

O Polimorfismo no Códon 98 do Gene de Galectina-3 Não Está Associado a Tumores Benignos e Malignos de Tiróide

artigo original

RESUMO

Galectina-3 é uma proteína multifuncional altamente expressa em câncer de tiróide. O gene de galectina-3 (*LGALS3*) apresenta vários candidatos a SNPs anotados, no entanto a relação entre estes SNPs e variações fenotípicas específicas relevantes à saúde não foi avaliada. Neste estudo, investigamos SNPs do *LGALS3* e uma possível associação destes com a tumorigênese tireoidiana. A presença de SNPs do *LGALS3* em linhagens de carcinoma de tiróide (WRO, NPA, TPC-1, ARO), tecidos tireoidianos de 55 pacientes com diagnóstico de bócio multinodular ou carcinoma papilífero e linfócitos do sangue periférico de 45 indivíduos saudáveis foi avaliada por seqüenciamento e SSCP. A análise da seqüência codificadora do *LGALS3* mostrou que o sítio T98P apresenta uma grande variação genotípica, visto que observamos os padrões homozigoto (AA ou CC) e heterozigoto (AC). Em linhagens de carcinoma de tiróide, o genótipo da NPA no sítio T98P do *LGALS3* é CC, enquanto TPC-1, WRO e ARO são AC. As freqüências genotípicas do T98P do *LGALS3* observadas em bócio multinodular (AC= 67%, AA= 23%, CC= 10%) e carcinoma papilífero (AC= 68%, AA= 20%, CC= 12%) foram semelhante à freqüência observada na população controle (AC= 60%, AA= 24%, CC= 16%). Em conclusão, não observamos associação entre o genótipo T98P do *LGALS3* e o fenótipo de tumor benigno ou maligno de tiróide. (Arq Bras Endocrinol Metab 2006;50/6:1075-1081)

Descritores: Câncer de tiróide; Galectina-3; *LGALS3*; Polimorfismo de um único nucleotídeo; Seqüenciamento; Polimorfismo conformacional de simples fita

ABSTRACT

Polymorphism on Codon 98 of the Galectin-3 Gene Are Not Associated to Benign and Malignant Thyroid Tumors.

Galectin-3 is a multifunctional protein highly expressed in thyroid cancer. The galectin-3 gene (*LGALS3*) has several annotated candidates SNPs, however the relationship between galectin-3 SNPs and specific phenotypic variations relevant to health has not been evaluated. In this study, we investigated SNPs in the galectin-3 gene and a putative association with thyroid tumorigenesis. The presence of *LGALS3* SNPs in thyroid carcinoma cell lines (NPA, TPC-1, WRO, ARO), thyroid tissues of 55 patients with multinodular goiter or papillary carcinoma diagnosis and lymphocytes of peripheral blood of 45 healthy individuals was evaluated by sequencing and SSCP. The analysis of *LGALS3* coding sequence showed that the T98P site presents a great genotypic variation, since we observed both homozygous (AA or CC) and heterozygous (AC) patterns. In thyroid carcinoma cell lines, the genotype of NPA in the *LGALS3* T98P site is CC, while TPC-1, WRO and ARO are AC. The genotypic frequency of T98P SNP observed in multinodular goiter (AC= 67%; AA= 23%; CC= 10%) and papillary carcinoma (AC= 68%; AA= 20%; CC= 12%) were similar to the frequency observed in the control population (AC= 60%, AA= 24%, CC= 16%). In conclusion, no association between *LGALS3* T98P genotype and the phenotype of the benign or malignant thyroid tumor was observed. (Arq Bras Endocrinol Metab 2006;50/6:1075-1081)

Arq Bras Endocrinol Metab vol 50 nº 6 Dezembro 2006

**Luciane Martins
Suzana Garcia Leoni
Celso U.M. Friguglietti
Laura Sterian Ward
Marco Aurélio V. Kulcsar
Edna Teruko Kimura**

Departamento de Biologia Celular e do Desenvolvimento (LM, SGL & ETK), Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; Departamento de Cirurgia de Cabeça e Pescoço (CUMF & MAVK), Faculdade de Medicina da Universidade de Santo Amaro (UNISA); e Laboratório de Genética Molecular do Câncer, Departamento de Medicina (LSW), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.

