

EVALUAREA EXPRIĂRII IMUNOHISTOCHIMICE A GALECTINEI-3 ÎN TUMORI PROSTATICE BENIGNE ȘI MĂLIGNE

Șef lucr.dr. **Daniela Diaconescu**, as.univ.dr. **Radu-Sorin Diaconescu**
Universitatea „Transilvania” din Brașov, Facultatea de Medicină

Abstract:

Galectin-3 (Gal-3), a β -galactosidase-binding protein, has been implicated in a variety of biological functions, including cell proliferation and differentiation, tumor cell adhesion, angiogenesis, apoptosis, tumor progression, and metastasis. To investigate the role of Gal-3 in the development and progression of prostate tumors, an immunohistochemical study with monoclonal anti-Gal-3 antibody in a series of 45 benign prostatic hyperplasias, as well as in 40 primary and metastatic prostate carcinomas was conducted. Gal-3 was detected mainly in the cytoplasm of epithelial cells in all samples of benign prostatic hyperplasia and prostate cancer and showed a heterogenous immunoreactivity. The level of expression of Gal-3 increased significantly in carcinomas, but there were no differences between Gal-3 levels in tumors with or without metastasis. These results indicate that Gal-3 has an important role in prostate tumor progression and suggest further studies.

Key-words: *galectin-3, immunohistochemistry, benign prostatic hyperplasia, prostate cancer*

Galectinele sunt o familie de lectine care au capacitatea de a lega β -galactozidaza. Galectina-3 (Gal-3), cea mai cunoscută și mai larg studiată dintre galectine, are două domenii: unul carboxiterminal, care leagă zaharidele și unul aminoterminal, care prezintă similitudini cu colagenul, fiind foarte susceptibil la colagenazele bacteriene și tisulare.

Deși structura și secvența genomică ale Gal-3 au fost identificate, funcțiile acesteia sunt mai puțin cunoscute. S-a sugerat implicarea ei într-o varietate de procese celulare, cum ar fi creșterea și diferențierea, adeziunea celulară, angiogeneza și apoptoza [10].

Rolul Gal-3 în cancerogeneza și metastazare constituie un subiect important pentru studiu. Gal-3 intervine în procesele de transformare neoplazică, proliferare, invazie și metastazare ale unor tumori maligne, cum ar fi carcinomul papilar tiroidian [3, 5], carcinomul mamar [6], carcinoamele scuamoase și adenocarcinoamele pulmonare [7], tumorile pituitare [10], cancerul colorectal [11], carcinomul uterin [12], melanoame [14] etc.

Datele privind exprimarea acestei lectine în prostata normală și în tumorile acesteia sunt contradictorii.

Studiul de față își propune o evaluare a exprimării imunohistochimice a Gal-3 în hiperplazia benignă și adenocarcinoamele prostatice folosind o metodă semicantitativă de apreciere a intensității colorației imunohistochimice.

Material și metodă

Studiul de față a fost efectuat pe 95 de cazuri de tumori prostatice - 45 hiperplazii benigne și 40 adenocarcinoame, diagnosticate histopatologic în Serviciul de Prosectură al Spitalului Clinic Județean Brașov, în perioada 1.01.2004-31.12.2005.

Prelucrarea eșantioanelor a fost făcută conform tehnicii histopatologice clasice: fixare în formol 10%, includere în parafină și secționare la o grosime de 5 μ m. S-au folosit două perechi de secțiuni, colorate cu hematoxilina-eozină, respectiv imunohistochimic, cu anticorpii monoclonali TIB 166, care recunoaște Gal-3. S-a aplicat protocolul de imunocolorare cu peroxidază, complex avidină-biotină (ABC), cromogenul utilizat fiind diaminobenzidina (DAB). S-au utilizat probe martor negative, în acest scop înlocuindu-se anticorpii primari cu ser de șobolan.

