



Analysis of expression of *LGALS3BP* gene in thyroid tissues and peripheral blood lymphocytes in patients with papillary thyroid cancer

Krzysztof Kaliszewski¹, Tadeusz Łukieńczyk^{1, 2}, Tadeusz Dobosz³, Marta Rzeszutko⁴, Anna Sadakierska-Chudy³

¹I Department of General, Gastrointestinal and Endocrinological Surgery, Medical University, Wrocław

²Faculty of Public Health, Medical University, Wrocław

³Institute of Forensic Medicine, Medical University, Wrocław

⁴Department of Pathology, Medical University, Wrocław

Abstract

Introduction: Galectin-3 (Gal-3), coding by *LGALS3BP* gene, is a protein of the lectin family that has been associated with neoplastic processes and seems to play an important role in a variety of cell biological processes. In the thyroid gland, the high expression of this protein has been described in differentiated carcinomas, especially in papillary thyroid cancer (PTC).

Aim: Analysis of Gal-3 protein expression in PTC and nodular goiters; investigation of Gal-3 mRNA expression in peripheral blood lymphocytes (PBL) in patients with PTC and nodular goiter; analysis of correlation between Gal-3 protein expression in PTC and Gal-3 mRNA in PBL of the same patient.

Material and methods: Gal-3 protein was evaluated by immunohistochemistry in benign (27 multinodular goiters) and malignant (30 papillary carcinomas) thyroid tissues and galectin-3 mRNA expression by real-time PCR in peripheral blood lymphocytes (PBL) from 90 patients with multinodular goiter (n = 27), papillary carcinoma (n = 30) and healthy controls (n = 33).

Results: In PTC we observed increased expression of Gal-3 protein (all 30 cases) in cytoplasm, nucleus and cell mem-

branes of cancer cells. 23 of 27 benign thyroid nodular goiters were negative for Gal-3 expression. In all examined blood samples we observed higher *LGALS3BP* gene expression than *GAPDH* (house keeping gene) with no difference between both groups, without relation to the Gal-3 expression in PTC.

Conclusions: There is no difference in Gal-3 expression in peripheral blood lymphocytes in patients with papillary thyroid cancer in relation to nodular goiter.

(*Pol J Endocrinol* 2006; 57 (supl. A): A38–A44)

Key words: papillary thyroid cancer, immunological system, lymphocytes, galectin-3, *LGALS3BP* gene, real time polymerase chain reaction



Krzysztof Kaliszewski, M.D., Ph.D.

I Department of General, Gastrointestinal and Endocrinological Surgery Medical University of Wrocław

Poniatowskiego 2, 50-326 Wrocław, Poland

phone: 071 322 26 71

e-mail: krzysztofkali@wp.pl



Analiza ekspresji genu *LGALS3BP* w tkance gruczołu tarczowego i limfocytach krwi obwodowej u chorych z rakiem brodawkowatym tarczycy

Krzysztof Kaliszewski¹, Tadeusz Łukieńczyk^{1, 2}, Tadeusz Dobosz³, Marta Rzeszutko⁴, Anna Sadakierska-Chudy³

¹I Katedra i Klinika Chirurgii Ogólnej, Gastroenterologicznej i Endokrynologicznej, Akademia Medyczna, Wrocław

²Wydział Zdrowia Publicznego, Akademia Medyczna, Wrocław

³Zakład Technik Molekularnych Katedry Medycyny Sądowej, Akademia Medyczna, Wrocław

⁴Katedra i Zakład Anatomii Patologicznej, Akademia Medyczna, Wrocław

Streszczenie

Wstęp: Choroba nowotworowa wywołuje miejscowe i ogólnoustrojowe zmiany w układzie odpornościowym człowieka. Skomplikowane, trudne do śledzenia mechanizmy mobilizacji komórek układu immunologicznego oraz wytwarzanie swoistych klonów zwalczających komórki z obcym antygenem to jedno z głównych zadań tego układu. Limfocyty T i B odgrywają znaczącą rolę w procesie obrony przeciwnowotworowej. Galektyna-3 (Gal-3), kodowana przez gen *LGALS3BP*, jest białkiem należącym do grupy lektyn, związanym z procesami nowotworzenia oraz odgrywającym ważną rolę w wielu czynnościach życiowych komórki. Jej zwiększoną ekspresję obserwuje się w wysoko zróżnicowanych rakach tarczycy, a szczególnie w raku brodawkowatym tarczycy (PTC, *papillary thyroid cancer*). Wykazano, iż Gal-3 występuje w komórkach układu immunologicznego aktywowanych antygenami nowotworu. Jak do tej pory, nie przeprowadzono badań dotyczących analizy ekspresji Gal-3 mRNA w limfocytach krwi obwodowej u pacjentów z PTC.

