

Avaliação das Células do Infiltrado Inflamatório Peritumoral dos Carcinomas Espinocelulares de Boca

Evaluation of Tumor Infiltrating Lymphocyte in Oral Squamous Cell Carcinoma

Anna Cecilia M. Chaves*
Luciana Ramalho**
Manoel Sant'Ana Filho***

RESUMO

O presente trabalho utilizou-se anticorpos monoclonais para a caracterização das células de defesa do sistema imunológico presentes no infiltrado inflamatório peritumoral em carcinomas espinocelulares de boca e sua relação com o grau histológico de malignidade dos tumores. Acredita-se que alterações no número ou na função destas células poderiam influenciar a progressão de um tumor maligno. Observou-se que qualitativamente, a resposta imunológica presente na região dos carcinomas espinocelulares de boca estudados, caracterizou-se pela presença de células de todas as linhagens avaliadas, porém os testes estatísticos demonstraram que apenas os linfócitos T auxiliares estavam relacionados com o grau histológico de malignidade dos tumores avaliados. Através de nossos resultados concluímos que os distúrbio no balanço do sistema imunológico não se relacionam necessariamente com o número de células de defesa presentes, freqüentemente são resultantes de falha na função, regulação, ou na migração de uma população das células do sistema imune para o local do tumor.

PALAVRAS-CHAVES

Carcinoma Espinocelular, Sistema imune, Imunohistoquímica

INTRODUÇÃO

O campo da imunologia tumoral tem sido amplamente estudado nos últimos anos. Na tentativa de entender os mecanismos utilizados pelo sistema imunológico para destruição dos tumores, vários pesquisadores avaliaram o conteúdo do infiltrado linfocítico peritumoral de neoplasias, entre elas, as neoplasias malignas de cabeça e pescoço. Estes autores acreditam que a distribuição e a função das células presentes nesse infiltrado linfocítico peritumoral represente um reflexo preciso da ação das defesas imunológicas do hospedeiro. Alterações no número ou na função destas células poderiam, potencialmente, influenciar consideravelmente a progressão de um tumor (HARABUCHI *et al.* 1985; WOLF *et al.* 1986; SLOOTWEG *et al.* 1994).

A capacidade do sistema imunológico de detectar e destruir as células tumorais é conhecida como "supervisão imunológica" (KUMAR *et al.* 1992; JANEWAY *et al.* 2000). Este sistema de regulação envolve uma variedade de células e mediadores celulares e também vários mecanismos imunossupressores ou inibitórios e mecanismos imunostimuladores (HARABUCHI *et al.* 1985; BALARAM e MEENATTOOR, 1996). Apesar de estudos experimentais terem demonstrado a existência de antígenos que produziram uma resposta imunológica em tumores induzidos e em alguns cânceres humanos, Janeway *et al.* (2000) relata que a

maioria dos tumores mostra pouca evidência de controle imunológico, ou seja, o tumor desenvolve mecanismos de escape (ROITT *et al.* 1993, WENIG, 1999).

Estes mecanismos de escape das células tumorais da vigilância e da resposta do sistema imune são facilitados por diferentes mecanismos, que agem individualmente ou em diferentes combinações. Segundo Abbas *et al.* (1994) e Janeway *et al.* (2000), os tumores provavelmente não possuem peptídeos antigênicos distintos ou não possuem moléculas de adesão ou co-estimuladoras necessárias para desencadear uma resposta primária das células T, ou ainda, podem produzir citocinas imunossupressoras que comprometeriam a resposta imunológica. Outros mecanismos pelos quais os tumores podem evitar o ataque imune ou evadir-se dele, é por meio da geração de mutantes de escape.

Estudos experimentais demonstraram que quando um tumor perde a expressão de todas as moléculas MHC (complexo de histocompatibilidade maior) de classe I, não pode ser reconhecido pelas células T citotóxicas (CD8), embora possa tornar-se suscetível às células "Natural Killers" (NK). Porém os tumores que perdem somente uma molécula MHC de classe I podem ser capazes de evitar o reconhecimento pelas moléculas T CD8 citotóxicas específicas, continuando resistentes às células NK, conferindo-lhes uma vantagem seletiva *in vivo*

(JANEWAY *et al.* 2000).

