

Correlation of Galectin-3 Expression with Survival and Clinicopathologic Features in Patients with Colorectal Cancer

Omid Emadian Saravi¹,
Zhila Torabizadeh²,
Anahita Nosrati³,
Seyedeh Zeinab Ahmadi⁴

¹ Associate Professor, Department of Pathology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² Associate Professor, Department of Pathology, Gut And Liver Research Center, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

³ Assistant Professor, Department of Pathology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁴ Resident in Pathology, Student Research Committee, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received April 8, 2015 Accepted September 30, 2015)

Abstract

Background and purpose: Some factors are involved in progression and metastasis in colorectal cancer with same differentiation and invasion. Galectin-3 is one suspected factor which has the capacity to self-review and to differentiate to carcinoma cells. This study has evaluated the association of Galectin-3 expression with clinicopathologic features and survival in patients with colorectal cancer.

Materials and methods: This descriptive-analytic study was performed in 130 paraffin-embedded colorectal tumor specimens obtained from Sari Imam Khomeini Hospital, Iran 2006- 2012. The type and grade of the samples were identified by two independent experienced pathologists. Immunohistochemistry staining was performed by mouse monoclonal antibody kit of Galectin-3. The expression less than 50% was considered negative (score1) and more than 50% was regarded as strong or moderate (score2).

Results: Overall 130 cases were studied (70 males and 60 females, mean age 5.82 ± 11.9 years). There were 18 mucinous carcinoma and 112 adenocarcinoma samples. The expression of Galectin-3 was observed in cytoplasm of all tumor cells. Weak and strong expressions were found in 69 and 61 specimens, respectively. This study demonstrated no relationship between Galectin-3 expression and the age, gender, size, place, and tumor grade ($P > 0.05$). But the expression of Galectin-3 was associated with metastases, lymph node involvement and survival. In other words, more lymph node involvement, widespread metastases and lower survival rate were seen in patients with negative Galectin-3 expression ($P < 0.05$). The mean survival rate in cases with weak and strong expression of Galectin-3 were 31 and 42 months, respectively.

Conclusion: Further large-scale investigations on Galectin-3 expression could be beneficial in prognosis and improving treatment strategies.

Keywords: Colorectal neoplasms, Galectin-3, metastasis, survival

بررسی رابطه بیان مارکر گالکتین ۳ با میزان بقا و ویژگی های بالینی آسیب شناسی در بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال

امید عمادیان ساروی^۱

ژیلا ترابی زاده^۲

اناهیتا نصرتی^۳

سیده زینب احمدی^۴

چکیده

سابقه و هدف: با توجه به درجه تمایز و میزان تهاجم یکسان در سرطان کولورکتال، فاکتورهای زیادی در پیشرفت، متاستاز و بقا اهمیت دارند. یکی از این فاکتورها پروتئین گالکتین ۳ می باشد که با توان خودنوسازی و تمایز چند رده ای در سلول های سرطانی، مورد توجه قرار گرفت. بررسی بروز و ارتباط این مارکر با ویژگی های کلینیکوپاتولوژیک و بقای بیماران در بافت های سرطانی کولورکتال مورد ارزیابی قرار می گیرد.

مواد و روش ها: این مطالعه توصیفی تحلیلی بر روی ۱۳۰ بلوک پارافینی نمونه های سرطان کولورکتال در بیماران مراجعه کننده به بیمارستان امام خمینی ساری از سال ۱۳۸۵ تا ۱۳۹۱ مورد بررسی قرار گرفت. تشخیص نوع و گرید نمونه پاتولوژیک توسط دو پاتولوژیست با تجربه و رنگ آمیزی ایمنوهیستوشیمی طبق پروتکل بخش پاتولوژی با استفاده از کیت آنتی بادی مونوکلونال موشی گالکتین ۳ انجام شد و بروز کم تر از ۵۰ درصد به عنوان گروه منفی یا ضعیف (امتیاز ۱) و بیش تر از ۵۰ درصد به عنوان مثبت قوی یا متوسط (امتیاز ۲) در نظر گرفته شد.

یافته ها: ۱۳۰ نمونه مورد بررسی در مطالعه (۷۰ مرد و ۶۰ زن) با میانگین سنی $58/2 \pm 11/9$ سال، شامل ۱۸ مورد موسینوس کارسینوما و ۱۱۲ مورد آدنوکارسینوما که بیان گالکتین ۳ در سیتوپلاسم همه بافت ها مشاهده شد. ۶۹ مورد از تومورها، بیان ضعیف و ۶۱ مورد بیان قوی نشان دادند. بیان گالکتین ۳ ارتباطی با سن، جنس، محل تومور، اندازه، تمایز و گرید تومور نداشت ($p > 0/05$)، اما با بقا و میزان درگیری عقده لنفاوی و متاستاز مرتبط بوده و متاستاز منتشر، درگیری بالای عقده لنفاوی و بقا کم تر در گروهی که بیان مارکر گالکتین ۳ آن ها، منفی یا ضعیف بوده، بیش تر دیده شد ($p < 0/05$). میانگین بقای بیماران بر حسب بیان مارکر گالکتین ۳ برای افراد با بیان ضعیف مارکر، ۳۱ ماه و افراد با بیان قوی، ۴۲ ماه بود.