*Recebido em 30/03/05
Revisado em 13/01/06 e 12/05/06
Aceito em 23/06/06*

1075

Keywords: Thyroid cancer; Galectin-3; LGALS3; Single nucleotide polymorphism (SNP); Sequencing; Single-strand conformation polymorphism (SSCP)

GALECTINA-3 É UMA PROTEÍNA monomérica de 30 kDa que pertence à crescente família de lectinas animais, as galectinas. Galectina-3 tem sido associada à transformação maligna e metástase em vários tecidos (1). Na tiróide, estudos mostram que o bloqueio *anti-sense* de galectina-3 é capaz de reverter o fenótipo maligno em linhagem celular de carcinoma papilífero (NPA), sugerindo um importante papel desta proteína na tumorigênese tireoidiana (2). Além disso, vários autores mostraram uma correlação entre a expressão da proteína galectina-3 e o câncer de tiróide, sugerindo sua utilização como um marcador molecular no diagnóstico de câncer (3-7). Por outro lado, o potencial de galectina-3 como um marcador capaz de distinguir lesões benignas de câncer de tiróide ainda é controverso, uma vez que mostramos que galectina-3 também pode estar expressa em tumores benignos (8). Desta forma, embora a expressão de galectina-3 tenha sido amplamente estudada na tiróide para fins diagnósticos, até o momento muito pouco é conhecido sobre o seu papel funcional e seu envolvimento na gênese do câncer de tiróide.

O estudo de variações genéticas como o SNP (do inglês *Single Nucleotide Polimorphism*) tem auxiliado na compreensão de fatores que influenciam na suscetibilidade a doenças genéticas complexas como o câncer (9). Existem evidências de que o SNP do *TGFBR1*, denominado *TGFBR1*6A*, pode aumentar o risco de câncer de ovário, mama e cólon (10). Na tiróide, o estudo de SNPs de genes relacionados à função oncogênica, supressão tumoral e função tireoidiana tem contribuído para o entendimento da gênese e predisposição ao câncer. O SNP G691S do *RET* tem sido associado ao aumento do risco de desenvolver carcinoma papilífero (11). Além disto, uma função de modulação genética no desenvolvimento de carcinoma medular de tiróide tem sido atribuída a outros SNPs deste mesmo gene (12). O SNP no códon 72 do *TP53* tem sido associado ao aumento do risco de desenvolver câncer de célula folicular de tiróide (carcinoma folicular e papilífero), e este risco aumenta ainda mais quando associado a fatores ambientais, tais como tabagismo, álcool e medicamentos (13). Um SNP no *FAS*, embora silencioso, foi associado ao carcinoma papilífero, mas não a outras patologias da tiróide (14). No gene da tiroglobulina, estudos sugerem que a variação polimórfica deste gene exerce um efeito direto no risco de desenvolver carcinomas foliculares de tiróide (15).

O gene da galectina-3 em humanos, o *LGALS3*, está localizado no locus 14q21-22 e transcreve para um mRNA de 1,1 kb com 6 éxons e 5 introns (16). Vários SNPs situados em regiões codificadoras e não-codificadoras do *LGALS3* estão anotados nos bancos de dados públicos de *Single Nucleotide Polimorphism* do NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?CMD=search&DB=snp>). Dentre os polimorfismos descritos para o *LGALS3*, o SNP T98P é o melhor caracterizado, uma vez que suas frequências genotípica e alélica já foram estudadas em populações na América do Norte, Ásia e África (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=Snp&dopt=GEN&list_uids=4652).

Embora a expressão de galectina-3 tenha sido associada ao câncer de tiróide, uma relação entre SNPs do *LGALS3* e o câncer ainda não foi investigada. Neste estudo, investigamos o padrão de SNPs no *LGALS3* em tumores de tiróide pelo método de seqüenciamento e expandimos esta análise para o SNP T98P do *LGALS3* usando o método de SSCP.

MATERIAL E MÉTODOS

Material biológico

Linhagens celulares de tiróide

As linhagens celulares de tiróide humana, carcinoma papilífero (NPA e TPC-1), carcinoma folicular (WRO) e carcinoma anaplásico (ARO) foram cedidas pelo Dr. James A. Fagin (*Division of Endocrinology, The University of Cincinnati, Cincinnati, Ohio, USA*). As células foram cultivadas até a semiconfluência em meio RPMI 1640 suplementado com 10% de Soro Bovino Fetal (SBF) (CultiLab, Campinas, SP, Brasil), e mantidas em estufa a 37°C em ambiente com 95% O₂ e 5% de CO₂.