Cel pracy: Analiza ekspresji białka Gal-3 w PTC oraz wolu guzowatym, sprawdzenie, czy w limfocytach krwi obwodowej pobranych od pacjentów z wolem guzowatym i PTC występuje ekspresja mRNA Gal-3, jeżeli tak, czy występuje jakakolwiek zależność pomiędzy ekspresją białka Gal-3 w tarczycy i mRNA Gal-3 w limfocytach krwi obwodowej u tego samego pacjenta.

Materiał i metody: Przeprowadzono immunohistochemiczną analizę bloczków parafinowych na obecność białka Gal-3 w 27 zmianach łagodnych o charakterze wola guzowego obojętnego i 30 zmianach złośliwych (30 PTC). W drugiej części pracy przeprowadzono badanie PCR w czasie rzeczywistym dla mRNA Gal-3 w limfocytach krwi obwodowej u 90 osób: 27 z wolem guzowatym obojętnym,

30 z PTC i 33 bez zmian w zakresie gruczołu tarczowego (grupa kontrolna).

Wyniki: We wszystkich 30 próbkach z PTC stwierdzono wysoką lub podwyższoną ekspresję białka Gal-3. W 23 na 27 analizowanych łagodnych zmian tarczycy — wola guzowate — nie wykazano dodatniej reakcji z przeciwciałem anty Gal-3. W drugiej części pracy u 30 pacjentów z PTC i 27 z wolem guzowym we wszystkich przypadkach obserwowano w limfocytach krwi obwodowej zwiększoną ekspresję genu *LGALS3BP* w stosunku do genu referencyjnego *GAPDH* (gen metabolizmu podstawowego). Nie stwierdzono zależności pomiędzy ekspresją genu *LGALS3BP* na poziomie białka w komórkach PTC a jego ekspresją na poziomie mRNA w limfocytach krwi obwodowej u tych samych pacjentów. Wartości względnej ekspresji genu *LGALS3BP* w odniesieniu do genu referencyjnego u chorych z rakiem brodawkowatym tarczycy oraz u chorych z wolem guzowatym nie różniły się między sobą w sposób istotny.

Wnioski: W limfocytach krwi obwodowej nie ma różnic w ilości mRNA Gal-3 u chorych z PTC i zwykłym wolem.

(*Endokrynol Pol* 2006; 57 (supl. A): A38–A44)

Słowa kluczowe: rak brodawkowaty tarczycy, układ immunologiczny, limfocyty, galektyna-3, gen *LGALS3BP*, reakcja łańcuchowa polimerazy w czasie rzeczywistym



Dr med. Krzysztof Kaliszewski

I Katedra i Klinika Chirurgii Ogólnej, Gastroenterologicznej i Endokrynologicznej Akademii Medycznej we Wrocławiu
ul. Poniatowskiego 2, 50-326 Wrocław
tel.: 071 322 26 71

e-mail: krzysztofkali@wp.pl

Wstęp

Najczęściej występującym nowotworem złośliwym gruczołu tarczowego jest rak brodawkowaty tarczycy (PTC, *papillary thyroid cancer*), który stanowi 50–80% wszystkich raków tarczycy [1]. Warunkiem radykalnego leczenia, dającego niemal 100% skuteczności, jest jego wczesne wykrycie i odpowiednie zakwalifikowanie do leczenia operacyjnego, co niestety nadal pozostaje dużym wyzwaniem dla klinicystów. Spowodowane jest to olbrzymią liczbą chorych, u których stwierdza się guzki tarczycy, oraz brakiem takiego narzędzia diagnostycznego, które umożliwiłoby pewne rozpoznanie nowotworu w jego wczesnej fazie rozwoju.

Biopsja aspiracyjna cienkoigłowa celowana (BACC) jest obecnie jedynym przedoperacyjnym badaniem różnicującym guzki złośliwe tarczycy od nienowotworowych. Niestety, wyniki nieokreślone lub niepewne stanowią nawet do 30% przeprowadzonych badań [2]. Dużym problemem są także biopsje fałszywie ujemne (1–2% przypadków) [3]. Dotyczą one zazwyczaj występowania raka w wolu wieloguzkowym, współwystępowania raka z zapaleniem tarczycy oraz stwierdzanych coraz częściej zmian złośliwych o średnicy zaledwie kilku milimetrów, tzw. mikroraków (0,5–36% raków brodawkowatych tarczycy) [4].

Choroba nowotworowa wywołuje lokalne oraz ogólnoustrojowe zmiany w układzie odpornościowym. Mobilizacja komórek układu immunologicznego oraz wytwarzanie swoistych klonów limfocytów T i B zwalczających komórki z obcym antygenem (także nowotworowe) to jedno z głównych zadań tego układu. Już w latach 80. XX wieku z bezpośredniego otoczenia zmian złośliwych wyizolowano subpopulację limfocytów T o właściwościach antynowotworowych, tzw. limfocyty naciekające guz (TIL, *tumor infiltrating lymphocytes*) [5]. Warto podkreślić, iż nacieczenie limfocytarne występuje w 25–30% przypadków PTC [6].

