.

Lind MH, Rozell B, Wallin RP, van Hogerlinden M, Ljunggren HG, Toftgard R, Sur I. Tumor necrosis factor receptor 1-mediated signaling is required for skin cancer development induced by NF-kappaB inhibition. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004; 101:4972–4977.

Lis H, Sharon N. Protein glycosylation. Structural and functional aspects. *Eur J Biochem*. 1993; 218(1):1-27.

Liu FT, Rabinovich, GA. Galectins as modulators of tumour progression. *Cancer*. 2005; 5: 29-41.

Liu FT, Cummings RD. Galectins. In: Varki A, Cummings RD, Esko JD, et al., editors. *Essentials of Glycobiology*. 2nd edition. Cold Spring Harbor (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2009. Chapter 33.

Liu, FT. Molecular biology of IgE-binding protein, IgE-binding factors and IgE receptors. *Crit. Rev. Immunol*. 1990; 10:289–306.

Lotz MM, Andrews CW Jr, Korzelius CA, Lee EC, Steele GD Jr, Clarke A, et al. Decreased expression of Mac-2 (carbohydrate binding protein 35) and loss of its nuclear localization are associated with the neoplastic progression of colon carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993; 90(8):3466–3470.

Machado CM, Andrade LN, Teixeira VR, Costa FF, Melo CM, dos Santos SN, et al. Galectin-3 disruption impaired tumoral angiogenesis by reducing VEGF secretion from TGFβ1-induced macrophages. *Cancer Med*. 2014; 3(2):201-214.

MacKinnon AC, Farnworth SL, Hodgkinson PS, Henderson NC, Atkinson KM, Leffler H, et al. Regulation of alternative macrophage activation by galectin-3. *J Immunol*. 2008 Feb 15;180(4):2650-8.

Mackinnon AC, Gibbons MA, Farnworth SL, Leffler H, Nilsson UJ, Delaine T, et al. Regulation of transforming growth factor- β 1-driven lung fibrosis by galectin-3. *Am J Respir Crit Care Med*. 2012 Mar 1;185(5):537-46.

Mannino MH, Zhu Z, Xiao H, Bai Q, Wakefield MR, Fang Y. The paradoxical role of IL-10 in immunity and cancer. *Cancer Lett*. 2015 Oct 28;367(2):103-7.

Mantovani A, Bottazzi B, Colotta F, Sozzani S, Ruco L. The origin and function of tumor-associated macrophages. *Immunol Today*. 1992 Jul;13(7):265-70.

Mantovani A, Sica A, Sozzani S, Allavena P, Vecchi A, Locati M. The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. *Trends Immunol*. 2004 Dec;25(12):677-86.

Manzano AC, Altemani A, Martins AS, Del Negro A, Tincani AJ. Caracterização imunohistoquímica do infiltrado linfocitário em biópsia de carcinoma espinocelular da língua e soalho oral e sua implicação prognostica. *Rev Bras Cir Cabeça Pescoço*. 2010; 39:270-6.

Martin M, Wei H, Lu T. Targeting microenvironment in cancer therapeutics. *Oncotarget*. 2016 Aug 9; 7(32):52575–52583.

Martin-Orozco N, Muranski P, Chung Y, Yang XO, Yamazaki T, Lu S, Hwu P, et al. T helper 17 cells promote cytotoxic T cell activation in tumor immunity. *Immunity*. 2009 Nov 20;31(5):787-98.

Massagué J. TGF β in Cancer. *Cell*. 2008 Jul 25;134(2):215-30.

Massagué J. TGF β signalling in context. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2012 Oct;13(10):616-30.

Matarrese P, Fusco O, Tinari N, Natoli C, Liu FT, Semeraro ML, et al. Galectin-3 overexpression protects from apoptosis by improving cell adhesion properties. *Int J Cancer*. 2000; 85(4):545-54.

Mazurek N, Sun YJ, Price JE, Ramdas L, Schober W, Nangia-Makker P, et al. Phosphorylation of galectin-3 contributes to malignant transformation of human epithelial cells via modulation of unique sets of genes. *Cancer Res*. 2005; 65(23):10767-75.

Melo F.H.M.; Junqueira M.S.; Chammas R. Mecanismos de Invasão e Metástases. In: FRG, Kowalski LP, Brentani MM. Bases da Oncologia. 2^a ed. São Paulo: Tedmed Editora; 201-226, 2003.