Colorația este considerată pozitivă atunci când se evidențiază un pigment brun în citoplasma sau în nucleii celulelor epiteliale.

Evaluarea colorației imunohistochimice s-a făcut prin examinarea secțiunilor tumorale cu obiectivul de 10x. S-a examinat toată suprafața tumorală și s-au apreciat distribuția și intensitatea colorației în fiecare câmp microscopic. Au fost atribuite 4 grade de intensitate: 0 – colorație absentă, 1 – slabă, 2 – moderată, 3 – intensă. Ariile cu diferite grade de colorare au fost exprimate procentual. Au fost comparate

procentele ariilor ocupate de diferite grade de colorare din totalul ariilor tumorale examinate. Analiza statistică s-a efectuat cu programul Statistica for Windows (StatSoft Inc). Pentru corelația parametrilor cantitativi a fost folosit testul t (Student) de comparare a mediilor. Datele au fost considerate statistic semnificative pentru valori ale $p < 0,05$.

Rezultate

Prin metoda de colorare folosită Gal-3 a fost evidențiată sub forma unui pigment de culoare brună localizat intracelular, deopotrivă

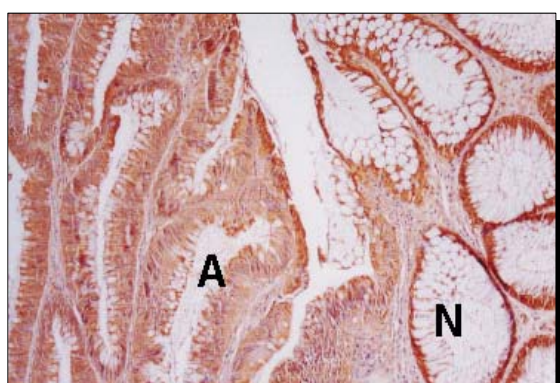


Fig. 1. Expimarea galectinei-3 în celule normale (N) și în celule adenomatoase (A) ale prostatei (TIB 166, x10).

în citoplasmă și în nucleu (fig. 1).

Valorile medii ale ariilor ocupate de diferite grade de imunomarcare obținute în lotul studiat sunt prezentate în tabelul 1 și tabelul 2.

Grad colorare	Media (%), DS	Minim (%)	Maxim (%)
0	3,45±4,45	0	22,5
1	27,88±12,10	0	54
2	54,76±14,55	23,5	84
3	13,9±12,69	0	70

Tabel 1. Modelul exprimării Gal-3 în hiperplaziile prostatice benigne studiate

În lotul de hiperplazii benigne ale prostatei (tabel 1) se remarcă predominanța ariilor cu grad mediu de colorare (grad 2), care ocupă mai mult de jumătate din suprafața tumorală totală ($54,76 \pm 14,55\%$). Ariile colorate slab au reprezentat $27,88 \pm 12,10\%$, iar cele colorate intens $13,9 \pm 12,69\%$. Diferențele între suprafețele ocupate de diferite grade au fost semnificative statistic ($p < 0,05$).

Grad colorare	Medie (%), DS	Minim (%)	Maxim (%)
0	3,25±4,71	0	24
1	13,45±10,23	0	42
2	47,11±14,46	14	66,67
3	36,19±20,62	8,68	86

Tabel 2. Modelul exprimării Gal-3 în carcinoamele prostatice studiate

Ca și în cazul tumorilor benigne, repartiția Gal-3 în celulele tumorale maligne a fost heterogenă (tabel 2). Analiza statistică a evidențiat predominanța gradelor de colorare înalte (2 și 3), suprafața tumorală cea mai mare exprimând un grad moderat de marcarea imunohistochimică. Valorile au fost cuprinse între $3,25 \pm 4,71\%$ pentru gradul 0 și $47,11 \pm 14,46\%$ pentru gradul 3. Diferențele înregistrate între suprafețele care au exprimat grade de colorare diferite au fost semnificative statistic ($p < 0,05$).