Cruz *et al.* (1999) em um estudo onde avaliaram a expressão de moléculas MHC classe I em carcinomas de boca, observaram que a maioria dos carcinomas apresentaram expressão diminuída ou ausente de moléculas MHC classe I na superfície celular, caracterizando o possível mecanismo de evasão imunológica utilizado pelas células tumorais. Estes achados foram suportados pela observação de um número muito pequeno de células T citotóxicas (CD8) e NK ativadas.

No presente trabalho, utilizou-se anticorpos monoclonais para a caracterização das células de defesa do sistema imunológico presentes no infiltrado inflamatório peritumoral em carcinomas espinocelulares de boca e sua relação com o grau histológico de malignidade dos tumores.

METODOLOGIA

População e Amostra

Trinta casos de carcinomas espinocelulares de boca diagnosticados no Serviço de Estomatologia do Hospital São Lucas, da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul e no Hospital Santa Rita, da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre foram incluídos no estudo. Dos 30 casos, 22 apresentavam baixo grau histológico de malignidade, e oito alto grau histológico de malignidade, de acordo com o sistema

* Doutora em Odontologia, Mestre em Cirurgia e Traumatologia Bucocomaxilofacial.

** Doutora em Odontologia, Coordenadora do Curso de Mestrado em Odontologia da UFBA, Professora de Patologia da Universidade Federal da Bahia.

*** Doutor em Odontologia, Professor de Patologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

de graduação proposto por Anneroth *et al.* (1987).

Após a biópsia incisional, as peças foram imediatamente fixadas em formalina a 10% por um período de tempo de 24 horas. Em seguida foram emblocadas em parafina. Foram obtidos cortes de 5mm de espessura os quais foram processados rotineiramente para a coloração por Hematoxilina e Eosina. As lâminas foram avaliadas por um único examinador, e graduadas de acordo com o sistema de graduação de malignidade proposto por Anneroth *et al.* (1987).

Os mesmos blocos de parafina utilizados para fazer a graduação histológica de malignidade, foram processados cortes de 5mm de espessura para a coloração imunohistoquímica, de acordo com a técnica preconizada por Ramalho (2000), Oliveira *et al.* (2000) e Alves *et al.* (1999).

O propósito foi a identificação de seis tipos específicos de células: os linfócitos T de memória (CD45RO), linfócitos T auxiliares (CD4), os linfócitos T citotóxicos (CD8), os linfócitos B e macrófagos. Para tal, foram utilizados os anticorpos anti-CD20 para linfócito B, anti-CD45RO para linfócito T de memória, anti-CD68 para macrófagos, anti-CD8 para linfócito T citotóxico e anti-CD4 para linfócito T auxiliar e anti-CD57 para células "natural killers" (NK) por meio da coloração imunohistoquímica pelo método da streptoavidina-biotina. Os procedimentos de imunohistoquímica foram realizados nos laboratórios do *Armed Forces Institute of Pathology* (Washington D.C.).

Contagem das células

Para a quantificação das células marcadas positivamente, utilizou-se microscópio óptico binocular (Zeiss-Standard 20) na objetiva de 40x, acoplado ao programa IMAGELAB (Sistema de processamento e análise de Imagens/Softium sistema de informática - São Paulo, Brasil). Em cada lâmina foram escolhidos 4 campos, examinados sempre da esquerda para a direita, na periferia do tumor, onde foi avaliada a subpopulação de linfócitos presente no infiltrado linfocítico peritumoral. Na figura 1 observa-se um exemplo de marcação imunohistoquímica para linfócito T CD4, e na figura 2, marcação imunohistoquímica para macrófagos (CD68).

Os resultados obtidos foram tabulados e analisados através dos testes não-paramétricos de Mann-Whitney (5% de significância) e do Coeficiente de Correlação de Pearson.