Moore RJ, Owens DM, Stamp G, Arnott C, Burke F, East N, et al. Mice deficient in tumor necrosis factor-alpha are resistant to skin carcinogenesis. *Nat Med*. 1999 Jul;5(7):828-31.

Mourad-Zeidan AA, Melnikova VO, 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. *Am J Pathol*. 2008 Dec;173(6):1839-52.

Muranski P, Boni A, Antony PA, Cassard L, Irvine KR, Kaiser A, et al. Tumor-specific Th17-polarized cells eradicate large established melanoma. *Blood*. 2008 Jul 15;112(2):362-73.

Nakahara S, Oka N, Raz A. On the role of galectin-3 in cancer apoptosis. *Apoptosis*. 2005; 10(2):267-275.

Numasaki M, Watanabe M, Suzuki T, Takahashi H, Nakamura A, McAllister F, et al. IL-17 enhances the net angiogenic activity and in vivo growth of human non-small cell lung cancer in SCID mice through promoting CXCR-2-dependent angiogenesis. *J Immunol*. 2005 Nov 1;175(9):6177-89.

Ochieng J, Furtak V, Lukyanov P. Extracellular functions of galectin-3. *Glycoconj J*. 2004; 19(7-9):527-35.

Onuchic AC, Chammas R. Câncer e o microambiente tumoral. *Revista De Medicina*. 20 89(1), 21-31.

Owen, LN, Steel GG. The growth and cell population kinetics of spontaneous tumours in domestic animals. *Br J Cancer*. 1969 Sep; 23(3): 493-509.

Pacis RA, Pilat MJ, Pienta KJ, Wojno K, Raz A, Hogan V, et al. Decreased galectin-3 expression in prostate cancer. *Prostate*. 2000; 44(2):118-23.

Paz A, Haklai R, Elad-Sfadia G, Ballan E, Kloog Y. Galectin-1 binds oncogenic H-Ras to mediate Ras membrane anchorage and cell transformation. *Oncogene*. 2001 Nov 8;20(51):7486-93.

Peng W, Wang HY, Miyahara Y, Peng G, Wang RF. Tumor-associated galectin-3 modulates the function of tumor-reactive T cells. *Cancer Res*. 2008 Sep 1;68(17):7228-36.

Perales MA, Wolchok JD. CD4 Help and Tumor Immunity: Beyond the Activation of Cytotoxic T Lymphocytes. *Annals of Surgical Oncology*. 2004; 11(10):881–882.

Pereira JX, Azeredo MCB, Martins FS, Chammas R, Oliveira FL, Santos SN, et al. The deficiency of galectin-3 in stromal cells leads to enhanced tumor growth and bone marrow metastasis. *BMC Cancer*. 2016; 16:636.

Perillo NL, Marcus ME, Baum LG. Galectins versatile modulators of cell adhesion, cell proliferation, and cell death. *J Mol Med (Berl)*. 1998; 76(6):402-412.

Petrovic S, Radosavljevic GD, Pantic J, Jovanovic I, Jankovic N, Arsenijevic N. Circulating and tissue galectin-1 and galectin-3 in colorectal carcinoma: association with clinicopathological parameters, serum CEA, IL-17 and IL23. *J BUON*. 2016; 21(4):941-949.

Pfoertner S, Jeron A, Probst-Kepper M, Guzman CA, Hansen W, Westendorf AM. Signatures of human regulatory T cells: an encounter with old friends and new players. *Genome Biol*. 2006; 7(7): R54.

Plzák J, Smetana K Jr, Hrdlicková E, Kodet R, Holíková Z, Liu FT, et al. Expression of galectin-3-reactive ligands in squamous cancer and normal epithelial cells as a marker of differentiation. *Int J Oncol*. 2001 Jul;19(1): 59-64.

Pollard JW. Tumour-educated macrophages promote tumour progression and metastasis. *Nat Rev Cancer*. 2004 Jan;4(1):71-8.

Prieto VG, Mourad-Zeidan AA, Melnikova V, Johnson MM, Lopez A, Diwan AH, et al. Galectin-3 expression is associated with tumor progression and pattern of sun exposure in melanoma. *Clin Cancer Res*. 2006; 12(22):6709-15.

Quinn AG, Perkins W. Non-melanoma skin cancer and other epidermal skin tumors. In: Burns T, Breathnach S, Cox N, Griffiths C, editors. *Rook's textbook of dermatology*. 8th ed. Oxford: Blackwell Publishing; 2010. p. 52.1.