Majoritatea adenocarcinoamelor (38 cazuri – 80%) au fost mediu diferențiate din punct de vedere histologic (G2).

În tumorile cu grad de diferențiere redus (G3) au predominat ariile cu imunomarcare înaltă ($48,3 \pm 23,4\%$), care au fost semnificativ mai extinse decât în leziunile cu diferențiere moderată ($34,13 \pm 19,44\%$): $p = 0,01$.

În tumorile cu grad mediu de diferențiere histologică au predominat ariile cu marcarea moderată ($47,88 \pm 13,93\%$), valorile acestora fiind mai mari, dar nesemnificativ, decât în tumorile slab diferențiate ($38,09 \pm 17,1\%$) (tabel 3).

Grad colorare	Media (%), DS	Minim (%)	Maxim (%)
0	3,45±4,45	0	22,5
1	27,88±12,10	0	54
2	54,76±14,55	23,5	84
3	13,9±12,69	0	70

Tabel 3. Distribuția Gal-3 în carcinoamele prostatice în funcție de gradul de diferențiere

În lotul studiat au fost prezente 15 cazuri de adenocarcinoame cu metastaze limfogan-glionare, modelul de distribuție a Gal-3 la nivelul acestora fiind prezentat în tabelul 4.

Grad colorare	Medie (%), DS	Minim (%)	Maxim (%)
0	5,61±6,61	0	15
1	11,36±12,88	0	85,38
2	52,97±24,04	9,09	66,67
3	30,06±9,0	10,78	72,73

Tabel 4. Distribuția Gal-3 în metastaze

Diferențele dintre tumorile primare și metastazele lor limfoganglionare nu au avut semnificație statistică, cele două categorii de leziuni având un comportament aproape identic.

Analiza comparativă a exprimării Gal-3 în hiperplaziile benigne și carcinoamele prostatice a relevat faptul că procentul ariilor tumorale care au avut grade de marcarea diferită a variat semnificativ în cadrul celor două categorii tumorale, cu excepția gradului 0, pentru care rezultatele au fost apropiate (tabel 4).

Grad colorare	Hiperplazii benigne (%)	Carcinoame (%)	p
0	3,45±4,45	3,25±4,71	>0,005
1	27,88±12,10	13,45±10,23	<0,005
2	54,76±14,55	47,11±14,46	<0,005
3	13,9±12,69	36,19±20,62	<0,005

Tabel 4. Comparație între distribuția Gal-3 în hiperplazii benigne și carcinoame

Trecerea de la benignitate la malignitate este însoțită de scăderea ariilor cu grad de colorare redus și de creșterea ariilor cu imunomarcare intensă.

Discuții

Gal-3 a fost studiată în numeroase neoplasme, cu diferite rezultate. Există controverse privind relația Gal-3 cu tumorile prostatice; din acest motiv, scopul acestui studiu a fost analiza acestei lectine într-o serie de hiperplazii benigne și adenocarcinoame ale prostatei.

Unii autori au raportat valori scăzute ale Gal-3 în carcinoame față de țesutul normal [4, 9, 13].

Alți autori au găsit valori crescute în tumorile slab diferențiate, precum și în stadii mai avansate de boală în comparație cu tumorile aflate în stadii incipiente [1, 2, 8, 15], rezultate ce concordă cu observațiile acestui studiu.

CONCLUZII

Identificarea mecanismelor complexe care guvernează relația dintre galectina-3 și progresia tumorală în cancerul prostatic rămâne o problemă deschisă. Elementul de certitudine este modificarea semnificativă a exprimării acestei lectine în decursul transformării neoplazice prostatice. Acest studiu, prin rezultatele obținute, vine în sprijinul acestei idei.