استنتاج: با ارزیابی بروز مارکر گالکتین ۳ بر روی نمونه های بیش تر، می توان در بررسی پیش آگهی بیماران و بهبود استراتژی های درمانی به پزشک کمک کرد.

واژه های کلیدی: سرطان کولورکتال، مارکر گالکتین ۳، متاستاز، بقا

مقدمه

سرطان کولورکتال دومین تا سومین سرطان شایع و علت مهم مرگ در کشورهای غربی می باشد (۱) که مسئول مرگ بیش از یک نفر از هشت فرد مبتلا به سرطان کولون و نیز بیش از نیم میلیون مرگ سالانه در

E-mail: zhtorabi@yahoo.com

مؤلف مسئول: ژیلای ترابی زاده - ساری: مرکز آموزشی درمانی امام خمینی (ره)، گروه پاتولوژی

۱. دانشیار، گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. دانشیار، گروه پاتولوژی، مرکز تحقیقات بیماری های التهابی دستگاه گوارش و کبد، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۳. استادیار، گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۴. دستیار پاتولوژی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱/۱۹ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۴/۱/۲۲ تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۷/۸

سرتاسر جهان می‌باشد (۲). ریسک فاکتورهای مطرح در این سرطان شامل اختلالات ژنتیکی، تغذیه و سبک زندگی می‌باشد. در ایران نیز میزان شیوع آن نسبت به سال‌های قبل (۵۰۰۰۰ مورد جدید در سال) افزایش یافته است و سومین کانسر شایع در مردان و چهارمین مورد در زنان به شمار می‌رود (۳). امروزه تقسیم‌بندی کانسرهای کولورکتال بر اساس مشخصات هیستولوژیک تومور مثل درجه تمایز، میزان تهاجم، درگیری غدد لنفاوی اطراف تومور و متاستاز به سایر ارگان‌ها می‌باشد (۴). اگرچه این موارد، فاکتورهای معمول پیش‌آگهی برای بقا و درمان کمکی بعد از جراحی می‌باشند، ولی مشاهده شده که بیماران با درجه تهاجم مشابه، سرانجام و بقا متفاوت نشان داده‌اند. پس یافتن فاکتورهای دیگری که در پیشرفت و متاستاز تومور، مهم باشند، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۵). گالکتین جزئی از لکتین حیوانی با وزن مولکولی پایین و غیروابسته به کلسیم است که به B گالاکتوزاید پروتئین باند می‌شود. ۱۴ گروه از این خانواده شناسایی شده‌اند که بر حسب ساختمان و تعداد کربوهیدرات به چند زیرگروه تقسیم می‌شوند (۶). Galectin 3 یکی از مهم‌ترین این گالکتین‌ها است که بیش‌تر مطالعات در زمینه این پروتئین، رابطه گالکتین با سرطان دستگاه گوارش از جمله کولون و رکتوم را نشان داده است (۷). گالکتین ۳ پروتئینی است که توسط ژنی روی کروموزوم ۱۴ کد شده و وزن مولکولی آن، ۳۰۰۰۰ دالتون است. گالکتین ۳، متشکل از ۲ زنجیره می‌باشد (NH₂,COOH) که توسط زنجیره کربوهیدرات‌ها به هم متصل می‌شوند. این مولکول عضوی از خانواده B گالاکتوزاید (لکتین خارج و داخل سلولی) است که با گلیکوپروتئین‌های داخل سلولی و مولکول‌های سطح سلولی و پروتئین‌های ماده زمینه‌ای خارج سلولی وارد واکنش می‌شود و در مراحل مختلف بیوشیمیایی از جمله تکثیر سلولی و چسبندگی سلول‌ها و پاسخ ایمنی و آپوپتوز (مرگ سلولی) و تنظیم رونویسی و مراحل مختلف RNA و پیشرفت سرطان و متاستاز

ارتباط دارد (۸-۱۰). بیان گالکتین ۳ اولین بار توسط Lotan در انواع در انواع مختلف سرطان معده در مقایسه با بافت نرمال مورد بررسی قرار گرفت (۱۱). مارکر گالکتین ۳- در بسیاری از تومورها به عنوان عامل پروگنوستیک بررسی و تأیید شده است، اما در سرطان کولورکتال با توجه به افزایش بیان galectin-3 binding Protein در پیشرفت تومور و اهمیت احتمالی آن به عنوان هدفی در درمان بیماران در مقایسه با دیگر مارکرهای پروگنوستیک، مطالعات فراوانی صورت گرفته اما هنوز بی نتیجه مانده است (۱۲). بیان گالکتین ۳ در بسیاری از نوپلاسم‌ها از جمله تیروئید، ریه، کبد، معده، زبان و پروستات به صورت افزایش بیان این مارکر و در تخمدان، رحم و پستان به صورت کاهش بیان بررسی شده است. اما تحقیقاتی که در زمینه ارتباط بیان این مارکر و سرطان کولون انجام شده‌اند، کاستی‌هایی به دنبال داشته است و تناقض اطلاعات دیده شده است. مثلاً در بعضی تحقیقات، کاهش و گروهی افزایش بیان آن را نشان داده‌اند یا در ارتباط آن با پارامترهای کلینیکوپاتولوژیک نتایج ضد و نقیض وجود داشته است (۱۴-۱۲). همین‌طور در نقش پروگنوستیک بیان گالکتین ۳ نیز بین محققان اختلاف نظر وجود داشته است. در بعضی تحقیقات، میزان بقا کم‌تری را در موارد افزایش بیان گالکتین ۳ نشان داده‌اند، در حالی که گروهی دیگر نظر مخالف این امر را پیشنهاد داده‌اند (۱۲، ۱۴). به نظر می‌رسد گالکتین ۳ در پیدایش مقاومت به درمان‌های رایج سرطان کولون نظیر شیمی درمانی و عود مجدد تومور دخیل باشند و هم‌چنین اخیراً از گالکتین‌ها و لیگاندهای آن‌ها به عنوان یک پروتئین هدف جهت درمان جدید کانسرها استفاده شده است (۹، ۱۰). با توجه به شیوع بالای سرطان کولون در منطقه شمال ایران، بر آن شدیم تا با شناسایی میزان بروز مارکر گالکتین ۳ به روش ایمنو‌هیستوشیمی و بررسی ارتباط احتمالی آن با بقا و ویژگی‌های کلینیکوپاتولوژیک سرطان کولورکتال در بیمارستان امام خمینی در سال ۹۱-۸۵، راه را برای

