



SNP polymorphism of *LGALS3BP* gene in patients with benign and malignant thyroid tumours

Tadeusz Łukieńczyk^{1,2}, Krzysztof Kaliszewski², Magdalena Żołądziewska³, Anna Jonkisz³, Grażyna Dmochowska³, Mirosław Dobrut⁴, Jacek Rogoliński⁵, Tadeusz Dobosz³

¹Faculty of Public Health, Medical University, Wrocław

²I Department of General, Gastroenterological and Endocrinological Surgery, Medical University, Wrocław

³Institute of Forensic Medicine, Medical University, Wrocław

⁴Clinic of Surgical Oncology, Comprehensive Cancer Centre Marie Skłodowska-Curie Memorial Institute, Gliwice

⁵Experimental and Clinical Radiobiology Department, Comprehensive Cancer Centre Marie Skłodowska-Curie Memorial Institute, Gliwice

Abstract

Introduction: The aim of the study was estimation of occurrence of SNP (single nucleotide polymorphism) sites in *LGALS3BP* gene in patients with benign and malignant thyroid tumors and analysis of correlation between their frequency and the histological type of thyroid lesions.

Material and methods: The studied group consisted of 58 patients, 24 with papillary thyroid carcinomas, 19 with nodular goiters and 15 with follicular adenomas. Control group included 180 healthy volunteers. Four different SNP polymorphisms were analysed in PCR products using the SNaPshot test, on genetic analyser ABI Prism 310; these can be found in NCBI database under rs numbers: 1803938 (a/g), 11024 (g/c), 1801463 (a/c) and 1131516 (c/t).

Results: In all patients analysis of SNP sites revealed: lack of polymorphism in a/g rs 18039380; polymorphism identical to database in g/c rs 11024 and polymorphism different from database in a/g rs 1801463 and c/g rs 1131516. There were

no significant differences between patients with thyroid lesions and group of healthy controls.

Conclusion: Single nucleotide polymorphism (SNP) of *LGALS3BP* gene (found in NCBI) database are not characteristic for papillary thyroid cancer, follicular adenomas and nodular goiter.

(*Pol J Endocrinol* 2006; 57 (supl. A): A45–A51)

Key words: single nucleotide polymorphism (SNP), *LGALS3BP* gene, nodular goiter, follicular adenomas, thyroid cancer



Tadeusz Łukieńczyk, M.D., Ph.D.
I Department of General, Gastroenterological
and Endocrinological Surgery,
Medical University, Wrocław
J. Poniatowskiego 2, 50-326 Wrocław
phone: 071 322 26 71



Polimorfizmy typu SNP w obrębie genu *LGALS3BP* u chorych z łagodnymi i złośliwymi nowotworami tarczycy

Tadeusz Łukieńczyk^{1, 2}, Krzysztof Kaliszewski², Magdalena Żołędzewska³, Anna Jonkisz³, Grażyna Dmochowska³, Mirosław Dobrut⁴, Jacek Rogoliński⁵, Tadeusz Dobosz³

¹Wydział Zdrowia Publicznego, Zakład Specjalności Zabiegowych, Akademia Medyczna, Wrocław

²I Katedra i Klinika Chirurgii Ogólnej, Gastroenterologicznej i Endokrynologicznej, Akademia Medyczna, Wrocław

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

⁴Klinika Chirurgii Onkologicznej, Centrum Onkologii — Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie, Gliwice

⁵Zakład Radiobiologii Doświadczalnej i Klinicznej, Centrum Onkologii — Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie, Gliwice

Streszczenie

Wstęp: Badanie polimorfizmu genetycznego jest w ostatnich latach coraz częściej wykorzystywane w ocenie predyspozycji dziedzicznej do chorób nowotworowych i metabolicznych. Gen *LGALS3BP* kodujący galektynę-3 (Gal-3), białko ulegające nadekspresji w komórkach raka brodawkowatego tarczycy (PTC, *papillary thyroid carcinoma*), posiada w swym obrębie kilka miejsc polimorficznych typu SNP (*single nucleotide polymorphism*). Poznanie ewentualnych zależności pomiędzy zmianami patologicznymi w gruczole tarczowym a polimorfizmem omawianego genu może mieć znaczenie w badaniu patogenezy raka tarczycy.