Bibliografie

- [1] Ahmed H., Banerjee P.B., Vasta G.R.- Differential expression of galectins in normal, benign and malignant prostate epithelial cells: silencing of galectin-3 expression in prostate cancer by its promoter methylation. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 358: 241-246.
- [2] Ahmed H., Cappello F., Rodolico V., Vasta G.R. - Evidence of heavy methylation in the galectin 3 promoter in early stages of prostate adenocarcinoma: development and validation of a methylated marker for early diagnosis of prostate cancer. *Transl Oncol* 2009; 2(3): 146-156.
- [3] Cvejic D., Savin S., Petrovic I., Paunovic I., Tatic S., Krgovic K., Havelka M. - Galectin-3 expression in papillary microcarcinoma of the thyroid. *Histopathol* 2005; 47(2): 209-214.
- [4] Ellerhorst J.A., Stephens L.C., Nguyen T., Xu X.C. - Effects of galectin-3 expression on growth and tumorigenicity of the prostate cancer cell line LNCaP. *Prostate*, 2002; 50(1): 64-70.
- [5] Hermann M.E., LiVolsi V.A., Pasha T.L., Roberts S.A., Wojcik E.M., Baloch Z.W. - Immunohistochemical expression of galectin-3 in benign and malignant thyroid lesions. *Arch Pathol Lab Med* 2002; 126(6): 710-713.
- [6] Idikio H. - Galectin expression in human breast carcinoma: Correlation with cancer histologic grade. *Int J Oncol* 1998; 12: 1287-1290.
- [7] Mathieu A., Saal I., Vuckovic A., Ransy V., Vereerstraten P., Kaltner H., Gabius H.J., Kiss R., Decaestecker C., Salmon I., Rummelink M. - Nuclear galectin-3 expression is an independent predictive factor of recurrence for adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the lung. *Mod Pathol* 2005; 18: 1264-1271.
- [8] Merseburger A.S., Kramer M.W., Hennenlotter J., Simon P., Knapp J., Hartmann J.T., Stenzl A., Serth J., Kuczyk M.A. Involvement of decreased galectin-3 expression in the pathogenesis of prostate cancer. *Prostate* 2008; 68(1): 72-77.
- [9] Pacis R.A., Pilat M.J., Pienta K.J., Wojno K., Raz A., Hogan V., Cooper C.R. - Decreased galectin expression in prostate cancer. *Prostate* 2000;44(2):118-123.
- [10] Riss D., Jin L., Qian X., Bayliss J., Scheithauer BW, Young WF Jr, Vidal S, Kovacs K, Raz A, Lloyd RV. Differential

- expression of galectin-3 in pituitary tumors. *Cancer Res* 2003;63:2251.
- [11] Sanjuan X., Fernandez P.L., Castells A., Castronovo V., Van den Brule F., Liu F.T., Cardesa A., Campo E. - Differential expression of galectin 3 and galectin 1 in colorectal cancer progression. *Gastroenterol* 1997; 113(6): 1906-1915.
- [12] Van den Brule F.A., Buicu C., Berchuck A. Expression of the 67-kD laminin receptor, galectin-1, and galectin-3 in advanced human uterine adenocarcinoma. *Hum Pathol* 1996; 27: 1185-1191.
- [13] Van den Brule F.A., Waltregny D., Liu F.T., Castronovo V. - Alteration of the cytoplasmic/ nuclear expression pattern of galectin-3 correlates with prostate carcinoma progression. *Int J Cancer*, 2000; 89(4): 361-367.
- [14] Vereecken P., Debray C., Petein M., Awada A., Lalmand M.C., Laporte M., Van den Heule B., Verhest A., Pochet R., Heenen M. - Expression of galectin-3 in primary and metastatic melanoma: immunohistochemical studies on human lesions and nude mice xenograft tumors. *Arch Dermatol Res* 2005; 296(8): 353-358.
- [15] Wang Y., Nangia-Makker P., Tait L., Balan V., Hogan V., Pienta K.J., Raz A. - Regulation of prostate cancer progression by galectin-3. *Am J Pathol* 2009;174(4):1515-1523.