Poszukiwanie nowych, doskonalszych metod wykrywania chorób nowotworowych w ich jak najwcześniejszym okresie rozwoju sprawiło, że zainteresowano się grupą glikoprotein, których podwyższone stężenia zaobserwowano w tkankach guzów wielu narządów człowieka. Galektyna-3 (glikozylowane białko, Gal-3) odgrywa bardzo ważną rolę w wielu procesach życiowych komórki, zarówno fizjologicznych, jak i patologicznych. Stwierdzono, że współuczestniczy w podstawowych procesach cyklu komórkowego, takich jak: wzrost, proliferacja czy apoptoza. Podczas proliferacji obserwuje się jej wzmożoną ekspresję w cytoplazmie, na powierzchni błony komórkowej oraz w jądrze komórkowym. Podejrzewa się, że Gal-3 bierze udział w transformacji nowotworowej, adhezji komórek, migracji oraz tworzeniu przerzutów. Występuje z dużą

częstością w komórkach PTC [7, 8]. Galektynę-3 zidentyfikowano także w komórkach, które nie były bezpośrednio dotknięte procesem choroby nowotworowej, ale były aktywowane w sposób pośredni [9]. Dodatnią ekspresję Gal-3 stwierdzono w komórkach mających na swej powierzchni antygeny *CD4* i *CD8* oraz w jednojądrzastych komórkach układu odpornościowego (PBMC, *peripheral-blood mononuclear cells*) [10]. Nasuwa się pytanie, czy oznaczanie ekspresji Gal-3 w limfocytach wyizolowanych z krwi obwodowej od chorych na PTC może być markerem tej choroby.

Material i metody

Analizę ekspresji genu *LGALS3BP* w limfocytach krwi obwodowej przeprowadzono u 90 osób: 30 z PTC, 27 z wolem guzowatym i 33 bez schorzeń tarczycy oraz chorób nowotworowych (grupa kontrolna). Wszystkie trzy grupy nie różniły się pod względem liczebności, rozkładu płci oraz wieku. Krew pobierano kilka dni przed zabiegiem operacyjnym. Całkowite RNA izolowano z krwi pełnej. Reakcję odwrotnej transkrypcji wykonywano z użyciem zestawu ThermoScript™ RT-PCR System. Syntezę cDNA przeprowadzano z użyciem starterów Random Hexamers na matrycy całkowitego RNA. Uzyskane w ten sposób cDNA posłużyło do badania ekspresji genu metodą ilościowej reakcji PCR w czasie rzeczywistym. Otrzymane wyniki analizowano za pomocą programu SDS 2.1.

Utkanie tarczycy pochodziło od tych samych pacjentów (30 z PTC i 27 z wolem guzowatym) operowanych w I Katedrze i Klinice Chirurgii Ogólnej, Gastroenterologicznej i Endokrynologicznej AM we Wrocławiu w latach 1999–2004. Immunohistochemicznej analizie poddano bloczki parafinowe: 30 wycinków PTC oraz 27 zmian o charakterze wola guzkowego obojętnego. Ekspresję Gal-3 oceniano metodą półilościową w mikroskopie świetlnym, przyznając trzy plusy (+++) dla dodatniej reakcji cytoplazmatycznej w 51–100% komórek w preparacie, dwa plusy (++) przy 21–50% dodatnio barwiących się komórek i jeden plus (+) przy 0–20% komórek wykazujących reakcję dodatnią.

Wyniki

W grupie 30 osób z PTC dodatnią reakcję z przeciwciałami skierowanymi przeciwko Gal-3 stwierdzono we wszystkich 30 (100%) preparatach. Trzy plusy (+++) obserwowano w 19 przypadkach (63,3%), dwa plusy (++) w 10 (33,3%), natomiast jeden plus (+) przyznano tylko w jednym (3,3%) przypadku. W 23 na 27 analizowanych łagodnych zmian tarczycy — wola guzowate — nie wykazano dodatniej reakcji z przeciwciałem anty Gal-3 (85,2%). Pozostałe cztery (14,8%) próbki

tkankowe wykazywały wyraźnie dodatnią reakcję cytoplazmatyczną. Na 13 przypadków raka w II stopniu zaawansowania klinicznego aż w 9 (69,23%) wykazano stopień barwienia immunohistochemicznego wyrażony trzema plusami, a w pozostałych 4 (30,77%) — dwoma. Pacjenci w III stopniu zaawansowania nowotworu (6 osób) wykazywali reakcję na trzy plusy w 4 przypadkach (66,66%), pozostałe 2 osoby na dwa plusy (33,34%). U 2 chorych w IVA stopniu zaawansowania w 100% obserwowano reakcję na trzy plusy. Spośród 9 osób będących w I stopniu zaawansowania u 4 (44,44%) stwierdzono barwienie na trzy plusy.