Cel pracy: Ocena występowania wybranych miejsc polimorficznych typu SNP genu *LGALS3BP* u pacjentów z łagodnymi i złośliwymi guzami tarczycy oraz analiza korelacji pomiędzy częstością występowania danej formy allelicznej genu a typem histologicznym zmiany w obrębie gruczolu tarczowego.

Materiał i metody: Badana grupa obejmowała 58 osób, w tym 24 chorych z rakiem brodawkowatym, 19 chorych z wolem guzowatym i 15 chorych z gruczolakiem pęcherzykowym. Grupę kontrolną stanowiło, w zależności od konkretnie badanego polimorfizmu, 130–180 osób zdrowych. DNA izolowano z leukocytów krwi obwodowej i z guzów tarczycy pacjentów oraz z krwi grupy kontrolnej za pomocą zestawu „Sherlock” do izolacji DNA. Po dokonaniu oceny ilościowej i jakościowej, DNA posłużył jako matryca do amplifikacji *in vitro* wybranego fragmentu genu za pomocą reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR, *polymerase chain reaction*). Produkty PCR analizowano w kierunku polimorfizmu typu SNP techniką „SNaPshot”, wykorzystując

analizator genetyczny ABI Prism 310. Do porównania otrzymanych sekwencji użyto programu SeqEval (Applied Biosystems).

Oceniono 4 miejsca polimorficzne typu SNP genu *LGALS3BP* znalezione w bazie danych NCBI o numerach rs: 1803938 (a/g), 11024 (g/c), 1801463 (a/c) i 1131516 (c/t).

W badanych grupach w analizowanych miejscach polimorficznych stwierdzono: brak polimorfizmu (a/g rs 1803938), polimorfizm zgodny z bazą danych (g/c rs 11024), a u pozostałych niezgodny z bazą danych (a/g rs 1801463) i (c/g rs 1131516). Nie stwierdzono istotnych różnic w występowaniu zbadanych polimorfizmów genu *LGALS3BP* pomiędzy analizowanymi grupami.

Wnioski: Wykazane w bazie danych NCBI polimorfizmy SNP genu *LGALS3BP* nie są charakterystyczne dla raka brodawkowatego tarczycy, gruczolaka pęcherzykowego i wola guzowatego.

(*Endokrynol Pol* 2006; 57 (supl. A): A45–A51)

Słowa kluczowe: polimorfizmy SNP genu *LGALS3BP*, wole guzowate, gruczolak pęcherzykowy, rak tarczycy



Prof. dr hab. med. Tadeusz Łukieńczyk
I Katedra i Klinika Chirurgii Ogólnej,
Gastroenterologicznej i Endokrynologicznej
Akademia Medyczna we Wrocławiu
ul. J. Poniatowskiego 2, 50-326 Wrocław
tel.: 071 322 26 71

Wstęp

Gen oznaczony symbolem *LGALS3BP* (*lectin, galactoside-binding, soluble, 3 binding protein*) zlokalizowano na długim ramieniu chromosomu 17 (17q25.2–q25.3). Zbudowany jest z 6 eksonów i 5 intronów o całkowitej długości około 17 kb (*kilobase* — kilopar zasad). Białkowym produktem tego genu jest galektyna-3 (Gal-3). Jest to

glikozylowane białko o ciężarze cząsteczki 31 kDa, należąca do licznej grupy lektyn, których podstawową cechą jest duże powinowactwo do węglowodanów [1]. Stwierdzono, że Gal-3 odgrywa ważną rolę w wielu procesach życiowych komórki, takich jak wzrost, proliferacja czy apoptoza. Przypuszcza się, że galektyna-3 bierze udział w transformacji nowotworowej, adhezji komórek, migracji oraz tworzeniu przerzutów [2]. Eks-

-18629**tc**ccctcctc**ggcttctctctctt**gcaatgaccttcaacaaccggcc [SNP rs1803938] ccagatgtcgcctactcacct [SNP rs11024]
aggctcagcttcaagaaattctggaaggcttccactagggtccaccaggagttctccaaccactcaccagt ttccaggtggaagc [SNP rs1801463]
ccaggagcctcagaggttgc [SNP rs1131516] tgggatccccagagcccctggcagtt**gccttctcactggctgaggctcatt**-