RESULTADOS

Os dados clínicos e histopatológicos foram resgatados das fichas dos pacientes e submetidos à análise estatística descritiva para caracterização da amostra como de-

Anticorpos	Diluição	Controle positivo
Anticorpo monoclonal anti-CD4 (NOVOCASTRA) clone 1F6	1:40	tonsila
Anticorpo monoclonal anti-CD8 (DAKO) clone C8/144B	1:40	tonsila
Anticorpo monoclonal anti- CD45RO (DAKO) clone OPD4	1:50	tonsila
Anticorpo monoclonal anti-CD20 (DAKO) clone L26	1:100	tonsila
Anticorpo monoclonal anti-Leu7 (DAKO) clone NK1	1:50	tonsila
Anticorpo monoclonal anti-CD68 (DAKO) clone KP1	1:100	tonsila

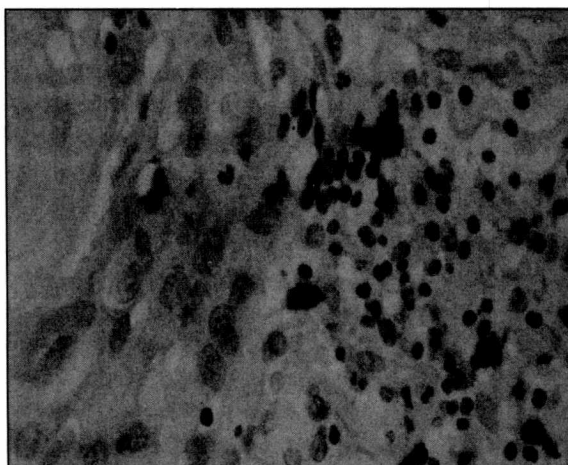


Figura 1 – Fotomicrografia de carcinoma espinocelular marcado pela técnica de imunohistoquímica com anticorpo anti-CD4 (aumento de 400X).

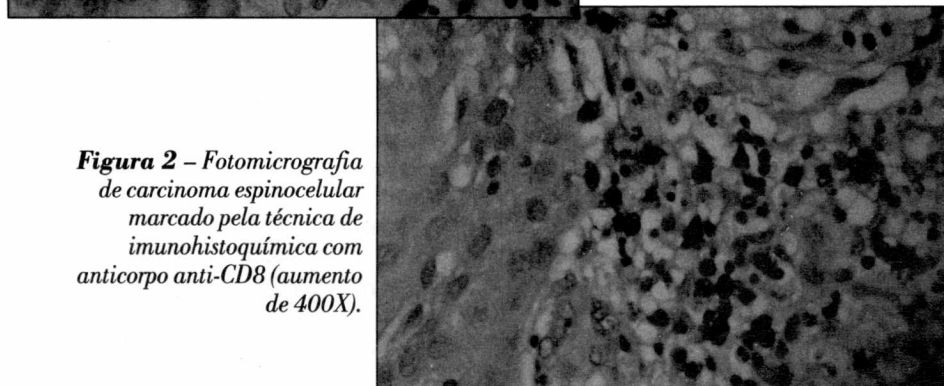


Figura 2 – Fotomicrografia de carcinoma espinocelular marcado pela técnica de imunohistoquímica com anticorpo anti-CD8 (aumento de 400X).

monstrado na tabela 1.

Foram observados no estroma na periferia das ilhas tumorais um número variado de células inflamatórias mononucleares com marcação positiva, incluindo linfócitos T

CD45RO, T CD4, T CD8, células B e macrófagos, além de escassas células NK. A tabela 2 demonstra a mediana das células avaliadas.

Tabela 1. Descrição da amostra estudada			
	Variáveis	Número de Casos	%
Sexo	Masculino	25	83,3
	Feminino	5	16,7
Raça	Caucasóide	21	70,0
	Negróide	4	13,3
	Não especificada	5	16,7
Grau histológico de malignidade do Tumor	Baixo	22	73,3
	Alto	8	26,7

Tabela 2. Estatísticas Descritivas – Contagem das células					
Célula	Número de campos	Mínimo	Máximo	Mediana	Desvio-padrão
CD4	30	13	160	67,00	36,19
CD8	30	17	217	89,00	45,64
CD20	29	12	213	75,00	48,18
CD45RO	29	17	173	94,00	39,70
CD57	11	5	41	15,00	10,00
CD68	29	13	73	31,00	16,53

O grau de infiltração do estroma tumoral foi sempre maior do que o do parênquima, sendo que teste de comparações de médias t-student demonstrou haver diferença estatisticamente significativa nas duas localizações, para as células CD8, CD45RO e CD68 ($p=0,01$) (tabela 3). O estroma peritumoral apresentava grande grupo de células ou agregados de células enquanto o infiltrado inflamatório do parênquima era composto de células individuais circundadas por células malignas.