Tecidos tumorais de tiróide

Neste estudo foram incluídos 55 pacientes do Departamento de Cirurgia de Cabeça e Pescoço da Faculdade de Medicina da Universidade de Santo Amaro (UNISA), São Paulo, SP. As amostras de tecidos tireoidianos frescos preservados em RNA Later (Ambion, Austin, TX) e tecidos tireoidianos emblocados em parafina foram provenientes de pacientes com diagnóstico pré-estabelecido de BMN (n= 30) e carcinoma papilífero (n= 25). Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNISA (nº121/2003, Registro CEP UNISA 142/2003) e do Instituto de Ciências Biomédicas da USP (nº 419/CEP, 2003), Universidade de São Paulo.

População controle

A população controle foi constituída de 45 indivíduos saudáveis (masculinos= 21 e femininos= 24) com idade entre 20–56 ± 32 anos, sem história de doença tireoidiana prévia, exposição à radiação e antecedentes de malignidade. As amostras de sangue periférico destes indivíduos foram coletadas no Hemocentro da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Campinas (nº 072/98).

Extração de RNA e DNA

Extração de RNA

O RNA total foi extraído de amostras de tecidos tireoidianos (BMN= 21 e CP= 14) e linhagens celulares (WRO, NPA, TPC-1 e ARO), utilizando reagente TRIZOL® (Invitrogen™, Carlsbad, CA, USA) conforme as especificações do fabricante.

Extração de DNA de blocos de parafina

O DNA foi extraído de cortes de tecidos tireoidianos fixados em formol e emblocados em parafina. Áreas de tumor foram selecionadas. O tecido foi digerido com um tampão de lise comercial (Gentra Systems, Inc., Minneapolis, MN, USA) e proteinase K (1,8 mg/ml) a 55°C por 16 h. Em seguida, as proteínas foram precipitadas com NaCl 5M e o DNA foi isolado com isopropanol 100% na presença de Glicogênio.

Extração de DNA de linfócitos do sangue periférico

O DNA genômico foi extraído de leucócitos do sangue periférico dos 45 doadores voluntários usando um protocolo padrão Fenol-Clorofórmio-Proteinase (13).

Transcrição reversa e PCR

Transcrição reversa

A síntese do DNA complementar foi gerada por transcrição reversa (RT) em uma reação contendo: 3 µg de RNA total, 200 ng de *Random primer*, 200 U de M-MLV-reverse transcriptase, 1 mM de dNTP mix, 10 U de inibidor de RNase em um volume final de 20 µl. A reação foi incubada a 21°C por 10 min, 42°C por 30 min e 99°C por 10 min (8).

Reação em cadeia da polimerase

O cDNA foi amplificado por reação em cadeia da polimerase (PCR) utilizando 2,5 U de Taq DNA polimerase (Invitrogen™), 1,5 mM de MgCl₂, 0,2 mM de dNTP mix e 30 pmol de *primers sense* e *anti-sense*,

para um volume final de 50 µl. Os primers foram construídos com base na seqüência de mRNA da galectina-3 humana (GenBank: AB006780), sense A: 7AGCACCTCCTCGCCAGCA²⁴ (éxon 1) ou B: 77TGATGCGTTATCTGGGTCTG⁹⁶ (éxon 3) e *anti-sense*: C: 787GCACTGGTGAGGTCTATGTC⁷⁶⁸ (éxon 6), abrangendo cerca de 780 pb do mRNA de galectina-3. A reação foi realizada em 32 ciclos de 94°C por 35 seg, 60°C por 30 seg, 72°C por 45 seg, seguido de extensão a 72°C por 7 min, em um termociclador *GeneAmp PCR System 9700* (Applied Biosystems, Foster, CA, USA).

Análise de polimorfismos no gene de galectina-3

Seqüenciamento direto

Os produtos do PCR de 781 pb e 711 pb foram purificados, amplificados usando *primers* A, B ou C em uma reação contendo deoxinucleotídeos marcados (ET terminator) e, em seguida, levados ao seqüenciador multicapilar MegaBace1000 (Molecular Dynamics, Inc., Sunnyvale, CA, USA) (8). A similaridade das seqüências obtidas foi comparada ao banco de dados do genoma humano usando programa BLASTNT 2.2 (17), e os SNPs foram identificados após o alinhamento das seqüências usando programa Clustalx (18).