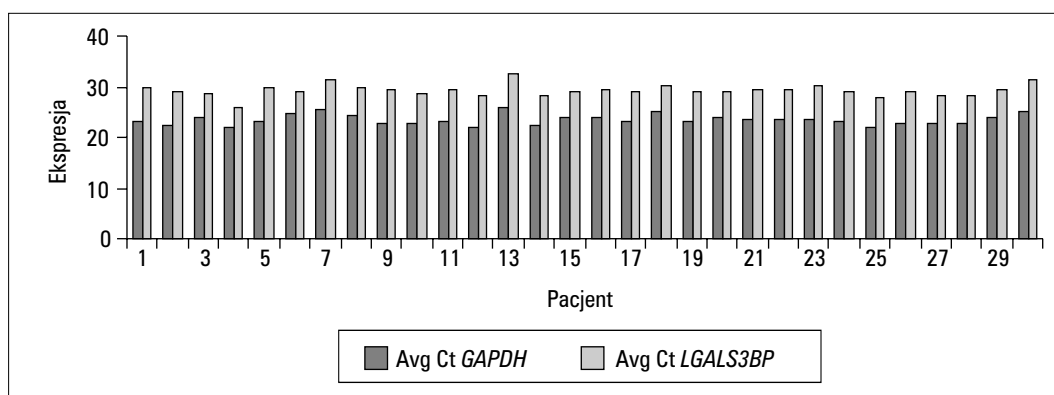
W badaniu limfocytów krwi obwodowej wykonanym u 30 pacjentów z PTC, 27 chorych z wolem guzowatym oraz 33 bez schorzeń tarczycy i choroby nowotworowej we wszystkich próbkach obserwowano zwiększoną ekspresję genu *LGALS3BP* na poziomie mRNA w stosunku do genu referencyjnego *GAPDH* (Δ Ct) (dehydrogena-

za fosfogliceraldehydowa, gen metabolizmu podstawowego, kontrola endogenna) (ryc. 1–4).

Zdecydowanie bardziej zróżnicowane wyniki otrzymano w analizie ekspresji genu *LGALS3BP* w stosunku do kalibratora ($\Delta\Delta$ Ct), czyli średniej wartości ekspresji analizowanego genu w grupie kontrolnej. Spośród 30 próbek krwi pochodzących od pacjentów z PTC w 15 (50%) wykazano obniżone wartości ekspresji, w 6 (20%) prawie niezmienione wartości, natomiast u reszty, czyli 9 (30%) osób, wykazano wartości podwyższone (ryc. 5).

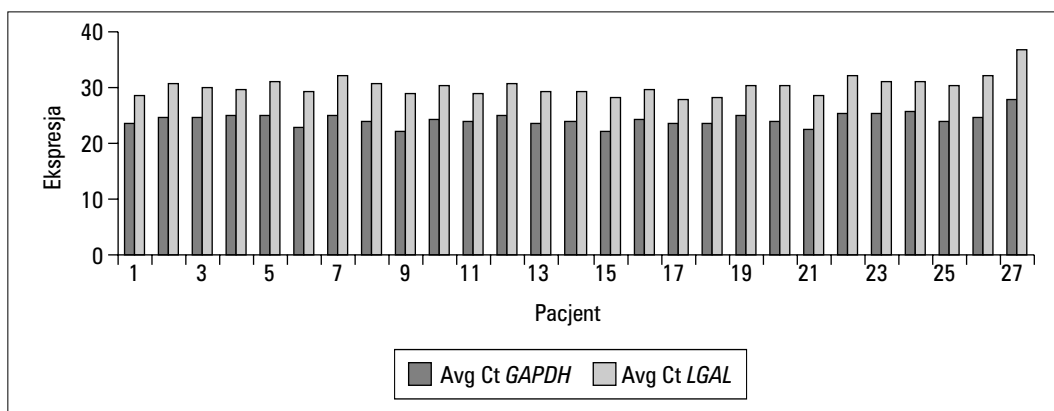
W grupie wola guzowatego, obejmującego 27 przypadków, u 18 (66,67%) pacjentów wykazano obniżone wartości ekspresji, u 1 (3,7%) pacjenta obserwowano wartość prawie niezmienną, natomiast u reszty, czyli 8 (29,6%) osób, wykazano wartości podwyższone (ryc. 6).