Quando avaliamos as células do infiltrado inflamatório peritumoral, por meio do Coeficiente de Correlação de Pearson, constatamos a ausência de relação significativa entre os diferentes tipos celulares com a idade dos pacientes ($p>0,05$). Com o objetivo de comparar as células do infiltrado inflamatório peritumoral com o sexo, a raça dos pacientes e o grau histológico de malignidade dos tumores, foi realizado o teste não-paramétrico de Mann-Whitney. Observa-se através desse teste que não ocorreram diferenças estatisticamente significativas para nenhum tipo de célula nem entre os sexos, nem entre as raças ($p=0,05$). Quando comparamos a contagem das células inflamatórias positivas com o grau histológico de malignidade, observamos que entre todos os tipos celulares, apenas as células CD4 apresentaram uma contagem superior para os casos em que o grau histológico de malignidade era alto ($p=0,05$), como demonstrado na tabela 4 e no gráfico 1.

Foi feita uma análise de correlação entre as células inflamatórias encontradas por meio do Coeficiente de Correlação de Pearson, por meio da qual verificou-se relações significativas entre as variáveis correlacionadas. Na maioria das correlações demonstradas na tabela 5, foi encontrada correlação direta, ou seja, quanto maior uma variável, maior tende a ser a outra. Para as células CD57 e CD45RO observou-se uma correlação inversa, ou seja, a medida que uma aumenta a outra diminui.

DISCUSSÃO

Após avaliação dos dados, observamos que qualitativamente, a resposta imunológica presente na região dos carcinomas espinocelulares de boca estudados, se caracterizou pela presença de células de todas as linhagens avaliadas, sugerindo a ocorrência de imunoreação à presença do tumor maligno, como sugerido por Stephens *et al.* (1998).

Os nossos resultados concordaram com os relatos de Rabin *et al.* (1984), Harabuchi *et al.* (1985), Ogawa *et al.* (1987) e Hirota *et al.* (1990), que encontraram a presença predominante de linfócitos T, em espécimes de biópsia de carcinomas espinocelulares de

Tabela 3. Estatísticas Descritivas – Contagem das células – Comparação

Célula	Número de células positivas	Média	Desvio-padrão	p
CD4				
Estroma	30	75,03	36,19	-
Parênquima	1	20,00	-	
CD8				
Estroma	30	93,63	45,64	0,01
Parênquima	22	29,14	18,32	
CD20				
Estroma	29	87,00	48,18	-
Parênquima	2	28,50	20,51	
CD45RO				
Estroma	29	95,45	39,70	0,01
Parênquima	20	24,35	8,95	
CD57				
Estroma	11	16,18	10,00	-
Parênquima	-	-	-	
CD68				
Estroma	29	36,86	16,53	0,01
Parênquima	23	20,26	9,44	

Gráfico 1 – Total de células inflamatórias positivas dependendo do grau histológico de malignidade