Rycina 1. Odcinek genu *LGAL3BP*, oraz sekwencja starterów użytych do uzyskania produktu PCR o długości 231 bp. Pogrubienie — odcinek genu użyty do konstrukcji startera „F” oraz startera „R”. Wyjaśnienie: 18629 — numer nukleotydu nici DNA zgodnie z bazą danych NCBI, numer referencyjny genu — NM005567; rs — numer NSP zgodnie z bazą danych NCBI

Figure 1. Fragment of *LGAL3BP* gene with the sequence of starters used to collect PCR product (231 bp). Bold — gene fragments used as “F” and “R” starters. Explanation: 18629 is the number of nucleotide in DNA chain, according to data base NCBI, reference number of the gene NM005567; rs — number of the SNP according to data base of NCBI

presja tego białka jest szczególnie silnie wyrażona w rakach tarczycy, a zwłaszcza w raku brodawkowatym [3, 4]. Cecha ta sprawiła, że Gal-3 była początkowo uważana za dobry marker raka tarczycy. Jednak pojawiły się doniesienia mówiące o występowaniu tego białka także w zmianach łagodnych gruczołu tarczowego, co zapoczątkowało dalsze badania nad tą glikoproteiną [5]. Analiza banku genów wykazała, że gen *LGALS3BP*, kodujący białko Gal-3, posiada wiele miejsc polimorficznych typu SNP (*single nucleotide polymorphism*). Jednoczesne występowanie w populacji różnych form allelicznych danego genu, które różnią się pojedynczym podstawieniem w sekwencji nukleotydów lub liczbą powtórzeń określonego motywu w sekwencjach mini- i mikrosatelitarnych, stwarza szansę znalezienia markerów diagnostycznych.

Do badań wybrano odcinek UTR genu *LGAL3BP*, przedstawiony na rycinie 1.

Badanie polimorfizmów typu SNP przeprowadzono w obrębie genu *LGALS3BP* o numerze referencyjnym NM005567 w bazie NCBI (dostęp: www.ncbi.nlm.nih.gov, następnie „map viewer”, „homo sapiens”, „*LGALS3BP*” oraz „sv”). Analizowane SNP wytypowano podczas przeglądu komputerowo generowanego obrazu genu *LGALS3BP*. W czasie tego przeglądu program komputerowy bazy NCBI w stosunkowo krótkim regulatorowym odcinku genu w rejonie UTR (ryc. 1) wyszukał cztery zarejestrowane polimorfizmy typu SNP. Dane o tych miejscach zawarto w tabeli I.

Cel badania

Celem pracy była ocena występowania polimorfizmów genu *LGALS3BP* w wybranych miejscach polimorficznych typu SNP, zarówno w DNA terminalnym, jak i utkaniu guza u pacjentów z łagodnymi i złośliwymi chorobami tarczycy, oraz sprawdzenie, czy istnieje jakaś korelacja pomiędzy częstością występowania danej formy allelicznej genu a typem histologicznym nowotworu tarczycy. W przeanalizowanym przez autorów piśmiennictwie nie natrafiono na informacje o formach polimorficznych genu *LGALS3BP* w badanym aspekcie.

Tabela I

Polimorfizmy typu SNP genu LGALS3BP badane w pracy

Table I

SNP polymorphisms of LGALS3BP gene analyzed in the study

Polimorfizm Nr SNP w bazie NCBI	Typ polimorfizmu w bazie NCBI
rs 1803938	a/g
rs 11024	g/c
rs 1801463	a/c
rs 1131516	c/t