Single-Strand Conformation Polymorphism (SSCP)

A região polimórfica do *LGALS3* em amostras de cDNA e de DNA foi amplificada por PCR usando *primers sense* 315GCCTACCCATCTTCTGGACA³³⁴ (éxon 3) e *anti-sense* 542GAAGCGTGGGTTAAAGTGGA⁵²³ (éxon 5) e *sense* 272ACCTGCACCTGGAGTCTACC²⁹¹ (éxon 3) e *anti-sense* AAGCCCTCTGCATGTCAAGT (intron 3), respectivamente. Uma alíquota do produto amplificado de 228 pb ou 170 pb proveniente de amostras de cDNA ou DNA, respectivamente, foi diluída 1:3 em formamida 95%, 60 mM NaOH, 10 mM EDTA, 0,1% de bromofenol blue, 0,1% de xilene-cianol, desnaturado a 95°C por 5 minutos. A migração diferencial das fitas de cDNA (228 pb) e DNA (170 pb) após desnaturação foi obtida nas seguintes condições: para amostras de cDNA a eletroforese foi realizada em gel 0,8% MDE™ (FMC BioProducts, Rockland, ME, USA) em solução TBE 0,6%, 180 V por 16 horas, enquanto que para amostras de DNA a eletroforese foi realizada em gel 0,7% MDE™ (FMC BioProducts) contendo 10% de glicerol em solução de TBE 0,6%, 180V por 20 horas. Após coloração do gel com SYBR®Gold (Molecular Probes, Inc., Eugene, OR), o

padrão de migração das fitas de cDNA foi visualizado usando um *software* ImageQuant acoplado a um sistema de captura de imagem Typhoon 8600 (Molecular Dynamics) sensível a SYBR.

Análise estatística

A distribuição dos genótipos para o SNP T98P do *LGALS3* (AC, AA e CC) foi comparada entre os casos de carcinoma papilífero, bócio multinodular e controle usando teste χ^2 . A hipótese de uma associação entre o padrão SNP e o risco de desenvolver tumor benigno ou maligno foi testada pelo teste exato de Fisher, usando um programa estatístico GraphPad V2. 0.5a. Uma possível associação entre fenótipo maligno e cada um dos genótipos (AC, AA, CC) foi calculada por *Odds Ratio* (OR) com intervalo de confiança (IC) de 95%. Os valores de $p \leq 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

RESULTADOS

A análise de SNPs em toda a extensão da seqüência codificadora de galectina-3 expressa em tecidos tumorais benignos (n= 10) e malignos (n= 10) de tiróide humana, mostrou a presença dos SNPs P64H (éxon 3), T98P (éxon 3), R183K (éxon 5) e Q201H (éxon 6), e ausência de SNPs nos códons Y54H (éxon 3) (TT= 1,0) e Q220X (éxon 6) (CC= 1,0). Dentre os SNPs observados por seqüenciamento, o códon 98 apresentou grande variação entre as freqüências genotípicas (Benignos AC= 0,29, AA= 0,71, CC= 0,00 vs. Malignos AC= 0,00, AA= 0,625, CC= 0,375), comparado aos códons 64 (Benignos CA= 0,14, CC= 0,86, AA= 0,00 vs. Malignos CA= 0,00, CC= 0,875, AA= 0,125), 183 (Benignos GA= 0,09, GG= 0,82, AA= 0,09 vs. Malignos GA= 0,00, GG= 1,00, AA= 0,00) e 201 (Benignos AT= 0,09, AA= 0,91, TT= 0,00 vs. Malignos AT= 0,18, AA= 0,73, TT= 0,09).

A análise específica do SNP T98P do *LGALS3* foi avaliada em 55 pacientes com doença tireoidiana (BMN= 30 e CP= 25) e na população controle (n= 45) por SSCP. O SNP T98P situa-se no éxon 3 do gene da galectina-3 humana (346-nt, GenBank: AB006780), onde observamos uma transversão A→C da primeira base no códon 98, resultando na substituição do aminoácido treonina (Thr) para uma prolina (Pro) (figura 1). Este SNP foi observado tanto em heterozigose (AC) quanto em homozigose para o alelo A (AA) ou para o alelo C (CC). O padrão de migração das fitas de cDNA ou DNA com genótipo AC, AA e CC é mostrado na figura 1B e 1C. Em linhagens celulares de carcinoma de tiróide, o genótipo