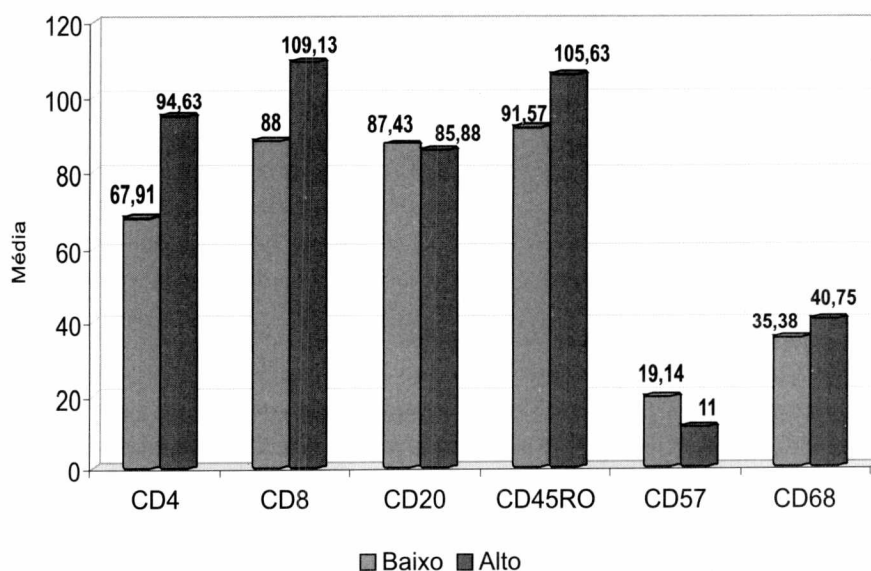


Tabela 4. Média dos valores nos diferentes tipos celulares avaliados em relação ao grau histológico de malignidade

Célula	Grau Histológico de Malignidade		p
	Baixo	Alto	
CD4	67,91	94,63	0,05*
CD8	88,00	109,13	0,20
CD20	87,43	85,88	0,61
CD45RO	91,57	105,63	0,46
CD57	19,14	11,00	0,23
CD68	35,38	40,75	0,58

Tabela 5. Resultados significativos da Análise de Correlação entre as medidas

Correlação	Coefficiente de Correlação de Pearson	p
CD4 X CD8	0,606	0,01
CD8 X CD45RO	0,498	0,01
CD4 X CD45RO	0,617	0,01
CD68 X CD45RO	0,450	0,02
CD4 X CD68	0,684	0,01
CD8 X CD68	0,609	0,01
CD57XCD45RO	-0,694	0,02

cabeca e pescoço. Essas células foram observadas tanto no estroma quanto no tecido tumoral, sendo que o grau de infiltração do estroma foi sempre maior do que a infiltração do parênquima, concordando com os achados de Wolf *et al.* (1986). Os linfócitos observados no estroma estavam concentrados na periferia do tumor, indo ao encontro dos achados de Rabin *et al.* (1984). Esses achados correspondem a relatos anteriores que sugerem que as células T são um mediador crítico da imunidade tumoral (WOLF *et al.* 1986; ROBBINS *et al.* 1994; JANEWAY *et al.* 2000).

Quando avaliamos quantitativamente as células do infiltrado inflamatório, apesar de observarmos um número razoável de linfócitos T CD4, T CD8, T CD45RO, linfócitos B e macrófagos, os testes estatísticos demonstraram que apenas os linfócitos T auxiliares estavam relacionados com o grau histológico de malignidade dos tumores avaliados.

Nossos achados vão ao encontro dos resultados observados por Wolf *et al.* (1986) que sugerem que o crescimento progressivo de um tumor esteja associado com uma falha na função, ou na regulação de uma população de células T CD4 para o local do tumor. Da mesma maneira, Balaram e Meenattoor (1996) relatam que uma alteração no número ou na função das células efectoras mais importantes do sistema imune que seriam os linfócitos T, as células NK e os macrófagos, poderia influenciar profundamente a progressão de um tumor. Estes mesmos autores relatam que testes *in vitro* demonstraram que a capacidade dos linfócitos responderem a antígenos e mitógenos e produzirem linfocinas apresentava-se prejudicada tanto nas lesões cancerizáveis quanto em carcinomas de cabeça e pescoço.

A primeira hipótese formulada para tentar justificar a relação entre os linfócitos T CD4 com o grau histológico de malignidade aumento do número de células T auxiliares (CD4) nos tumores de alto grau histológico de malignidade, em relação às outras células avaliadas, baseia-se nos relatos de Wolf *et al.* (1986) em que o acúmulo de células T CD4 na periferia do tumor e infiltrando o parênquima tumoral, estaria refletindo um falha importante na resposta imunológica do hospedeiro ao tumor. Este defeito qualitativo, pode ser resultado de uma redução das células de Langerhans, que são células dendríticas apresentadoras de antígeno, como demonstrado por Sant'ana Filho (1995). Sant'ana Filho (1995) observou uma redução significativa das células de Langerhans nas regiões de carcinomas espinocelulares e displasias de boca quando comparados a papilomas, sugerindo a ocorrência de uma diminuição da resposta imunológica em pacientes com carcinoma espinocelular, sendo

que o distúrbio se restringia a área onde se desenvolve a neoplasia e não em toda a mucosa.