Nie stwierdzono zależności pomiędzy ekspresją genu na poziomie białka w komórkach raka brodawkow-



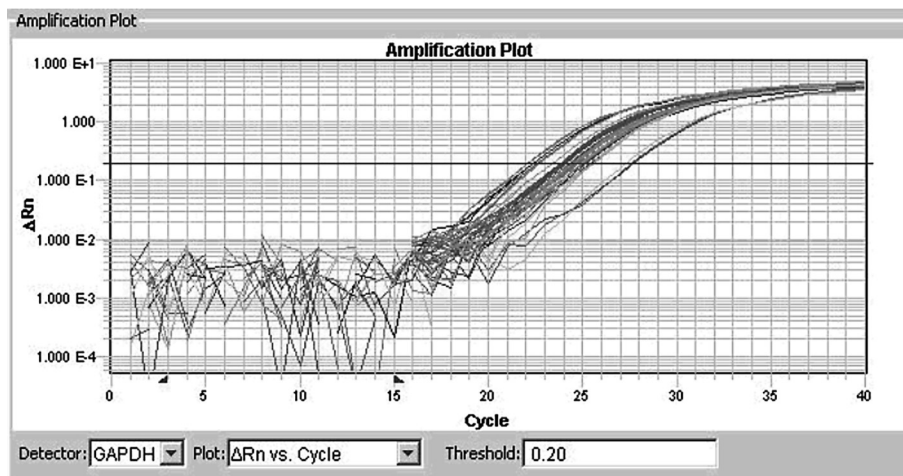
Rycina 1. Względna ekspresja genu *LGALS3BP* w odniesieniu do genu referencyjnego *GAPDH* w limfocytach krwi obwodowej u chorych z rakiem brodawkowatym tarczycy

Figure 1. Relative expression of *LGALS3BP* gene in comparison to *GAPDH* reference gene in peripheral blood lymphocytes in patients with papillary thyroid cancer



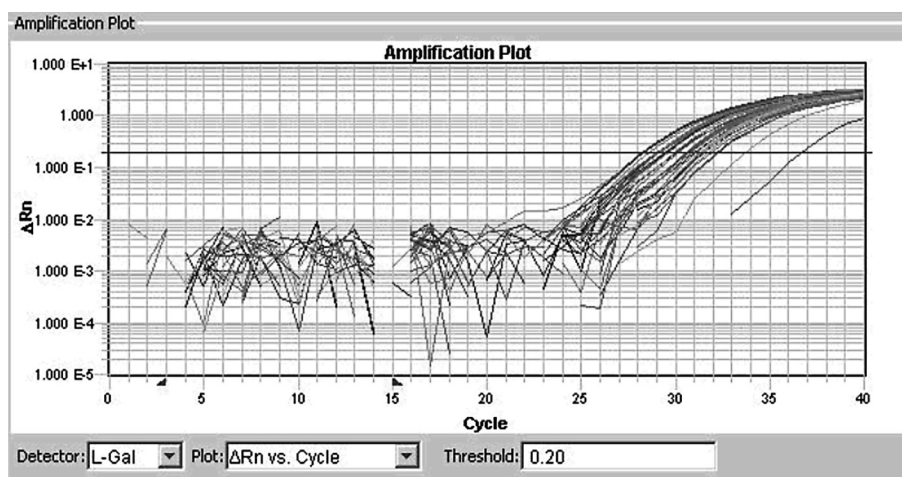
Rycina 2. Względna ekspresja genu *LGALS3BP* w odniesieniu do genu referencyjnego *GAPDH* w limfocytach krwi obwodowej u chorych z wolem guzowatym tarczycy

Figure 2. Relative expression of *LGALS3BP* gene in comparison to *GAPDH* reference gene in peripheral blood lymphocytes in patients with multinodular goiter



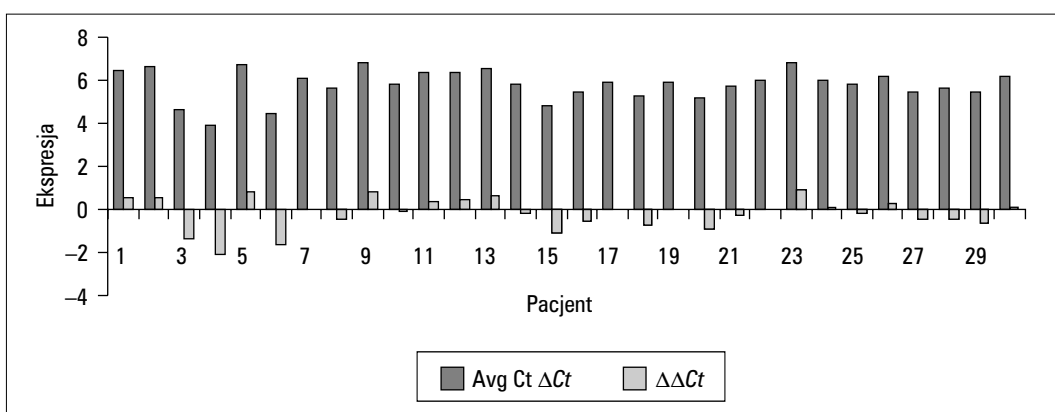
Rycina 3. Reakcja łańcuchowa polimerazy (PCR) w czasie rzeczywistym dla genu GAPDH