انجام مطالعات تحقیقاتی بیش تر و جستجوی استراتژی درمانی مناسب تر هموارتر سازیم.

مواد و روش ها

بیماران و نمونه ها

این مطالعه که یک مطالعه توصیفی تحلیلی بود، کلیه بیمارانی که از سال ۱۳۸۵ تا ۱۳۹۱ با تشخیص سرطان کولون و رکتوم تحت جراحی کولکتومی قرار گرفتند، به شیوه سرشماری، شناسایی و وارد مطالعه شدند. نمونه‌های قبل از شیمی درمانی موجود در بیمارستان امام خمینی ساری جدا شدند. ابتدا اطلاعات موجود در پرونده بیماران شامل سن، جنس، نحوه درمان، اندازه تومور و شکل تومور استخراج و توسط پیگیری تلفنی، از وضعیت بالینی فعلی بیمار اطلاع حاصل شد. پارامترهای کلینیکوپاتولوژیک شامل سن، جنس، محل، نوع تومور، عمق تهاجم، متاستاز غدد لنفاوی و متاستاز دوردست (شامل کبد)، مرحله، درجه تمایز تومور و عود، بقای بیمار (مدت زمان به ماه) و وضعیت فعلی بیمار (زنده/ فوت به علت تومور یا عوارض آن) مورد بررسی قرار گرفتند. تمام نمونه‌ها در فرمالین ۱۰ درصد فیکس شده و در پارافین، بلوک گیری شدند. تمام برش‌هایی که از ناحیه تومور بودند، مورد بررسی قرار گرفتند. وجود آدنوکارسینوم در بررسی پاتولوژیک اسلایدها، جهت ورود به مطالعه، مجدداً مورد تایید قرار گرفت و برشی که حاوی منطقه مناسب بافت تومورال برای IHC بود، انتخاب شد.

رنگ آمیزی H&E و ایمونوهیستوشیمی

بعد از تایید تشخیص پاتولوژی، مراحل زیر برای رنگ آمیزی به ترتیب انجام شد:

پارافین زدایی از نمونه بلوک پارافینی، آبگیری نمونه‌ها توسط غلظت‌های صعودی اتانول (۷۷، ۹۵ و ۹۹ درصد) و قرارگیری در بافر TRIS-EDTA (PH=9) و سپس شفاف‌سازی نمونه‌ها توسط گزین، قالب‌گیری

مجدد نمونه‌ها، برش‌گیری و رنگ‌آمیزی H&E با تهیه برش‌های بافتی به ضخامت ۳-۴ میکرومتر انجام شد. سپس به مایکروویو با حداکثر قدرت منتقل شد تا بافر به نقطه جوش برسد. سپس قدرت مایکروویو به ۴۰ درصد کاهش و بعد از طی ۱۵ دقیقه، بافت‌ها خارج شد و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. پس از شستشو با آب جاری و بافر TBS، با استفاده از قلم DAKO حدود بافت را مشخص و در اتاقک مرطوب قرار داده شد و با استفاده از کیت‌های تشخیصی آنتی‌بادی منوکلونال موشی (Anti Galectin3, 100 µg) شرکت سازنده abcam) که با رقت ۱/۱۰۰ توسط رقیق‌کننده آنتی‌بادی رقیق شده بودند، به مدت یک شب در دمای اتاق انکوبه گردید. سپس بافت‌ها با پراکسیداز به مدت ۳۰ دقیقه مجاور شده و بعد از آن واکنش کروموژنیک توسط کیت مربوطه انجام گرفت. بافت شاهد برای مارکر گالکتین ۳، بافت اسکواموس سل کارسینومای ریه در نظر گرفته شد که به صورت هسته‌ای و بیش تر سیتوپلاسمی رنگ می‌گیرد (تصویر شماره ۱). نمونه‌ها در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفتند. بعد از شستشو با بافر TBS و اتمام مراحل رنگ‌آمیزی IHC و هماتوکسیلین به عنوان رنگ زمینه، اسلایدهای تهیه شده، مونته گردید.