Materiał i metody

Badaniem objęto łącznie 58 pacjentów zakwalifikowanych do operacji z powodu wola, od których pobierano około 6 ml krwi pełnej z żyły łokciowej na antykoagulant (3,8% cytrynian sodu lub 0,5 M wersenian sodu) na kilka dni przed zabiegiem operacyjnym. Wartości morfotyczne krwi w układzie czerwokrwinkowym i białokrwinkowym nie odbiegały od normy. Tkankę tarczycową pobierano u chorych operowanych z powodu wola. Część guza tarczycy wysyłano na badania histopatologiczne, a część na badania DNA. Na wykorzystanie tego materiału uzyskano zgodę Komisji Etycznej. Wśród badanych osób znajdowało się 24 pacjentów z rakiem brodawkowatym tarczycy (18 kobiet i 6 mężczyzn w wieku 32–70 lat, średnio 53 lata), 19 osób z wolem guzowatym (15 kobiet i 4 mężczyzn w wieku 25–73 lat, średnio 52 lata) i 15 kobiet z gruczolakiem pęcherzykowym tarczycy (w wieku 23–67 lat, średnio 48 lat). Rozpoznanie ustalono na podstawie biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej (BAC) tarczycy wykonanej przed operacją i potwierdzono po zabiegu badaniem histopatologicznym. Zaawansowanie raka tarczycy ograniczało się do T1 lub T2NOMO według klasyfikacji TNM. Grupę kontrolną stanowiło od 130 do 180 zdrowych osób, w zależności od konkretnie badanego polimorfizmu (dokładny opis znajduje się w tabelach dotyczących po-

szczególnych polimorfizmów). Do tych badań wykorzystano anonimowe resztki krwi matek i domniemanych ojców pobieranej w celu ustalenia spornego ojcostwa. Osoby te w wywiadzie nie zgłaszały żadnych chorób ani dolegliwości, a krew od nich pobrano do innych celów niż ochrona zdrowia i dlatego potraktowano je jako próbkę referencyjną osób zdrowych. Obowiązujące przepisy pozwalają na wykorzystanie takiego materiału pod warunkiem usunięcia oznaczeń mogących umożliwić identyfikację.

Izolacja DNA

DNA z krwi mrożonej i z małych skrawków guzów tarczycy uzyskanych od pacjentów wyizolowano za pomocą zestawu do izolacji DNA o nazwie Sherlock& (A&A Biotechnology, Gdańsk). DNA od niespokrewnionych osób należących do grupy referencyjnej izolowano standardową metodą fenolowo-chloroformową.

Amplifikacja

- zestaw do amplifikacji firmy Qiagen: Qiagen Multiplex PCR Kit;
- całkowita objętość mieszaniny reakcyjnej: 10 μ l;
- stężenie starterów: 2 μ M każdego;
- ilość DNA: 10–50 ng;
- sekwencja starterów:
LGALS3BP F 5' — TCC CCT CCT CGG CTT CCT TCC TCT – 3'
LGALS3BP R 5' — AAT GAC CTC AGA CCA GTG ACA AGG GCA – 3';
- protokół PCR według instrukcji producenta: 95°C 15 min, (94°C 30 s, 57°C 90 s, 72°C 90 s) \times 30 cykli, 72°C 10 min.

Sekwencjonowanie

Oczyszczanie produktu reakcji PCR: wytrącanie z PEG.

Reakcja sekwencjonowania

- zestaw do sekwencjonowania BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit firmy AB Applied Biosystems;
- całkowita objętość mieszaniny reakcyjnej 20 μ l;
- stężenie startera F lub R: 6,6 pmola;
- do reakcji sekwencjonowania użyto takich samych starterów, jak do reakcji PCR;
- sekwencjonowano obydwie nici.

Oczyszczanie produktu sekwencjonowania

- metoda z wytrącaniem za pomocą etanolu i octanu sodowego według instrukcji BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit Protocol AB Applied Biosystems.

Elektroforeza

- analizator genetyczny ABI Prism 310 (Applied Biosystems);
- analiza sekwencji: za pomocą programu SeqEval do porównywania sekwencji (Applied Biosystems).

Tabela II

Wyniki badania polimorfizmu SNP (g/c) genu *LGAL* w próbce kontrolnej

Table II

Results of SNP polymorphism (g/c) *LGAL* gene analysis in control group

Genotyp	Liczba		χ^2	Częstości genowe
	Otrzymana	Oczekiwana		
CC	2	0,9	1,3	$c^* = 0,07$
GC	22	23,4	0,1	$g^* = 0,93$
GG	156	155,7	0	
Razem	180		1,4	1,00

d.f. = 1, 0,2 < p < 0,3

Wyniki

W badaniach nie wykazano różnic pomiędzy wynikami uzyskanymi z krwi a wynikami uzyskanymi ze skrawków tarczycy pobranych od tego samego pacjenta.