Este mecanismo poderia explicar o fato de termos obtido resultados semelhantes aos descritos por Oliveira *et al.* (2000) que analisaram quantitativamente as células do infiltrado inflamatório do liquen plano bucal, que é uma doença inflamatória crônica, caracterizada como uma patologia imunológica mediada por células T. O fato do infiltrado inflamatório presente em uma doença inflamatória crônica onde há franca destruição do epitélio bucal pelo sistema imunológico, ser semelhante ao observado nos tumores malignos avaliados, ou seja, presença de linfócitos T de memória, linfócitos T CD4, T CD8, alguns macrófagos e linfócitos B, reforça a suspeita de que a resposta imunológica aos tumores malignos não está sendo efetiva.

Quanto ao papel dos linfócitos T CD8, os quais não apresentaram relação com o grau histológico de malignidade, os achados de Hirota *et al.* (1990) e Stephens *et al.* (1998) sugerem que uma infiltração maciça de células T nos tumores de boca poderia inibir o crescimento do câncer e que mais células tumorais escapariam do local primário quando a vigilância imunológica e a resistência das células T, principalmente as citotóxicas fossem insatisfatórias, pois os linfócitos T citotóxicos seriam a mais importante linha de defesa imunológica nas etapas mais avançadas da progressão tumoral (YAMAGUCHI *et al.*, 2000). Nossos achados foram discordantes, pois não se observou relação estatisticamente significativa entre os linfócitos T CD8 com o grau histológico de malignidade dos tumores.

Sabe-se que a ativação e manutenção de células T citotóxicas no tumor dependem da produção de interleucina-2 (WOLF *et al.*, 1986; ABBAS *et al.* 1994; TOOD; REDMAN (2001), CRUZ *et al.* 1999). Pillai *et al.* (1993) relatam que uma diminuição na produção de interleucina-2 pode resultar na diminuição da resposta imune tanto celular como humoral. Ainda, os linfócitos T auxiliares (CD4) ativados por antígenos tumorais secretam fator de necrose tumoral (TNF) e interferon- δ (IFN- δ) resultando em um aumento da expressão de moléculas MHC classe I nas células tumorais, tornando-as mais sensíveis à lise pelas células citotóxicas.

A ausência de produção de interleucina 2, assim como de fator de necrose tumoral e interferon- δ , como resultado do comprometimento da função das células T CD4, resultaria na diminuição da resposta imune celular, pois entre outros fatores, a ativação das células T CD8 seria reduzida.

Uma outra hipótese para explicação dos resultados observados seria a possibilidade da ocorrência de evasão imunológica das

células tumorais, como por exemplo a perda da expressão de seus antígenos por mutação, gerando mutantes de escape; uma expressão diminuída ou ausente de moléculas MHC classe I, resultando em ativação diminuída de linfócitos T CD8 e células NK; falta de co-estimuladores nas células tumorais prejudicando a ativação de células T e também a presença de substâncias imunossupressoras secretadas pelas células tumorais, como por exemplo o fator transformador de crescimento (TGF-b).

A segunda hipótese de explicação do aumento dos linfócitos T CD4 nos tumores de alto grau histológico de malignidade, seria a de que a via de resposta escolhida pelo sistema imunológico pode ter sido por meio da ativação de linfócitos B, resultando na formação de anticorpos. Neste caso, apesar de haver imunoreação à presença do tumor maligno, a via de resposta escolhida pelo sistema imunológico foi equivocada, pois como descrito por Tood e Redman (2001) a resposta imunológica humoral desempenha um papel muito pequeno na resposta antitumoral efetiva. Harabuchi *et al.* (1985) observaram em seu trabalho que as células T foram as células predominantes que infiltravam as ilhas tumorais em contraste com as células B presentes. Estes achados correspondem a relatos prévios de que as células T desempenham um papel mais importante na resposta imune do hospedeiro contra câncer de cabeça e pescoço.