بررسی رنگ آمیزی Galectin3

بررسی لام‌های تهیه شده به شیوه نیمه کمی توسط دو پاتولوژیست مستقل به صورت یک سوبه Blind (بدون اطلاع از داده‌های کلینیک و پاتولوژیک بیماران) و با استفاده از میکروسکوپ نوری در نماهای با قدرت پایین و بالا (X100-X400) و بر اساس درصد تخمینی سلول‌های توموری رنگ گرفته (تصاویر شماره ۲ و ۳) بیان شد و موارد کم‌تر از ۵۰ درصد (Negative or Weak= score 1) و بیش تر از ۵۰ درصد (Moderate or strong= score 2) گزارش شدند. در نهایت نتایج به دست آمده توسط نرم‌افزار SPSS مورد آنالیز قرار گرفتند. آزمون‌های مورد استفاده Chi-square

برای آنالیز ارتباط داده‌های کلینیکی پاتولوژیک با بیان مارکر گالکتین ۳ و روش Kaplan-meier جهت ارتباط بقا با بیان مارکر گالکتین ۳ می‌باشند.

یافته‌ها

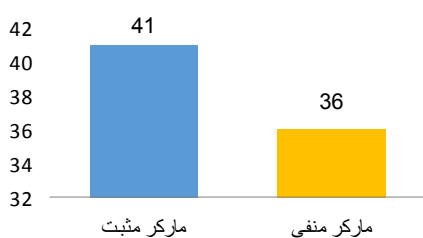
میانگین سنی ۱۳۰ بیمار مورد مطالعه $58/2 \pm 11/9$ سال با دامنه ۹۱-۲۸ سال بود. ۳۹ نفر از بیماران سن زیر ۵۰ سال و ۹۱ نفر بالای ۵۰ سال داشته‌اند. ۴۴ نفر (۳۳/۸ درصد) از موارد مارکر منفی گالکتین ۳، بالای ۵۰ سال و ۲۵ نفر (۱۹/۲ درصد) زیر ۵۰ سال داشته‌اند و در موارد مارکر مثبت گالکتین ۳، ۴۷ نفر (۳۶/۲ درصد) بالای ۵۰ سال و ۱۴ نفر (۱۰/۸ درصد) کم‌تر از ۵۰ سال داشته‌اند. ۷۰ نفر از بیماران مرد و ۶۰ نفر زن بوده‌اند و بر حسب آزمون χ^2 بین جنس و سن و بیان مارکر گالکتین ۳ ارتباط معنی‌داری وجود نداشت ($p=0/76$). در ۱۱۲ مورد (۸۶/۲ درصد) تشخیص تومور آدنوکارسینوما و ۱۸ مورد (۱۳/۸ درصد) موسینوس کارسینوما بوده است. شیوع آدنوکارسینوما در مردان و زنان به ترتیب ۶۰ نفر (۵۳/۶ درصد) و ۵۲ نفر (۴۶/۴ درصد) و شیوع موسینوس کارسینوما در مردان ۱۰ نفر (۵۵/۵ درصد) و در زنان ۸ نفر (۴۴/۴ درصد) بود. ۶۱ مورد (۴۶/۹ درصد) آدنوکارسینوما بیان ضعیف و ۵۱ مورد (۳۹/۲ درصد) بیان قوی و ۸ مورد (۶/۲ درصد) موسینوس کارسینوما، بیان ضعیف و ۱۰ مورد (۷/۷ درصد) بیان قوی نشان داده‌اند. طبق آزمون χ^2 ، اختلاف معنی‌داری بین دو گروه مشاهده نشد ($p=0/42$). در ۲۵ نفر (۱۹/۲ درصد) محل تومور در رکتوم، ۳۲ نفر (۲۴/۶ درصد) در سکوم، ۳۳ نفر (۲۵/۴ درصد) در سیگموئید، ۱۵ نفر (۱۱/۵ درصد) در کولون صعودی، ۱۶ نفر (۱۲/۳ درصد) در کولون نزولی و ۹ نفر (۶/۹ درصد) در کولون عرضی وجود داشت و بیان مارکر گالکتین ۳ بر حسب محل تومور اختلاف معنی‌داری نداشت ($p=0/55$). میانگین اندازه تومور در کل بیماران مورد مطالعه ۴ cm با دامنه ۱۰-۱ سانتی‌متر بود. میانگین