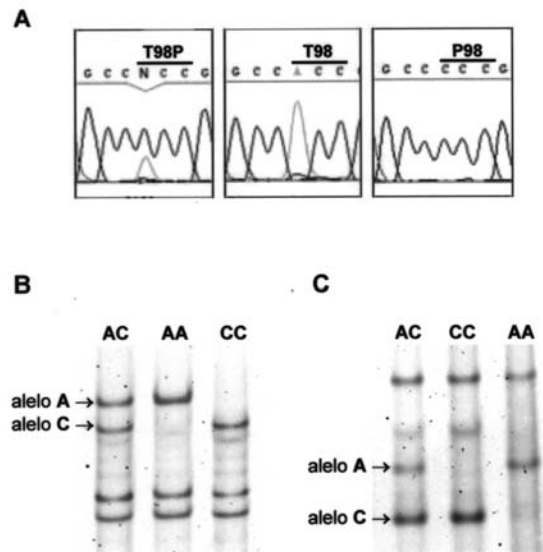


Figura 1. Polimorfismo T98P do *LGALS3*. A: Cromatograma representativo do seqüenciamento, mostrando a detecção de ambas as bases adenina e citosina na posição 1 do códon 98 do *LGALS3* (N), detecção apenas da base adenina (A) ou apenas de citosina (C), respectivamente. B: Análise SSCP para o SNP T98P do *LGALS3* em amostras de RNA. Gel representativo do SSCP mostrando o padrão de migração das fitas de cDNA em uma amostra heterozigota (AC), homozigota para o alelo A (AA) e homozigota para o alelo C (CC), respectivamente. C: Análise SSCP para SNP T98P do *LGALS3* em amostras de DNA genômico. Gel representativo do SSCP mostrando o padrão de migração das fitas de DNA em uma amostra heterozigota (AC), homozigota para o alelo A (AA) e homozigota para o alelo C (CC), respectivamente.

de NPA é CC, enquanto TPC-1, WRO e ARO são AC. Em tecidos tireoidianos, o genótipo de pacientes com diagnóstico de carcinoma papilífero foi AC em 68% dos casos, AA em 20% e CC em 12% (tabelas 1 e 2, figura 2), enquanto o genótipo de pacientes com bócio multinodular foi AC em 67% dos casos, AA em 23% e CC em 10% (tabelas 1 e 3, figura 2). Na população controle, o genótipo foi AC em 60% dos casos analisados, AA em 24% e CC em 16% (tabela 1, figura 2). Considerando estes resultados, não houve associação significativa entre o genótipo (AC, AA, CC) e o fenótipo de doença benigna ou maligna da tiróide quando comparado à população controle ($\chi^2= 0,801$, $p= 0,938$). O risco relativo de desenvolver carcinoma papilífero de tiróide não foi associado ao genótipo AA (OR= 0,722; 95% IC= 0,213 a 2,443; $p= 0,764$) nem CC (OR= 0,681; 95% IC= 0,154 a 2,998; $p= 0,728$) quando comparado à população controle. Além disso, o risco relativo de desenvolver carcinoma papilífero também não foi associado ao genótipo AA (OR= 0,927; 95% IC= 0,528 a 1,627; $p= 1,000$) nem CC (RR= 1,081; 95% IC= 0,460 a 2,539; $p= 1,000$) quando comparado à doença tireoidiana benigna (BMN).

Tabela 1. Distribuição genotípica do SNP T98P do LGALS3.

	AC	AA	CC
População controle (n= 45)	27 (60%)	11 (24%)	7 (16%)
Bócio multinodular (n= 30)	20 (67%)	7 (23%)	3 (10%)
Carcinoma papilífero (n= 25)	17 (68%)	5 (20%)	3 (12%)

Tabela 2. Dados clínicos e genótipo de pacientes com carcinoma papilífero.