- a) SNP (a/g), polimorfizm rs 1803938 w bazie SNP (NCBI) — w badanej próbce kontrolnej o liczebności 130 elementów oraz w badanej próbce chorych o łącznej liczebności 58 elementów (w tym 24 osoby z rakiem brodawkowatym tarczycy, 19 osób z wolem guzowatym oraz 15 osób z gruczolakiem tarczycy) wszystkie osoby, zarówno w grupie kontrolnej, jak i w grupie chorych, miały genotyp AA;
- b) SNP (g/c), polimorfizm rs 11024 w bazie SNP (NCBI) (tab. II–V);
- c) SNP (a/g), polimorfizm rs 1801463, w bazie SNP (NCBI) figurujący jako polimorfizm a/c (tab. VI–IX);
- d) SNP (c/g), polimorfizm rs 1131516, w bazie SNP (NCBI) figuruje jako c/t (tab. X–XIII).

Dyskusja

Etiologia raka tarczycy nie została, jak dotąd, dokładnie ustalona. Rozważa się co najmniej kilka czynników, które według różnych autorów mają podstawowe znaczenie w rozwoju nowotworów złośliwych tego gruczołu. Jednym z nich jest predyspozycja genetyczna, którą potwierdza fakt istnienia wysokiego współczynnika ryzyka zachorowania na raka brodawkowego tarczycy u krewnych pierwszego stopnia osoby chorej na raka tarczycy [6, 7]. Powszechnie wiadomo, że częstość zachorowania na raka tarczycy zwiększa się w takich chorobach genetycznych, jak zespół Gardniera (rak brodawkowaty) czy Cowdena (rak pęcherzykowy). Osiągnięcia biologii molekularnej z okresu ostatnich 20 lat pozwoliły na lepsze poznanie patogenetyki chorób nowotworowych oraz stworzyły nowe możliwości ich wczesnej diagnostyki. Wiadomo, że nowotwory tarczycy mogą powstawać na skutek różnych mutacji

Tabela III

Wyniki badania polimorfizmu SNP (g/c) genu LGAL w próbce pacjentów z rakiem brodawkowatym tarczycy

Table III

Results of SNP polymorphism (g/c) LGAL gene analysis in patients with papillary cancer

Genotyp	Liczba		χ^2	Częstości genowe
	Otrzymana	Oczekiwana		
CC	0	0	0	c* = 0,01
GC	1	1,0	0	g* = 0,99
GG	16	16,0	0	
Razem 17	17	17,0	0	1,00
Brak wyników [#]	7	0		
Razem	24		0	

d.f. = 1, p > 0,95

[#]u 7 pacjentów nie uzyskano wiarygodnych wyników

Tabela IV

Wyniki badania polimorfizmu SNP (g/c) genu LGAL w próbce pacjentów z wolem guzowatym

Table IV

Results of SNP polymorphism (g/c) LGAL gene analysis in patients with nodular goiter

Genotyp	Liczba	
	Otrzymana	Oczekiwana
CC	0	0
GC	0	0
GG	19	19
Razem	19	19

Tabela V

Wyniki badania polimorfizmu SNP (g/c) genu LGAL w próbce pacjentów z gruczolakiem tarczycy

Table V

Results of SNP polymorphism (g/c) LGAL gene analysis in patients with follicular adenoma

Genotyp	Liczba	
	Otrzymana	Oczekiwana
CC	0	0
GC	0	0
GG	14	15
Brak wyniku [#]	1	0
Razem	15	15

[#]w jednym przypadku nie uzyskano wiarygodnych wyników

Tabela VI

Wyniki badania polimorfizmu SNP (a/g) genu LGAL w próbce kontrolnej

Table VI

Results of SNP polymorphism (a/g) LGAL gene analysis in control group

Genotyp	Liczba		χ^2	Częstości genowe
	Otrzymana	Oczekiwana		
AA	153	151	0	a* = 0,99
AG	1	3	0,3	g* = 0,01
GG	0	0	0	
Razem	154	154	0,3	1,00

d.f. = 1, 0,7 < p < 0,8

Tabela VII

Wyniki badania polimorfizmu SNP (a/g) genu LGAL w próbce pacjentów z rakiem brodawkowatym tarczycy

Table VII

Results of SNP polymorphism (a/g) LGAL gene analysis in patients with papillary cancer

Genotyp	Liczba	
	Otrzymana	Oczekiwana
AA	17	24
AG	0	0
GG	0	0
Brak wyniku [#]	7	0
Razem	24	24