اندازه تومور در بیمارانی که از نظر بیان گالکتین ۳، منفی بوده‌اند، ۳/۷۸ و در افراد مثبت ۳/۵ سانتی‌متر بود. ۲۲ نفر از ۱۳۰ نفر، سایز تومور زیر ۲ cm و ۷۵ نفر سایز ۲-۵ cm و ۳۳ نفر هم سایز بالاتر از ۵ cm داشته‌اند و طبق آزمون χ^2 ، تفاوت معنی‌داری بین دو گروه وجود نداشت ($p=0/19$). ۶۹ مورد (۵۳/۱ درصد) از نمونه‌ها well differentiated و ۴۹ مورد (۳۷/۷ درصد) moderately differentiated و ۱۲ مورد (۹/۲ درصد) poorly differentiated بودند. ۳۴ مورد (۲۶/۲ درصد) در گروه مارکر منفی گالکتین ۳، تمایز well differentiated و ۲۶ نفر (۲۰ درصد) poorly differentiated و ۹ مورد moderately differentiated و ۳۵ مورد (۲۶/۹ درصد) از گروه مارکر مثبت گالکتین ۳، well differentiated و ۲۳ مورد (۱۷/۷ درصد) moderately differentiated و ۳ مورد poorly differentiated نیز تمایز نشان داده‌اند. طبق آزمون χ^2 تفاوت معنی‌داری بین دو گروه وجود نداشت ($p=0/25$). از ۱۳۰ بیمار، ۱۶ مورد (۱۲/۳ درصد) در مرحله I بیماری و ۶۶ نفر (۵۰/۸ درصد) در مرحله II و ۴۸ مورد (۳۷ درصد) در مرحله III قرار داشتند. از این تعداد در مرحله I، ۷ نفر (۵/۴ درصد) بیان ضعیف و ۹ نفر (۶/۹ درصد) بیان قوی مارکر گالکتین ۳ را نشان دادند. در مرحله II، ۳۰ نفر (۲۳/۱ درصد) بیان ضعیف و ۳۶ نفر (۲۷/۷ درصد) بیان قوی مارکر را نشان دادند. ۳۲ مورد (۲۳/۸ درصد) از موارد مارکر منفی و ۱۶ مورد (۱۲/۳ درصد) از موارد مارکر مثبت در مرحله III بیماری بوده‌اند و مرحله بیماری بر حسب بیان مارکر اختلاف معنی‌داری نداشت ($p=0/1$). بیان مارکر گالکتین ۳ در ۶۹ مورد منفی (۵۳/۱ درصد) و ۶۱ مورد مثبت (۴۶/۹ درصد) بوده است. از نظر درگیری لنف نود، ۳۵ مورد (۲۶/۹ درصد) درگیری لنف نود نداشتند و ۹۵ مورد (۷۲/۸ درصد) درگیری لنف نود داشته‌اند که از این تعداد ۴۲ نفر (۳۲/۳ درصد) درگیری بیش‌تر از ۴ لنف نود و ۵۳ مورد

میانگین زمان بقا بیماران ۴۸ ماه با دامنه ۱ تا ۸۴ ماه بوده است که بر حسب بیان مارکر گالکتین ۳ برای افراد منفی، ۳۶ ماه و برای افراد مارکر مثبت تقریباً ۴۱ ماه بوده است ($p < 0/05$) (جدول شماره ۱) (نمودار شماره ۱).

جدول شماره ۱: بیان گالکتین ۳ با ویژگی های کلینیکی پاتولوژیک بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال

سطح معنی داری	گالکتین ۳		خصوصیات
	بیان قوی	بیان ضعیف	
۰/۰۹۹	۴۷ (۳۶/۲)	۴۴ (۳۳/۸)	سن بیش تر از ۵۰ سال
	۱۴ (۱۰/۸)	۲۵ (۱۹/۲)	کم تر از ۵۰ سال
۰/۰۷۶	۳۲ (۲۴/۶)	۳۸ (۲۹/۲)	جنس مرد
	۲۹ (۲۲/۳)	۳۱ (۲۳/۸)	زن
۰/۴۲	۵۱ (۳۹/۲)	۶۱ (۴۶/۹)	پاتولوژی آدنوکارسینوما
	۱۰ (۷/۷)	۸ (۶/۲)	موسینوس کارسینوما
۰/۰۵۵	۶ (۴/۶)	۹ (۶/۹)	محل تومور کولون راست
	۱۰ (۷/۷)	۶ (۴/۶)	کولون چپ
	۴ (۳/۱)	۵ (۳/۸)	کولون عرضی
	۱۸ (۱۳/۸)	۱۵ (۱۱/۵)	سیگموئید
	۱۴ (۱۰/۸)	۱۸ (۱۳/۸)	سکوم
۰/۰۲۵	۳۵ (۲۶/۹)	۳۴ (۲۶/۲)	میزان تمایز خوب
	۲۳ (۱۷/۷)	۲۶ (۲۰)	متوسط
	۳ (۲/۳)	۹ (۶/۹)	ضعیف
۰/۰۰۰	۲۷ (۲۰/۸)	۸ (۶/۲)	متاستاز لنف نود ندارد
	۳۴ (۲۶/۱)	۶۱ (۴۶/۹)	دارد
۰/۱۰۶	۹ (۶/۹)	۷ (۵/۴)	مرحله I
	۳۶ (۲۷/۷)	۳۰ (۲۳/۱)	II
	۱۶ (۱۲/۳)	۲۲ (۱۶/۲)	III
۰/۰۰۵	۱۱ (۹/۹)	۲۶ (۲۳/۴)	متاستاز دوردست خیر
	۳۶ (۲۲/۴)	۳۸ (۲۹/۲)	بلی
۰/۰۳۷	۲۷ (۲۴/۳)	۲۴ (۲۱/۶)	عود ندارد
	۲۰ (۱۸)	۴۰ (۳۶)	دارد
۰/۰۳۹	۲۶ (۲۳/۴)	۲۳ (۱۹/۷)	وضعیت فعلی بیمار در قید حیات
	۲۱ (۱۸/۹)	۴۱ (۳۶/۹)	مرگ به علت تومور یا عوارض ناشی از آن