Figure 3. Real time PCR relative quantification for GAPDH gene



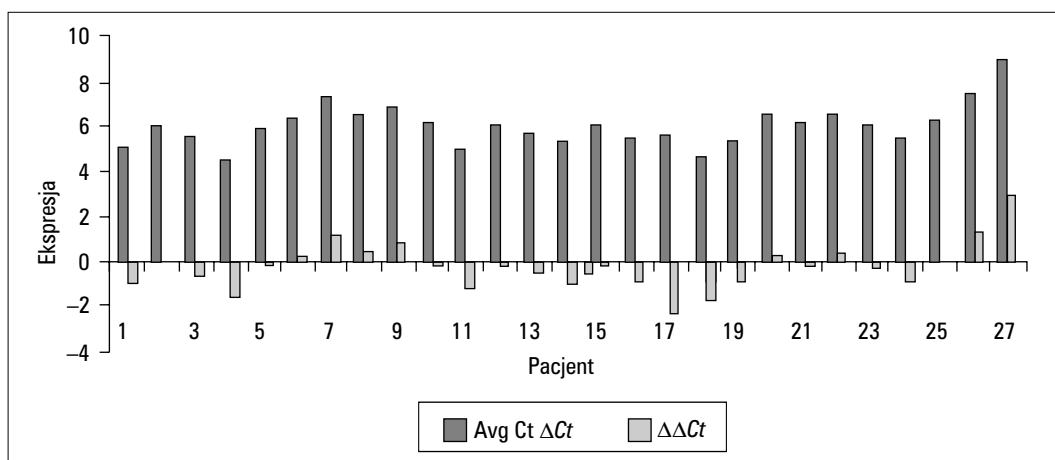
Rycina 4. Reakcja łańcuchowa polimerazy (PCR) w czasie rzeczywistym dla genu *LGALS3BP*

Figure 4. Real time PCR relative quantification for *LGALS3BP* gene



Rycina 5. Względna ekspresja genu *LGALS3BP* w odniesieniu do genu referencyjnego (ΔCt) oraz względna różnica w ekspresji tego genu w stosunku do kalibratora ($\Delta\Delta Ct$) u chorych z rakiem brodawkowatym tarczycy

Figure 5. Relative expression of *LGALS3BP* gene in comparison to reference gene (ΔCt) and relative difference of its expression in comparison to calibrator ($\Delta\Delta Ct$) in patients with papillary thyroid cancer



Rycina 6. Względna ekspresja genu LGALS3BP w odniesieniu do genu referencyjnego (Δ Ct) oraz względna różnica w ekspresji tego genu w stosunku do kalibratora ($\Delta\Delta$ Ct) u chorych z wolem guzowatym tarczycy

Figure 6. Relative expression of LGALS3BP gene in comparison to reference gene (Δ Ct) and relative difference of its expression in comparison to calibrator ($\Delta\Delta$ Ct) in patients with multinodular goiter

watego tarczycy a jego ekspresją na poziomie mRNA w limfocytach krwi obwodowej u tych samych pacjentów.

Ekspresja Gal-3 w komórkach PTC i wola guzowatego różniła się w sposób istotny ($p < 0,0001$) w badaniu na poziomie białka. Ekspresja Gal-3 w tkance gruczołu tarczowego korelowała z cechą T w klasyfikacji TNM w grupie chorych na raka ($p = 0,01$). Wartości względnej ekspresji genu *LGALS3BP* w odniesieniu do genu referencyjnego u chorych z PTC i wolem guzowatym nie różniły się między sobą w sposób istotny ($p = 0,51$). Podobnie zachowywały się wartości różnicy ekspresji genu *LGALS3BP* w stosunku do kalibratora.

Dyskusja

Ekspresja Gal-3 jest najczęściej obserwowana w komórkach PTC [7, 8], co zostało potwierdzone w prezentowanej pracy. Występuje ona z dużą częstością w tym typie nowotworu, rzadko natomiast w komórkach wola guzowatego tarczycy. Badanie immunohistochemiczne na obecność Gal-3, połączone z odpowiednią oceną histopatologiczną preparatu, stanowi pomocne narzędzie w diagnostyce trudnych przypadków PTC. Dlatego niektórzy autorzy proponują poszerzenie rutynowej diagnostyki PTC o badanie ekspresji Gal-3 na poziomie białka i mRNA w komórkach podejrzanych o nowotworowy charakter zmiany, zwracając uwagę na pewne niedoskonałości w standardowej ocenie cytologicznej oraz immunocytochemicznej materiału uzyskanego w czasie BAC guzków tarczycy. Bernet i wsp. wyizolowali z prawidłowych i nieprawidłowych komórek tarczycy całkowite RNA, ażeby następnie po odpowiednim jego opracowaniu oznaczyć ilościowo informacyjny RNA (mRNA) dla Gal-3. Wyniki porównano z końco-