Rabinovich, GA., Toscano, MA., Jackson, SS., Vasta, GR. Functions of cell surface galectin-glycoprotein lattices. *Current opinion in structural biology*. 2007; 17(5), 513-20.

Rabinovich GA. Galectin-1 as a potential cancer target. *Br J Cancer*. 2005 Apr 11; 92(7): 1188–1192.

Rabinovich, GA. Galectins: an evolutionarily conserved family of animal lectins with multifunctional properties; a trip from the gene to clinical therapy. *Cell Death Differ*. 1999; 6(8):711-21.

Rini JM, Lobsanov YD. New animal lectin structures. *Curr Opin Struct Biol.* 1999; 9(5):578-84.

Ruvolo PP. Galectin 3 as a guardian of the tumor microenvironment. *Biochim Biophys Acta.* 2016 Mar;1863(3):427-437.

Saegusa J, Hsu DK, Chen HY, Yu L, Fermin A, Fung MA, Liu FT. Galectin-3 is critical for the development of the allergic inflammatory response in a mouse model of atopic dermatitis. *Am J Pathol.* 2009; 174:922–931.

Saggiorato E, Aversa S, Deandreis D, Arecco F, Mussa A, Puligheddu B, et al. Galectin-3: presurgical marker of thyroid follicular epithelial cell-derived carcinoma. *J Endocrinol Invest.* 2004, 27(4):311-7.

Sallusto F. Heterogeneity of Human CD4(+) T Cells Against Microbes. *Annu Rev Immunol.* 2016 May 20;34:317-34.

Sano H, Hsu DK, Yu L, Apgar JR, Kuwabara I, Yamanaka T, et al. Human galectin-3 is a novel chemoattractant for monocytes and macrophages. *J Immunol.* 2000; 165(4):2156-64.

Schoenberger SP, Jonges LE, Mooijaart RJ, Hartgers F, Toes RE, Kast WM, Melief CJ, Offringa R. Efficient direct priming of tumor-specific cytotoxic T lymphocyte in vivo by an engineered APC. *Cancer Res.* 1998 Jul 15;58(14):3094-100.

Schoenberger SP, Toes RE, van der Voort EI, Offringa R, Melief CJ. T-cell help for cytotoxic T lymphocytes is mediated by CD40-CD40L interactions. *Nature.* 1998 Jun 4;393(6684):480-3.

Sciacchitano S, Lavra L, Morgante A, Ulivieri A, Magi F, De Francesco GP, et al. Galectin-3: One Molecule for an Alphabet of Diseases, from A to Z. *Int J Mol Sci.* 2018; 19(2):379.

Sharma S, Stolina M, Lin Y, Gardner B, Miller PW, Kronenberg M, Dubinett SM. T cell-derived IL-10 promotes lung cancer growth by suppressing both T cell and APC function. *J Immunol.* 1999 Nov 1;163(9):5020-8.

Sharon N, Lis H. Lectins: cell-agglutinating and sugar-specific proteins. *Science.* 1972; 177(4053):949-59.

Sharon N, Lis H. History of lectins: from hemagglutinins to biological recognition molecules, *Glycobiology.* 2004; 14(11):53R–62R.

Shimura T, Shibata M, Gonda K, et al. Association between circulating galectin-3 levels and the immunological, inflammatory and nutritional parameters in patients with colorectal cancer. *Biomedical Reports*. 2016;5(2):203-207.

Shimura T, Takenaka Y, Tsutsumi S, Hogan V, Kikuchi A, Raz A. Galectin-3, a novel binding partner of χ -catenin. *Cancer Res*. 2004; 64: 6363-7.

Sica A, Allavena P, Mantovani A. Cancer related inflammation: the macrophage connection. *Cancer Lett*. 2008 Aug 28;267(2):204-15.

Simões MCF, Sousa JJS, Pais AACC. Skin cancer and new treatment perspectives: a review. *Cancer Lett*. 2015 Feb 1;357(1):8-42.

Skin Cancer Foundation, 2018.

Song L, Tang JW, Owusu L, Sun MZ, Wu J, Zhang J. Galectin-3 in cancer. *Clin Chim Acta*. 2014 Apr 20; 431:185-91.