[#]w 7 przypadkach nie uzyskano wiarygodnych wyników

Tabela VIII

Wyniki badania polimorfizmu SNP (a/g) genu LGAL w próbce pacjentów z wolem guzowatym

Table VIII

Results of SNP polymorphism (a/g) LGAL gene analysis in patients with nodular goiter

Genotyp	Liczba	
	Otrzymana	Oczekiwana
AA	19	19
AG	0	0
GG	0	0
Razem	19	19

Tabela IX

Wyniki badania polimorfizmu SNP (a/g) genu *LGAL* w próbce pacjentów z gruczolakiem tarczycy

Table IX

Results of SNP polymorphism (a/g) *LGAL* gene analysis in patients with follicular adenoma

Genotyp	Liczba	
	Otrzymana	Oczekiwana
AA	14	15
AG	0	0
GG	0	0
Brak wyniku [#]	1	0
Razem	15	15

[#]w jednym przypadku nie uzyskano wiarygodnych wyników

Tabela X

Wyniki badania polimorfizmu SNP (c/g) genu *LGAL* w próbce kontrolnej

Table X

Results of SNP polymorphism (c/g) of *LGAL* gene analysis in control group

Genotyp	Liczba		χ^2	Częstości genowe
	Otrzymana	Oczekiwana		
CC	130	129	0	c* = 0,996
CG	0	1	1	g* < 0,004
GG	0	0	0	
Razem	130	130	1	1,000

d.f. = 1, 0,3 < p < 0,5

Tabela XI

Wyniki badania polimorfizmu SNP (c/g) genu *LGAL* w próbce pacjentów z rakiem brodawkowatym tarczycy

Table XI

Results of SNP polymorphism (c/g) of *LGAL* gene analysis in patients with papillary cancer

Genotyp	Liczba		χ^2	Częstości genowe
	Otrzymana	Oczekiwana		
CC	13	12,1	0,1	c* = 0,93
CG	0	1,8	1,8	g* = 0,07
GG	1	0,1	8,1	
Razem	14	14,0	10	1,00
Brak wyniku [#]	10			
Razem	24			

d.f. = 1, p < 0,01

[#]w 10 przypadkach nie uzyskano wiarygodnych wyników

Tabela XII

Wyniki badania polimorfizmu SNP (c/g) genu *LGAL* w próbce pacjentów z wolem guzowatym

Table XII

Results of SNP polymorphism (c/g) of *LGAL* gene analysis in patients with nodular goiter

Genotyp	Liczba		χ^2	Częstości genowe
	Otrzymana	Oczekiwana		
CC	18	17,2	0	c* = 0,95
CG	0	1,8	1,8	g* = 0,05
GG	1	0	1	
Razem	19	19,0	2,8	1,00

d.f. = 1, p < 0,01

Tabela XIII

Wyniki badania polimorfizmu SNP (c/g) genu *LGAL* w próbce pacjentów z gruczolakiem tarczycy

Table XIII

Results of SNP polymorphism (c/g) of *LGAL* gene analysis in patients with follicular adenoma

Genotyp	Liczba		χ^2	Częstości genowe
	Otrzymana	Oczekiwana		
CC	13	12,1	0,1	c* = 0,93
CG	0	1,8	1,8	g* = 0,07
GG	1	0,1	8,1	
Razem	14	14,0	10	1,00
Brak wyniku [#]	1	0		
Razem	15			

d.f. = 1, p < 0,01

[#]w jednym przypadku nie uzyskano wiarygodnego wyniku

(także punktowych) w obrębie genów kontrolujących wzrost i różnicowanie komórek [8]. Mutacje punktowe w onkogenie *RET* zlokalizowane w różnych jego eksonach są podłożem rodzinnych zachorowań na raka rdzeniastego tarczycy [9, 10]. Okazało się, że fuzje onkogeny *RET* z innymi genami w obrębie chromosomu 10 lub na skutek rearanżacji *RET* z fragmentami chromosomów 7, 8, 14 czy 18 powodują aktywację tego onkogeny, co obserwuje się w dużym odsetku raków brodawkowatych tarczycy [11]. W rakach tarczycy biorą prawdopodobnie udział także geny *p53*, *Rb* (*retinoblastoma*), *p16INK4A* oraz *nm23* [12–15].