	Sexo	Idade (anos)	Metástase	Tipo de amostra	SNP T98P
CP 1	F	58	Não	cDNA	AC
CP 2	F	32	Sim	cDNA	AC
CP 3	F	30	Não	cDNA	AC
CP 4	F	45	Não	cDNA	AC
CP 5	F	23	Não	cDNA	AC
CP 6	F	40	Não	cDNA	CC
CP 7	M	43	Sim	cDNA	AC
CP 8	F	54	Não	cDNA	AC
CP 9	F	35	Não	cDNA	AC
CP 10	F	60	Não	cDNA	AC
CP 11	F	42	Não	cDNA	AA
CP 12	M	37	Sim	cDNA	AC
CP 13	F	80	Não	cDNA	AA
CP 14	F	33	Não	cDNA	AC
CP 15	M	32	Não	DNA	CC
CP 16	F	70	Sim	DNA	AC
CP 17	F	30	Sim	DNA	AA
CP 18	F	42	Não	DNA	AA
CP 19	F	42	Não	DNA	AC
CP 20	F	45	Não	DNA	AC
CP 21	F	60	Não	DNA	AC
CP 22	F	43	Não	DNA	AC
CP 23	F	35	Não	DNA	AA
CP 24	M	31	Não	DNA	CC
CP 25	F	46	Não	DNA	AC

Feminino (F), Masculino (M), homocigoto para o alelo A (AA), homocigoto para o alelo C (CC) e heterocigoto (AC).

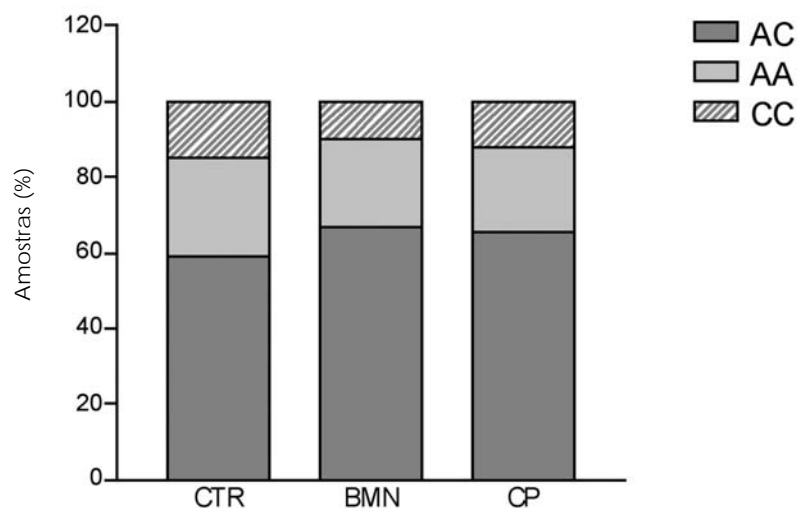


Figura 2. Distribuição genotípica do SNP T98P do LGALS3. O gráfico mostra a distribuição dos genótipos AC, AA e CC na população controle (CTR), e em pacientes com diagnóstico de bócio multinodular (BMN) e carcinoma papilífero (CP).

Tabela 3. Dados clínicos e genótipo de pacientes com bócio multinodular.

	Sexo	Idade	Tipo de amostra (anos)	SNP T98P
BMN 1	F	29	cDNA	AC
BMN 2	F	33	cDNA	AC
BMN 3	F	27	cDNA	AC
BMN 4	F	34	cDNA	AA
BMN 5	F	25	cDNA	AC
BMN 6	F	24	cDNA	CC
BMN 7	F	53	cDNA	AC
BMN 8	F	47	cDNA	AC
BMN 9	F	39	cDNA	AC
BMN 10	F	66	cDNA	AC
BMN 11	F	53	cDNA	CC
BMN 12	F	32	cDNA	AA
BMN 13	F	33	cDNA	AC
BMN 14	F	31	cDNA	AC
BMN 15	F	26	cDNA	AC
BMN 16	F	44	cDNA	AC
BMN 17	F	36	cDNA	AC
BMN 18	F	51	cDNA	AC
BMN 19	F	66	cDNA	AC
BMN 20	F	50	cDNA	AC
BMN 21	F	37	cDNA	AC
BMN 22	M	43	DNA	AA
BMN 23	F	31	DNA	AA
BMN 24	F	46	DNA	AC
BMN 25	F	80	DNA	AA
BMN 26	F	36	DNA	CC
BMN 27	F	47	DNA	AC
BMN 28	F	44	DNA	AA
BMN 29	F	52	DNA	AC
BMN 30	F	66	DNA	AA

Feminino (F), Masculino (M), homocigoto para o alelo A (AA), homocigoto para o alelo C (CC) e heterocigoto (AC).