Observamos um número reduzido de células NK nos tumores avaliados, concordando com Harabuchi *et al.* (1985) e Balaram e Meenattoor (1996). Apesar de Rabin *et al.* (1984), Stephens *et al.* (1998) e Yamaguchi *et al.* (2000) relatarem que as células NK são de grande importância no combate ao câncer pois tem capacidade de reconhecer e destruir células neoplásicas e células infectadas sem sensibilização prévia, observa-se uma redução deste tipo celular em lesões cancerizáveis e no câncer de boca (PILLAI *et al.* 1993).

CONCLUSÃO

A resposta imune desempenha um papel importante na progressão do câncer de boca, sendo que a progressão da doença é geralmente acompanhada de distúrbios no balanço imunológico. Através de nossos resultados concluímos que a análise da composição do infiltrado linfocítico peritumoral não podem ser apenas quantitativa, pois os distúrbio no balanço do sistema imunológico não se relacionam necessariamente com o número de células de defesa presentes, freqüentemente são resultantes de falha na função, regulação, ou na migração de uma população das células do sistema imune para o local do tumor.

ABSTRACT

The purpose of this study was to characterize, by using monoclonal antibodies, the defense cells of the immune system in the tumor-infiltrating lymphocytes associated with oral squamous cell carcinoma, and their association with the histologic grade of tumor malignancy. It is believed that changes in number or function of these cells may influence the progression of a malignant tumor. We observed that, qualitatively, the immune response in the region of the oral squamous cell carcinoma was characterized by the presence of all cell lineages evaluated; however, statistical tests revealed that only helper T lymphocytes were associated with the histologic grade of tumor malignancy. We concluded that disorders in the immune system balance are not necessarily associated with the number of defense cells present; they are often a result of failure in function, regulation or migration of a cell population from the immune system to the tumor location.