W celu udoskonalenia diagnostyki złośliwych zmian gruczołu tarczowego wiele ośrodków klinicznych, we współpracy z pracownikami molekularnymi, prowadzi badania, których celem jest znalezienie markera raka

tarczycy o jak najwyższej czułości i swoistości. W piśmiennictwie można znaleźć wiele informacji na temat ekspresji genów, których produkty występują w zwiększonych stężeniach w komórkach tarczycy w różnych patologicznych stanach tego gruczołu. Zwiększona ekspresja niektórych białek w komórkach nowotworowych jest głównym punktem zainteresowania wielu badaczy. Przykładem takiej substancji jest galektyna-3. Jak donoszą autorzy piśmiennictwa, zwiększona ekspresja galektyny-3 jest najczęściej obserwowana w komórkach raka brodawkowatego tarczycy [3, 4]. Część autorów uważa, że dodatnia reakcja na obecność Gal-3 w zmianach łagodnych tarczycy może świadczyć o potencjalnych nowotworowych właściwościach dodatnio barwiących się komórek. Polimorfizm genetyczny jest obecnie szeroko badany w celu wykorzystania go w diagnostyce klinicznej. Chociaż większość rodzajów polimorfizmu nie ma wpływu na cechy kliniczne fenotypu, to jednak podjęto próby wykorzystania ich jako markerów molekularnych chorób nowotworowych [16–18]. Oprócz polimorfizmów zmienności długości fragmentów restrykcyjnych (RFLP, *restriction fragment length polymorphism*), zmienności liczby powtórzeń tandemowych w sekwencjach minisatelitarnych (VNTR, *variable number of tandem repeats*) oraz mikrosatelitarnych (STRP, *short tandem repeat polymorphism*) w genomie człowieka spotyka się polimorfizmy zmienności pojedynczych nukleotydów (SNP). Polimorfizmy te są rozmieszczone na obszarze całego genomu. Są odmianami jednozasadowymi, o mniejszym wskaźniku zmienności niż polimorfizmy mikrosatelitarne czy VNTR. Dodatkowo charakteryzują się znacznie mniejszą częstością mutacji. W bazie SNP człowieka notuje się setki tysięcy tego typu polimorfizmów, a oczekuje się, że może ich być kilka milionów. Badania genetyczne koncentrują się w tych przypadkach na ustaleniu predyspozycji do chorób, takich jak: nowotwory, choroby układu krążenia, schorzenia reumatyczne czy niedobory odporności [19]. Naukowcy z Austrii badali polimorfizmy typu SNP w eksonie 13 i intronie 14 protoonkogenu *RET* u chorych ze sporadyczną i rodzinną postacią raka rdzenia tarczycy. Wyszuli oni wniosek, że wykazane polimorfizmy mogą pełnić rolę w rozwoju tych form raka [20]. Polimorfizmy typu SNP występują też w genie *LGALS3BP*, którego białkowym produktem jest galektyna-3. W niniejszej pracy spośród kilku polimorficznych miejsc typu SNP genu *LGALS3BP* zbadano 4 w obrębie regionu regulatorowego genu. W pierwszym przeanalizowanym miejscu polimorficznym rs 1803938 stwierdzono brak polimorfizmu we wszystkich badanych próbkach osób chorych oraz grupy kontrolnej. W obrębie miejsca polimorficznego rs 11024, zgodnie z oczekiwaniami, stwierdzono polimorfizm g/c w próbce kontrolnej i wśród badanych pacjentów. W obrębie miejsca polimorficznego rs 1801463, zgodnie z danymi zawartymi w bazie danych NCBI, oczekiwano polimorfizmu a/c,

tymczasem stwierdzono polimorfizm a/g w grupie kontrolnej i w grupie badanych pacjentów. W obrębie miejsca polimorficznego rs 131516 oczekiwano polimorfizmu c/t, którego nie wykryto, natomiast stwierdzono polimorfizm c/g w próbce kontrolnej i u badanych chorych. Nie zaobserwowano istotnych różnic w analizowanych miejscach polimorficznych genu *LGALS3BP* w badanych grupach pacjentów. Uzyskanych wyników nie porównano z danymi z innych ośrodków, ponieważ w dostępnej literaturze nie znaleziono informacji o formach polimorficznych tego genu występujących u chorych z nowotworami tarczycy.