نمودار شماره ۱: میانگین زمان بقا بیماران بر حسب بیان مارکر گالکتین ۳

(۴۰/۸ درصد) درگیری ۳-۱ لنف نود داشته‌اند. درگیری لنف نود در موارد منفی مارکر گالکتین ۳ به میزان ۶۱ نفر (۴۶/۹ درصد) و در موارد مثبت گالکتین ۳، به میزان ۳۴ مورد (۲۶/۱ درصد) بوده است. ۸ نفر (۶/۲ درصد) از موارد مارکر منفی گالکتین ۳ و ۲۷ نفر (۲۰/۸ درصد) از موارد مارکر مثبت آن بدون درگیری لنف نود بوده‌اند. میزان درگیری لنف نود در موارد مارکر منفی گالکتین ۳ نسبت به موارد مارکر مثبت بیش تر بوده است. طبق آزمون Chi-square تفاوت معنی‌داری بین دو گروه مشاهده شد ($p < 0/05$). از نظر متاستاز دوردست، ۳۷ مورد (۳۳/۳ درصد) متاستاز نداشته و ۷۴ نفر (۶۶/۶ درصد) متاستاز داشتند و وضعیت ۱۹ نفر از نظر درگیری متاستاز کبدی نامشخص بوده است. در موارد با متاستاز، ۳۸ نفر (۳۴/۲ درصد) مارکر منفی گالکتین ۳ و ۳۶ مورد (۳۲/۴ درصد) مارکر مثبت را نشان داده‌اند. ۲۶ نفر (۲۳/۴ درصد) از مارکر منفی گالکتین ۳ و ۱۱ نفر (۹/۹ درصد) از مارکر مثبت گالکتین ۳، بدون درگیری متاستاز بوده‌اند. طبق آزمون Chi-square از نظر آماری معنی‌دار بود ($p = 0/05$). از نظر وضعیت عود تومور بعد از درمان اولیه، ۶۰ نفر (۵۴/۱ درصد) عود مجدد داشتند و ۵۱ نفر (۴۵/۹ درصد) عود نشان ندادند و وضعیت ۱۹ نفر از نظر عود تومور نامشخص بوده است. از این میزان، عود ۴۰ نفر (۳۶ درصد) بیان ضعیف و ۲۰ نفر (۱۸ درصد) بیان قوی مارکر گالکتین ۳ را بروز داده‌اند و طبق آزمون Chi-square از نظر آماری تفاوت بین دو گروه معنی‌دار بوده است ($p = 0/037$). از نظر بقاء و بروز مرگ، ۶۲ نفر (۵۵/۹ درصد) مرگ در اثر تومور داشته و ۴۹ نفر (۴۴/۱ درصد) در قید حیات بوده‌اند و وضعیت ۱۹ نفر (۱۴/۶ درصد) از نظر میزان بقاء نامشخص بوده است. بروز مرگ در موارد مارکر منفی گالکتین ۳، حدود ۴۱ مورد (۳۶/۹ درصد) و در موارد مارکر مثبت گالکتین ۳ به میزان ۲۱ مورد (۱۸/۹ درصد) بوده است. بروز مرگ در موارد مارکر منفی بیش تر دیده شده است. طبق آزمون Chi-square، این رابطه معنی‌دار بوده است ($p = 0/03$).

بحث

سرطان کولورکتال دومین تا سومین سرطان شایع می‌باشد که علت مهم مرگ را در کشورهای غربی به خود اختصاص داده است. بیان گالکتین ۳ در خیلی از نئوپلاسم‌ها از جمله تیروئید ریه و کبد و معده و زبان و پروستات بصورت افزایش بیان این مارکر و در تخمدان و رحم و پستان بصورت کاهش بیان بررسی شده است اما تحقیقاتی که در بررسی متون آمده‌اند در مورد سرطان کولون کاستی‌هایی بدنبال داشته است و تناقض اطلاعات دیده شده است یا در ارتباط آن با پارامترهای کلینیکوپاتولوژیک نتایج ضد و نقیض وجود داشته است. همین‌طور در نقش پرو گنوستیک بیان گالکتین ۳ نیز بین محققان اختلاف نظر وجود داشته است. در بعضی تحقیقات حتی میزان بقا کم‌تری را در موارد افزایش بیان گالکتین ۳ نشان داده‌اند در حالی که گروهی دیگر نظر مخالف این امر را پیشنهاد داشته‌اند (۱۲، ۱۴).

در بررسی *Zaia povegliano* و همکارانش، نشان دادند که بیان گالکتین ۳ در سیتوپلاسم همه بافت‌ها مشاهده شده است. ۵۷/۳ درصد تومورهای کولورکتال بیان ضعیف و ۴۲/۶ درصد بیان شدید را نشان دادند. مارکر گالکتین ۳ هیچ ارتباطی با سن، جنس، مکان تومور و پارامترهای هیستوپاتولوژیک نداشت. تومورهای با stage بالاتر و متاستاز و عود بیش‌تر، شدت بیان بالاتری از مارکر گالکتین ۳ را دارا بودند، ولی از لحاظ آماری رابطه مهمی مشاهده نشد (۱۲) که تا حدودی با مطالعه ما هماهنگی داشت؛ در مطالعه ما نیز ۵۳/۱ درصد بیان ضعیف و ۴۶/۹ درصد بیان قوی را نشان دادند، به علاوه مارکر گالکتین ۳ با سن، جنس، مکان و اندازه تومور ارتباطی نداشته است، ولی همراهی کاهش بیان مارکر با متاستاز و عود بیماری و مرگ مشاهده شد.