wymi rozpoznaniem histopatologicznymi. Najwyższą ekspresję Gal-3 mRNA stwierdzono w komórkach PTC, jednak najważniejszy był fakt, że ekspresja mRNA była tak znacznie nasiloną w porównaniu z pozostałymi chorobami gruczołu tarczowego, że autorzy pracy zalecali wykorzystywanie ilościowej oceny ekspresji Gal-3 mRNA w przedoperacyjnej diagnostyce PTC [11]. Do podobnych wniosków doszli także Feilcheefeldt i wsp. [12]. Aby zminimalizować lub wyeliminować czynniki mogące wpływać na postawienie prawidłowego rozpoznania PTC, do ilościowej oceny Gal-3 mRNA wykorzystali oni reakcję RT-PCR w czasie rzeczywistym, która jest wiarygodną, dokładną i szybką metodą analizy ekspresji na poziomie RNA.

Niewiele jest natomiast prac opisujących diagnostykę PTC poprzez analizę komórek innych tkanek, jak chociażby układu immunologicznego [9, 10]. Pewne grupy komórek układu odpornościowego człowieka wykazują znacznie podwyższoną ekspresję Gal-3 w przebiegu różnych chorób. Tak jest w przypadku limfocytów T zainfekowanych ludzkim wirusem białaczki z komórek T i limfocytów u pacjentów z chorobą nowotworową oraz zakażonych wirusem HIV [13]. Metodą FISH wykazano gen kodujący Gal-3 na długim ramieniu chromosomu 17q25 w komórkach układu immunologicznego: w limfocytach NK (*natural killer*) oraz w komórkach cytotoksycznych LAK (*lymphokine-activated killer cell cytotoxicity*) [14].

Fusco i wsp. zbadali ekspresję białka Gal-3 w komórkach raka gruczołu piersiowego oraz jego stężenie w surowicy krwi u tych samych pacjentek. Okazało się, że stopień ekspresji Gal-3 w komórkach raka gruczołu piersiowego nie koreluje ze stopniem zaawansowania choroby, zajęciem węzłów chłonnych, wielkością guza

pierwotnego oraz rokowaniem co do przeżycia. Podobne wyniki otrzymano, porównując ww. cechy ze stężeniem Gal-3 w surowicy krwi u tych pacjentek. Autorzy oznaczyli następnie ilość mRNA Gal-3 w jednojądrzastych komórkach układu limfatycznego pobranych z krwi obwodowej (PBMC) w obu grupach i otrzymane wyniki porównali z grupą osób zdrowych. Ekspresja mRNA Gal-3 była podwyższona u pacjentek z rakiem gruczołu piersiowego, czego nie obserwowano w grupie zdrowych. Badacze twierdzą, że oznaczanie ekspresji mRNA Gal-3 w komórkach układu odpornościowego aktywowanych przez proces zapalny bądź nowotworowy może być dobrym markerem prognostycznym tych stanów chorobowych [10].

Ponieważ Gal-3 jest białkiem błonowym, odgrywającym ważną rolę w adhezji komórek nowotworowych, już w 1997 roku podjęto badania mające na celu syntezę przeciwciał przeciwko Gal-3, aby w ten sposób mieć wpływ na kinetykę rozwoju nowotworu. Pozostały one jednak w fazie doświadczeń [15].

Chociaż wyniki badań nad wykorzystaniem Gal-3 w diagnostyce PTC dowodzą w większości jej wysokiej czułości i swoistości, są również i takie, które zaprzeczają tym danym, podkreślając zwiększoną ekspresję Gal-3 w tarczycy objętej procesem nienowotworowym [16].

Na podstawie przeanalizowanego piśmiennictwa oraz badań na materiale własnym można stwierdzić, że Gal-3 stanowi dobry marker ułatwiający różnicowanie PTC od wola guzowatego, nie jest to jednak marker niezależny o niepodważalnej i przesądzającej wartości diagnostycznej. Na podstawie zbadanego materiału własnego obserwowano różnice w nasileniu ekspresji Gal-3 w dobrze zróżnicowanych rakach tarczycy, jak też pojedyncze przypadki dodatniej reakcji w zmianach nienowotworowych. Własna ocena wartości Gal-3 wskazuje więc jedynie na wartość uzupełniającą dla klasycznego badania histopatologicznego. Galektyna-3 jest białkiem występującym również w komórkach innych niż gruczołu tarczowego. Występuje, co wykazano w prezentowanej pracy, w makrofagach i komórkach śródbłonna naczyń zębca. Niemniej, w analizie ekspresji Gal-3 na poziomie mRNA w komórkach układu immunologicznego chorych z PTC nie wykazano statystycznie istotnych różnic w porównaniu z grupą osób ze zmianami łagodnymi w obrębie gruczołu tarczowego (wola guzowate). Ekspresję Gal-3 mRNA w limfocytach krwi obwodowej stwierdzono u wszystkich pacjentów.