Sparano A, Lathers DM, Achille N, Petruzzelli GJ, Young MR. Modulation of Th1 and Th2 cytokine profiles and their association with advanced head and neck squamous cell carcinoma. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2004 Nov;131(5):573-6.

Stillman BN, Hsu DK, Pang M, Brewer CF, Johnson P, Liu F-T, Baum LG. Galectin-3 and galectin-1 bind distinct cell surface glycoprotein receptors to induce T cell death. *J Immunol*. 2006; 176(2):778-89.

Stillmark H. Über, ein giftiges Ferment aus den Samen von Ricinus comm. L. und einigen anderen Euphorbiaceen. *Aierbeten des Pharma Inst zu Dorpat*. 1888; 3:59-151.

Stowell SR, Qian Y, Karmakar S, Koyama NS, Dias-Baruffi M, Leffler H, et al. Differential Roles of Galectin-1 and Galectin-3 in Regulating Leukocyte Viability and Cytokine Secretion. *J Immunol* March 1, 2008, 180 (5) 3091-3102.

Suganuma M, Okabe S, Marino MW, Sakai A, Sueoka E, Fujiki H. Essential role of tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) in tumor promotion as revealed by TNF-alpha-deficient mice. *Cancer Res*. 1999 Sep 15;59(18):4516-8.

Tian B, Li X, Kalita M, Widen SG, Yang J, Bhavnani SK, et al. Analysis of the TGF β -induced program in primary airway epithelial cells shows essential role of NF- κ B/RelA signaling network in type II epithelial mesenchymal transition. *BMC Genomics*. 2015 Jul 18; 16:529.

Tomoharu F, Natsuo O, Hirofumi I, Masayuki T, Hiro-omi K. Galectin-3 is overexpressed in renal cell carcinoma and it regulates immune suppression through the induction of apoptosis of T cells. *J Urol*. 2008; 4:179.

Truong MJ, Gruart V, Liu FT, Prin L, Capron A, Capron M. IgE-binding molecules (Mac-2/epsilon BP) expressed by human eosinophils. Implication in IgE-dependent eosinophil cytotoxicity. *Eur J Immunol*. 1993; 23(12):3230-5.

Tseng P-C, Chen C-L, Shan Y-S, Lin C-F. An increase in galectin-3 causes cellular unresponsiveness to IFN- γ -induced signal transduction and growth inhibition in gastric cancer cells. *Oncotarget*. 2016;7(12):15150-15160.

Volarevic V, Milovanovic M, Ljubic B, Pejnovic N, Arsenijevic N, Nilsson U, Leffler H, Lukic ML. Galectin-3 deficiency prevents concanavalin A-induced hepatitis in mice. *Hepatology*. 2012 Jun;55(6):1954-64.

Weber M, Büttner-Herold M, Distel L, Ries J, Moebius P, Preid R, et al. Galectin 3 expression in primary oral squamous cell carcinomas. *BMC Cancer*. 2017; 17: 906.

Wu SY, Yu JS, Liu FT, Miaw SC, Wu-Hsieh BA. Galectin-3 negatively regulates dendritic cell production of IL-23/IL-17-axis cytokines in infection by *Histoplasma capsulatum*. *J Immunol*. 2013 Apr 1;190(7):3427-37.

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 9 glioma cells. *J Neurosci Res*. 2000 Mar 15;59(6):722-30.

Yan W, Wistuba II, Emmert-Buck MR, Erickson HS. Squamous Cell Carcinoma - Similarities and Differences among Anatomical Sites. *Am J Cancer Res*. 2011 Jan 1;1(3):275-300.

Yang RY, Hsu DK, Liu FT. Expression of galectin-3 modulates T-cell growth and apoptosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1996; 93(13):6737-42.

Yang RY, Liu FT. Galectins in cell growth and apoptosis. *Cell. Mol. Life Sci*. 2003; 60:267–276.

Yin JJ, Selander K, Chirgwin JM, Dallas M, Grubbs BG, Wieser R et al. TGF-beta signaling blockade inhibits PTHrP secretion by breast cancer cells and bone metastases development. *J Clin Invest* 1999; 103:197–206.

Zuberi RI, Hsu DK, Kalayci O, Chen HY, Sheldon HK, Yu L, Apgar JR, Kawakami T, Lilly CM, Liu FT. Critical role for galectin-3 in airway inflammation and bronchial hyperresponsiveness in a murine model of asthma. *Am J Pathol.* 2004 Dec;165(6):2045-53.