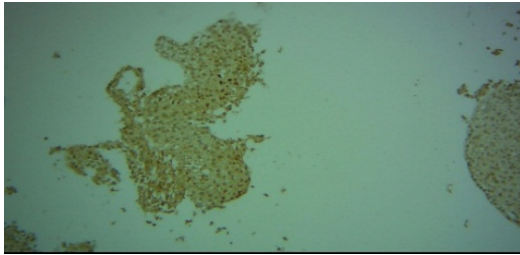
Tsuboi و همکارانش ارتباط بیان مارکر گالکتین ۳ را با تهاجم و متاستاز و ارتباط این مارکر را با مارکر *ki-67* و *B-catenin* بررسی کردند. در این مطالعه

کاهش بیان مارکر گالکتین ۳ با موارد تهاجم تومور و متاستاز مشاهده گردید و ارتباطی بین بیان گالکتین ۳ و سایر فاکتورها مثل سن، جنس و پارامترهای کلینیکوپاتولوژیک، درگیری لنف نود، متاستاز کبدی و Stage توموری مشاهده نشد (۱۳). در مطالعه ما نیز کاهش بیان مارکر گالکتین ۳ با موارد تهاجم، عود، متاستاز و درگیری لنف نود وجود داشت و با سایر مارکرها مثل سن، جنس، اندازه و Stage تومور ارتباط نداشت.

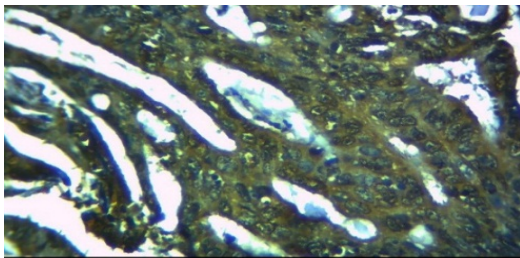
Endo و همکارانش بیان مثبت این مارکر را در ۷۹ بیمار مبتلا به سرطان کولورکتال مشاهده کردند. درگیری لنف نود و متاستاز دور دست در موارد مثبت گالکتین ۳ بالاتر از موارد منفی بوده است و تهاجم بیش‌تری نیز نشان داده‌اند. هم‌چنین بقا در موارد مثبت گالکتین ۳ کم‌تر از موارد منفی این مارکر مشاهده شده است و ارتباط مهم معنی‌داری هم بین بیان گالکتین ۳ و پارامترهای کلینیکوپاتولوژیک مشاهده شده بود (۱۴) که بر خلاف مطالعه ما بود.

Toumi و همکارانش مقایسه‌ای بین شدت بیان این مارکر در آدنوکارسینوما موسینوس و نان موسینوس کولورکتال انجام دادند و فقدان این پروتئین در آدنوکارسینوما نان موسینوس و یا جزء موسینی کم‌تر از ۵۰ درصد دیده شد و بیان کالکتین ۳ فقط محدود به آدنوکارسینوما با تمایز خوب بود و به عنوان یک عامل پروگنوستیک معرفی شد (۱۵).

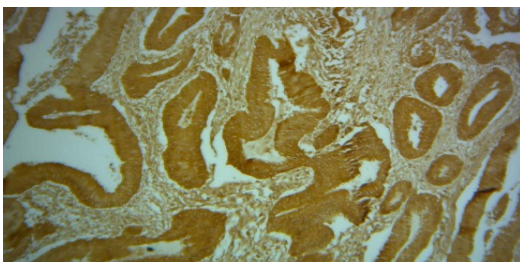
Lian Xiu و همکارانش به مقایسه بیان مارکر گالکتین ۳ در ۵۰ مورد بافت نرمال و ۱۵۲ کانسر کولورکتال و ۶۰ مورد بافت آدنوما پرداختند و میزان مثبت شدن این مارکر با درجه تومور و گرید و متاستاز به لنف نود مرتبط بوده است و بیان بالاتری را هم در بافت کانسری و موارد با متاستاز نشان دادند (۱۶). *Watanabe* و همکارانش میزان گالکتین ۱ و ۲ و ۳ و ۴ و ۷ سرم در ۱۰۵ بیمار مبتلا به کانسر کولون را با ۱۰۰ نفر گروه کنترل سالم با استفاده از روش الیزا بررسی کردند و میزان گالکتین ۱ و ۳ و ۴ سرم در بیماران



تصویر شماره ۱: رنگ آمیزی سیتوپلاسمی و هسته ای گالکتین ۳ در بافت اسکواموس سل کارسینوما ی ریه به عنوان شاهد مثبت