DISCUSSÃO

Após o seqüenciamento completo do genoma humano foram identificados cerca de 1,4 milhões de SNPs, sendo que aproximadamente 60.000 estão situados na região codificante dos genes (19). SNPs situados na seqüência codificadora podem afetar a função ou a eficiência da proteína e, assim, modular a resposta a drogas e suscetibilidade a doenças (9,19). Neste estudo, observamos que os SNPs nos códons 64, 98, 183 e 201 do *LGALS3* estão presentes em tumores benignos e malignos de tiróide. Dentre estes, o SNP do códon 98 apresentou uma maior variação genotípica entre as amostras de tumores benignos e malignos. O SNP do códon 98 de galectina-3 ocasiona a substituição do aminoácido prolina (não-polar) para uma treonina (polar não-iônico) no domínio N-terminal da proteína. Alteração deste tipo, não-conservativa, que acarreta na substituição de um aminoácido por outro com propriedades químicas diferentes, apresenta uma maior probabilidade de produzir mudanças na estrutura e função da proteína (19). Embora a participação da região N-terminal de galectina-3 na sua função biológica não seja totalmente compreendida, sugere-se que este domínio seja responsável pela localização celular de galectina-3

e um sítio de interação com outras proteínas, modulando assim as múltiplas funções de galectina-3 na célula (20). Por outro lado, não sabemos se o SNP do códon 98 de galectina-3 tem relevância estrutural e funcional, pois a estrutura cristalográfica do domínio N-terminal de galectina-3 não está determinada.

Em linhagens celulares de tiróide, o genótipo para o SNP T98P do *LGALS3* observado em NPA é CC, enquanto os genótipos de TPC-1, WRO, ARO são AC, sugerindo que não existe associação entre o genótipo e diferentes tipos histológicos de carcinoma tireoidiano. Além disto, o estudo de amostras de tecido tireoidiano mostrou que a proporção de heterocigotos e as freqüências alélicas observadas nas amostras de BMN (AC= 0,67, alelo A= 0,56 e alelo C= 0,44) e carcinomas papilíferos (AC= 0,68, alelo A= 0,54, alelo C= 0,46) são semelhantes às observadas na população controle (AC= 0,60, alelo A= 0,54, alelo C= 0,46). Interessante notar que a proporção de heterocigotos e a freqüência alélica observada neste estudo são semelhantes às observadas na população norte-americana de Utah, USA (AC= 0,517, alelo A= 0,525 e alelo C= 0,475) quando comparada à população japonesa de Tokyo, Japão (AC= 0,386, alelo A= 0,580 e alelo C= 0,420), chinesa de Beijing, China (AC= 0,422, alelo A= 0,589 e alelo C= 0,411), e africana da

Nigéria, África (AC= 0,085, alelo A= 0,042 e alelo C= 0,958) (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=Snp&dopt=GEN&list_uids=4652,15/12/2005).

Embora a função de galectina-3 não esteja totalmente compreendida, a expressão de galectina-3 foi amplamente avaliada em neoplasias tiroidianas, sendo considerada um promissor marcador molecular para diferenciar lesão folicular benigna de maligna (3-6). O estudo de SNPs tem contribuído na identificação e compreensão de genes que influenciam o risco de desenvolver câncer (9-15). Desta forma, SNP do *LGALS3* poderia estar implicado na predisposição ou gênese do câncer de tiróide. Neste estudo, constatamos que não há associação entre os diferentes genótipos do SNP T98P do *LGALS3* e o fenótipo de tumor benigno ou maligno de tiróide. Entretanto, estudos adicionais ainda são necessários para estabelecer se outros SNPs (P64H, R183K e Q201H) podem estar associados ao câncer de tiróide. Além disto, a caracterização da função de galectina-3 na tiróide, ainda desconhecida, poderá esclarecer a relevância do SNP T98P no papel biológico de galectina-3 na célula folicular tiroideana.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq). LM — FAPESP: 02/12722-3, SGL — CNPq: 571451/2001-2 e ETK — CNPq: 302917/2003-9.