Zakończenie w ubiegłym roku ogromnego przedsięwzięcia, jakim było poznanie ludzkiego genomu (*Human Genom Project*), spowodowało znaczne przyspieszenie rozwoju diagnostyki molekularnej. Dotyczy to głównie chorób nowotworowych, w tym PTC. Dowo-

dem na to są coraz częściej stosowane analizy profilu ekspresji genów w komórkach PTC na mikromacierzach cDNA oraz mikromacierzach oligonukleotydowych wysokiej gęstości [17]. W niniejszej pracy zaprezentowano analizę ekspresji pojedynczego genu w limfocytach krwi obwodowej, natomiast stosując mikromacierze DNA, byłoby można jednocześnie przeanalizować profil ekspresji kilkunastu tysięcy genów w tych komórkach. Warto zauważyć, że klasyfikator 20-genowy zaproponowany w raku brodawkowatym [18] obejmuje także badanie ekspresji Gal-3.

Wnioski

W limfocytach krwi obwodowej nie ma różnic w ilości mRNA Gal-3 u chorych z PTC i zwykłym wolem.

Piśmiennictwo

- Sherman S. Thyroid carcinoma. *Lancet* 2003; 361: 501–511.
- Leenhardt L. Indications and limits of ultrasound-guided cytology in the management of nonpalpable thyroid nodules. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 24–28.
- Hollman F, Hoekstra J, Ruitenbergh H. Evaluation of fine-needle aspiration (FNA) cytology in the diagnosis of thyroid nodules. *Cytopathology* 1995; 6: 168–175.
- Pomorski L. Rak tarczycy. W: Szmidt J (red.). *Podstawy chirurgii*, t. 2. *Medycyna Praktyczna* Kraków 2004; 1093–1099.
- Topalian S, Rosenberg S. Tumor-infiltrating lymphocytes (TIL). Evidence for specific immune reactions against growing cancers in mice and humans. *Lippincott*, Philadelphia 1990; 19–41.
- Galvan G. *Punktion und Zytologie der Struma, eine Anleitung für die Praxis*. Sanabo 1983.
- Kovacs R, Foldes J, Winkler G i wsp. The investigation of galectin-3 in diseases of the thyroid gland. *Eur J Endocrinol* 2003; 149: 449–453.
- Pisani T, Vecchione A, Giovagnoli M. Galectin-3 immunodetection may improve cytological diagnosis of occult papillary thyroid carcinoma. *Anticancer Res* 2004; 24 (2C): 1111–1112.
- Joo HG, Goedegebuure PS, Sadanaga N i wsp. Expression and function of galectin-3, a beta-galactoside-binding protein in activated T lymphocytes. *J Leukoc Biol* 2001; 69: 555–564.
- Fusco O, Querzoli P, Nenci I i wsp. 90K (MAC-2 BP) gene expression in breast cancer and evidence for the production of 90K by peripheral-blood mononuclear cells. *Int J Cancer* 1998; 79: 23–26.
- Bernet V, Anderson J, Vaishnav Y i wsp. Determination of Galectin-3 messenger ribonucleic acid overexpression in papillary thyroid cancer by quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 4792–4796.
- Feilcheefeldt J, Tutsch MD, Sien-Yi Shen i wsp. Expression of Galectin-3 in normal and malignant thyroid tissue by quantitative PCR and immunohistochemistry. *Modern Pathology* 2003; 16: 1117–1123.
- Hsu DK, Hammes SR, Kuwabara I i wsp. Human T lymphotropic virus-I infection of human T lymphocytes induces expression of the beta-galactoside-binding lectin, galectin-3. *Am J Pathol* 1996; 148: 1661–1670.
- Calabrese G, Sures I, Pompetti F i wsp. The gene (*LGALS3BP*) encoding the serum protein 90K, associated with cancer and infection by the human immunodeficiency virus, maps at 17q25. *Cytogenet Cell Genet* 1995; 69: 223–225.
- Tinari N, D'Egidio M, Iacobelli S i wsp. Identification of the tumor antigen 90K domains recognized by monoclonal antibodies SP2 and L3 and preparation and characterization of novel anti-90K monoclonal antibodies. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 232: 367–372.
- Niedziela M, Maceluch J, Korman E. Galectin-3 is not an universal marker of malignancy in thyroid nodular disease in children and adolescents. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87 (9): 4411–4415.
- Jarząb B, Gubała E, Lange D. Mikromacierze DNA i profil ekspresji genów raka brodawkowatego tarczycy. *Endokrynol Pol* 2005; 3: 293–301.
- Jarząb B, Wiench M, Fajarewicz K i wsp. Gene expression profile of papillary thyroid cancer: sources of variability and diagnostic implications. *Cancer Res* 2005; 65 (4): 1587–1597.