Wnioski

Znaczenie dziedzicznych predyspozycji w przypadku raka brodawkowatego tarczycy nadal nie zostało więc potwierdzone, jednakże konieczne będzie sprawdzenie interakcji genu *LGALS3BP* z innymi genami biorącymi udział w karcynogenezie raka brodawkowatego tarczycy, jak również zbadanie pozostałych miejsc polimorficznych genu.

Piśmiennictwo

- Kadrofske M, Openo P, Wang L. 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.
- Feilcheefeldt J, Tutsch, Sien-Yi Shen i wsp. Expression of galectin-3 in normal and malignant thyroid tissue by quantitative PCR and immunohistochemistry. *Modern Pathology* 2003; 16 (11): 1117–1123.
- Cvejić D, Savin S, Petrović I i wsp. Differential expression of galectin-3 in papillary projections of malignant and non-malignant hyperplastic thyroid lesions. *Acta Chir Jugosl* 2003; 50 (3): 67–70.
- Kovacs R, Foldes J, Winkler G i wsp. The investigation of galectin-3 in diseases of the thyroid gland. *Eur J Endocrinol* 2003; 149 (5): 449–453.
- Kawachi K, Matsushita Y, Yonezawa S i wsp. Galectin-3 expression in various thyroid neoplasms and its possible role in metastasis formation. *Human Pathology* 2000; 31 (4): 428–433.
- Huang Y, Prasad M, Lemon W. Gene expression in papillary thyroid carcinoma reveals highly consistent profiles. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 15044–15049.
- Steffen J. Uwarunkowania dziedziczne w zachorowaniach na raka tarczycy. *Endokrynol Pol* 1995; 46 (supl. 2): 9–10.
- Łącka K. Podstawy molekularne nowotworów złośliwych tarczycy. *Endokrynol Pol* 1995; 46 (supl. 2): 29–39.
- Trupp M, Arena E, Fainzilber M. Functional receptor for GDNF encoded by the c-RET oncogene. *Nature* 1996; 381: 785–793.
- Wiench M, Kwaśniewski M, Gubała E. Mutacje somatyczne protoonkogenu *RET* w raku rdzeniastym tarczycy. *Wiad Lek* 2001; 54 (supl. 1): 415–421.
- Wiench M, Włoch J, Oczo M. Rearanżacje genu *RET* w raku brodawkowatym tarczycy. *Wiad Lek* 2001; 54 (supl. 1): 64–71.
- Lewiński A, Ferenc T, Sporny S, Jarzab B. Thyroid carcinoma: diagnostic and therapeutic approach: genetic background (review). *Endocrinol Regul* 2000; 34: 99–113.
- Soda G, Antonaci A, Bosco D. Expression of bcl-2, c-erbB-2, p53, and p21 (waf1-cip1) protein in thyroid carcinomas. *J Exp Clin Cancer Res* 1999; 18: 363–367.
- Freeman J, Carroll C, Asa S, Ezzat S. Genetic events in the evolution of thyroid cancer. *J Otolaryngol* 2002; 31: 202–206.
- Farid N. P53 mutations in thyroid carcinoma: tidings from and old foe. *J Endocrinol Invest* 2001; 24: 536–545.
- Li H, Chen XL, Li HQ. Polymorphism of *CYP1A1* and *GSTN1* genes associated with susceptibility of gastric cancer in Shandong Province of China. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 5757–5762.
- Zhang Y, Lang Q, Rothman N i wsp. A putative exonic splicing polymorphism in the *BCL 6* gene and risk of non-Hodgkin lymphoma. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97: 1616–1618.
- Zhu Q, Bian JC, Shen Q i wsp. Genetic polymorphism in X-ray cross-complementing gene 1 and susceptibility to papillary thyroid carcinoma. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi* 2004; 25: 702–705.
- McLeod HL. Pharmacogenetic analysis of clinically relevant genetic polymorphisms. *Clin Infect Dis* 2005; supl. 7: 449–452.
- Baumgartner-Parzer SM, Lang R, Wagner L i wsp. Polymorphism in exon 13 and intron 14 of *RET* proto-oncogene: Genetic modifiers of medullary thyroid carcinoma? *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 6232–6236.