REFERÊNCIAS

1. Liu FT, Patterson RJ, Wang JL. Intracellular functions of galectins. *Biochim Biophys Acta* 2002;1572(2-3):263-73.
2. Yoshii T, Inohara H, Takenaka Y, Honjo Y, Akahani S, Nomura T, et al. Galectin-3 maintains the transformed phenotype of thyroid papillary carcinoma cells. *Int J Oncol* 2001;18(4):787-92.
3. Xu XC, el-Naggar AK, Lotan R. Differential expression of galectin-1 and galectin-3 in thyroid tumors. Potential diagnostic implications. *Am J Pathol* 1995;147(3):815-22.
4. Inohara H, Honjo Y, Yoshii T, Akahani S, Yoshida J, Hattori K, et al. Expression of galectin-3 in fine-needle aspirates as a diagnostic marker differentiating benign from malignant thyroid neoplasms. *Cancer* 1999;85(11):2475-84.
5. Bartolazzi A, Gasbarri A, Papotti M, Bussolati G, Lucante T, Khan A, et al. Application of an immunodiagnostic method for improving preoperative diagnosis of nodular thyroid lesions. *Lancet* 2001;357(9269):1644-50.
6. Nascimento MCPA, Bisi H, Alves VAF, Longatto-Filho A, Kanamura CT, Medeiros-Neto G. Differential reactivity

for galectin-3 in Hürthle cell adenomas and carcinomas. *Endocr Pathol* 2001;2:275-9.

7. Saggiorato E, Aversa S, Deandrei D, Arecco F, Mussa A, Puligheddu B, et al. Galectin-3: presurgical marker of thyroid follicular epithelial cell-derived carcinomas. *J Endocrinol Invest* 2004;27(4):311-7.
8. Martins L, Matsuo SE, Ebina KN, Kulcsar MA, Friguglietti CU, Kimura ET. Galectin-3 messenger ribonucleic acid and protein are expressed in benign thyroid tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87(10):4806-10.
9. Erichsen HC, Chanock SJ. SNPs in cancer research and treatment. *Br J Cancer* 2004;90(4):747-51.
10. Kaklamani VG, Hou N, Bian Y, Reich J, Offit K, Michel LS, et al. TGFBRI*6A and cancer risk: a meta-analysis of seven case-control studies. *J Clin Oncol* 2003;21(17):3236-43.
11. Stephens LA, Powell NG, Grubb J, Jeremiah SJ, Bethel JA, Demidchik EP, et al. Investigation of loss of heterozygosity and SNP frequencies in the RET gene in papillary thyroid carcinoma. *Thyroid* 2005;15(2):100-4.
12. Baumgartner-Parzer SM, Lang R, Wagner L, Heinze G, Niederle B, Kaserer K, et al. Polymorphisms in exon 13 and intron 14 of the RET protooncogene: genetic modifiers of medullary thyroid carcinoma? *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90(11):6232-6.
13. Granja F, Morari J, Morari EC, Correa LAC, Assumpção LVM, Ward LS. Proline homozygosity in codon 72 of p53 is a factor of susceptibility for thyroid cancer. *Cancer Lett* 2004;210:151-7.
14. Basolo F, Giannini R, Faviana P, Fontanini G, Patricelli Malizia A, Ugolini C, et al. Thyroid papillary carcinoma: preliminary evidence for a germ-line single nucleotide polymorphism in the Fas gene. *J Endocrinol* 2004;182:479-84.
15. Matakidou A, Hamel N, Popat S, Henderson K, Kantemiroff T, Harmer C, et al. Risk of non-medullary thyroid cancer influenced by polymorphic variation in the thyroglobulin gene. *Carcinogenesis* 2004;25(3):369-73.
16. Cooper DN. Galectinomics: finding themes in complexity. *Biochim Biophys Acta* 2002;1572(2-3):209-31.
17. Altschul SF, Madden TL, Schaffer AA, Zhang J, Zhang Z, Miller W, et al. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res* 1997;25(17):3389-402.
18. Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res* 1997;25:4876-82.
19. Guttmacher AE, Collins FS, Drazen JM. *Genomic medicine: Articles from the New England Journal of Medicine*. Baltimore: The Johns Hopkins University Press, 2004.
20. Gong HC, Honjo Y, Nangia-Makker P, Hogan V, Mazurak N, Bresalier RS, et al. The NH2 terminus of galectin-3 governs cellular compartmentalization and functions in cancer cells. *Cancer Res* 1999;59(24):6239-45.

Endereço para correspondência:

Edna Teruko Kimura
Departamento de Biologia Celular e do Desenvolvimento
Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo
Av. Prof. Lineu Prestes 1524, 4º andar, sala 414
05508-000 São Paulo, SP
Fax: (11) 3091-7402
E-mail: etkimura@usp.br