تصویر شماره ۲: رنگ آمیزی سیتوپلاسمی و هسته ای منفی گالکتین ۳- بزرگ نمایی X400



تصویر شماره ۳: رنگ آمیزی سیتوپلاسمی و هسته ای مثبت گالکتین ۳- بزرگ نمایی X400

کانسری به طور معنی داری بالاتر از گروه کنترل بوده است (۱۷). Kim و همکارانش به بررسی ارتباط galectin-3 binding Protein با ایجاد تحریک Protein tyrosine phosphatase kappa در پیشرفت سلول‌های سرطانی کولون با استفاده از روش PCR پرداختند که نشان دادند افزایش بیان galectin-3 binding Protein با درگیری و تهاجم به لنف نود مرتبط بوده است و نتایج، پیشنهاد کننده این نظریه بوده است که ممکن است galectin-3 binding Protein به عنوان یک هدف درمانی در بیماران کانسر کولون باشد (۱۸). اخیراً تلاش محققان جهت یافتن درمان‌های موثرتر برای درمان این سرطان به شناخت مارکرهای سلولی جدید از جمله مارکرهای سلول‌های بنیادی منجر شده است (۱۹). در مطالعه‌ای که انجام دادیم کاهش بیان مارکر گالکتین ۳ را با افزایش متاستاز منتشر و وسعت درگیری عقده‌های لنفاوی و بقا کم‌تر در بیماران داشتیم، ولی ارتباطی با سن و جنس و اندازه تومور و Stage تومور مشاهده نشده است و تفاوت ۶ ماهه بین دو گروه مشاهده شد که چنین تفاوتی شاید در تصمیم‌گیری‌های کلی در روند پیگیری و درمان بیماران تاثیر گذار باشد.

References

- Peddareddigari V G, Wang D, Dubois R N. The tumor microenvironment in colorectal carcinogenesis. *Cancer microenviron* 2010; 3(1): 149-166.
- Oladipo O, Conlon S, O'Grady A, Purcell C, Wilson C, Maxwell PJ, et al. The expression and prognostic impact of CXC-chemokines in stage II and III colorectal cancer epithelial and stromal tissue. *Br j cancer* 2011; 104(3): 480-487.
- Kolahdoozan S, Sadjadi A, Radmard AR, Khademi H. Five common cancers in Iran. *Arch Iran Med* 2010; 13(2):143-146.
- Belov L, Zhou J, Christopherson RI. Cell surface markers in colorectal cancer prognosis. *Int j mol sci* 2011; 12(1): 78-113.
- Taketo MM. Roles of stromal microenvironment in colon cancer progression. *J biochem* 2012; 151(5):477-481.
- Hirabayashi J, Kasai K-i. The family of metazoan metal-independent β -galactoside-binding lectins: structure, function and molecular evolution. *Glycobiology* 1993; 3(4): 297-304.

-
7. Barrow H, Rhodes JM, Yu LG. The role of galectins in colorectal cancer progression. *Int J Cancer* 2011; 129(1):1-8.
 8. Nangia-Makker P, Balan V, Raz A. Regulation of tumor progression by extracellular galectin-3. *Cancer Microenviron* 2008; 1(1): 43-51.
 9. Cedeno-Laurent F, Dimitroff CJ. Galectin-1 research in T cell immunity: past, present and future. *Clin Immunol* 2012; 142(2): 107-116.
 10. Newlaczyl AU, Yu LG. Galectin-3—a jack-of-all-trades in cancer. *Cancer Lett* 2011; 313(2): 123-128.
 11. Lotan R, Ito H, Yasui W, Yokozaki H, Lotan D, Tahara E. Expression of a 31-KDa lactoside-binding lectin in normal human gastric mucosa and in primary and metastatic gastric carcinoma. *Int J Cancer* 1994; 56(4): 474-480.
 12. Zaia Povegliano L, Oshima CT, de Oliveira Lima F, Andrade Scherholz PL, Manoukian Forones N. Immunoeexpression of galectin-3 in colorectal cancer and its relationship with survival. *J Gastrointest Cancer* 2011; 42(4): 217-221.
 13. Tsuboi K, Shimura T, Masuda N, Ide M, Tsutsumi S, Yamaguchi S, et al. Galectin-3 expression in colorectal cancer: relation to invasion and metastasis. *Anticancer Res* 2007; 27(4B): 2289-2296.
 14. Endo K, Kohnoe S, Tsujita E, Watanabe A, Nakashima H, Baba H, et al. Galectin-3 expression is a potent prognostic marker in colorectal cancer. *Anticancer Res* 2005; 25(4): 3117-3121.
 15. Arfaoui-Toumi A, Kria-Ben Mahmoud L, Ben Hmida M, Khalfallah MT, Regaya-Mzabi S, Bouraoui S. Implication of the Galectin-3 in colorectal cancer development (about 325 Tunisian patients). *Bull Cancer* 2010; 97(2): E1-8.
 16. Lianxiu S, Zhaoming Z. Expression of Galectin-3 protein in colorectal cancer and their clinical effects. *Journal of Colorectal & Anal Surgery* 2011; 35(2): 226-217.
 17. Watanabe M, Takemasa I, Kaneko N, Yokoyama Y, Matsuo E, Iwasa S, et al. Clinical significance of circulating galectins as colorectal cancer markers. *Oncol Rep* 2011; 25(5): 1217-1226.
 18. Kim YS, Jung JA, Kim HJ, Ahn YH, Yoo JS, Oh S, et al. Galectin-3 binding protein promotes cell motility in colon cancer by stimulating the shedding of protein tyrosine phosphatase kappa by proprotein convertase 5. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 404(1): 96-102.
 19. Nosrati A, Naghshvar F, Torabizadeh Zh, Salehi F. Correlation Of Colorectal Cancer Stem Cell Marker CD24 Expression With Clinicopathologic Features And Survival Of Patients With Colorectal Cancer. *Govareh* 2014; 19(2):86-94.