KEYWORDS

Squamous cell carcinoma, Immune system, Immunohistochemistry

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; POBER, J.S. Immunity of Tumors. In: **Cellular and Molecular immunology**. 2nd ed. Philadelphia: W. B. Saunders. 1994.
- ALVES, V.A.F.; BACCHI, C.E.; VASSALLO, J. **Manual de Imuno-histoquímica**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Patologia, 1999.
- ANNEROTH, G.; BATSAKIS, J.; LUNA, M. Malignancy Grading of Squamous Cell Carcinoma in the Floor of the Mouth Related to Clinical Evaluation. **Scand. J. Dent. Res.**, Copenhagen, v.94, no.4, p. 347-356, 1986.
- BALARAM, P; MEENATTOR, G. Immunology of Oral Cancer – a Review. **Sing. Dent. J.**, Singapore, v.21, no. 1, p. 36-41, 1996.
- CRUZ, I. *et al.* Lack of MHC Class I Surface Expression on Neoplastic Cells and Poor Activation of the Secretory Pathway of Cytotoxic Cells in Oral Squamous Cell Carcinomas. **Br. J. Cancer**, Edinburgh, v. 81, no. 5, p. 881-889. 1999.
- HARABUCHI, Y.; YAMANAKA, N; KATAURA, A. Identification of Lymphocyte Subsets and Natural Killer Cells in Head and Neck Cancers. **Arch. Otorhinolaryngol.**, Chicago, v.242, p. 89-97, 1985.
- HIROTA, J *et al.* Immunohistologic Study of Mononuclear Cell Infiltrates in Oral Squamous Cell Carcinomas. **Head and Neck**, New York, v. 12, p. 118-125. 1990.
- JANEWAY, C.A. *et al.* Manipulação da Resposta Imune. In: **Imunobiologia. O sistema imunológico na saúde e na doença**. 4ed. Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 2000. p. 537-573.
- KUMAR, V.; COTRAN, R.S.; ROBBINS, S.L. **Patologia básica**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. 608p.
- OGAWA, Y. *et al.* Immunohistochemical Study of Mononuclear Cell Infiltrates in Squamous Cell Carcinoma of Oral Cavity and Paranasal Sinus. **Oncology**, Basel, v.44, p. 219-223. 1987.
- OLIVEIRA, P.T. *et al.* Análise Imuno-Histoquímica do Infiltrado Inflamatório do Líquen Plano Oral nas Formas Ulcerada e Não-ulcerada. **Rev. Odonto Ciência**, Porto Alegre, v.29, p. 137-151, 2000-1.
- PEAKMAN, M; VERGANI, D. **Basic and Clinical Immunology**. London: Churchill Livinstone, 1997. 430p.
- PILLAI, M.R. *et al.* Immunopathological and Immunological Features of Oral Precancers. **Sing. Dent. J.**, Singapore, v. 18, no.1, p. 28-38. 1993.
- RABIN, B.S.; CLAASSEN, D.; JOHNSON, J. Identification of Subsets of Lymphocytes Infiltrating Head and Neck Tumor Tissue: a Preliminary Report. **Laryngoscope**, St. Louis, v.94, p. 688-690. 1984.
- RAMALHO, L.M.P. **Expressão Imuno-histoquímica da Ciclina D1, Ki-67 e PCNA em Carcinomas Espinocelulares de Boca – Análise Comparativa da Zona Central e da Zona de Invasão Tumoral**. 2000. Tese (Doutorado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, PUCRS, Porto Alegre.
- ROBBINS, S. L.; KUMAR, V.; COTRAN, R.S. **Pathologic Basis of Disease**. 5ed. Philadelphia: Saunders, 1994. 1400p.
- ROITT, I.M.; BROSTOFF, J.; MALE, D.K. **Imunologia Tumoral**. In: **Imunologia**. 3 ed. São Paulo: Manole., 1993. p. 17.1-17.12.
- SANT'ANA FILHO, M. **Avaliação Quantitativa das Células de Langerhans no Papiloma, Displasia Epitelial e Carinoma Espinocelular de Mucosa Bucal**. 1995, 47f. Tese (Doutorado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, PUCRS, Porto Alegre.
- SARIOGLU, T, *et al.* The Effect of Lymphocytic Infiltration on Clinical Survival in Cancer of the Tongue. **Eur. Arch. Otorhinolaryngol**, Heidelberg, v.251, p. 366-369. 1994.
- STEPHENS, M. *et al.* Molecular Characterisation of Tumor Infiltrating Lymphocytes in Oral Squamous Cell Carcinoma. **Cancer Immunol. Immunother.**, Heidelberg, v.46, p. 34-40. 1998.
- SLOOTWEG, P.J. *et al.* Lymphocyte Phenotypes at Tumor Margins in Patients with Head and Neck Cancer, Relationship with Tumor Size, Human Lymphocyte Antigen Molecules, and Metastasis. **Int. J. Oral Maxillofac. Surg.**, Copenhagen, v.23, p. 286. 1994.
- TOOD, R.F.; REDMAN, B.G. **Tumor immunology**. Disponível em: <http://www.samed.com/sam/chapters/12/1203.htm> Acesso em 02 de jul. 2001.
- WENIG, B.M. General Principles of Head and Neck Pathology. In: **Head and Neck Cancer. A Multidisciplinary Approach**. Lippincott-Raven Publishers: Philadelphia, 1999. p.253-349.
- WOLF, G.T. *et al.* Lymphocyte Subpopulations Infiltrating Squamous Carcinomas of the Head and Neck: Correlations with Extent of Tumor and Prognosis. **Otolaryngol. Head Neck Surg.**, Rochester, v.95, p. 142-152. 1986.
- YAMAGUCHI, N.H.; LIZÁRRAGA, J.R.C.; MICHELINI, C. Imunologia no Desenvolvimento Neoplásico. In: **PARISE Jr. Câncer de Boca. Aspectos Básicos e Terapêuticos**. São Paulo: Sarvier, 2000. p. 41-53.

Endereço para correspondência:

Anna Cecilia Moraes Chaves
Rua Ramiro Barcelos, 2492, sala 503,
Porto Alegre-RS.
e-mail: annach@estomato.com