

Immunoekspresi Galectin-3 sebagai Petanda Pembeda antara Lesi Jinak dan Ganas Tiroid

Winny N. Leiwakabessy, Truly D. Dasril, Djumadi Achmad, Rina Masadah

*Bagian Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin
 Makassar*

ABSTRAK

Latar belakang

Tumor ganas tiroid merupakan salah satu dari beberapa jenis keganasan yang masih menjadi dilema bagi para klinisi dalam mendiagnosa. *Fine needle aspiration biopsy (FNAB)* adalah salah satu metoda diagnostik yang penting dalam menilai nodul pada kelenjar tiroid. Namun pada sebagian besar kasus, diagnosa tumor ganas tiroid masih belum dapat ditegakkan secara pasti. Galectin-3 adalah molekul protein 31-kDa yang tergolong dalam *β -galactoside binding family of lectins*. Galectin-3 terlibat dalam berbagai proses biologik, seperti adhesi antar sel, proliferasi, transformasi maligna, dan metastasis. Tujuan penelitian ini untuk menilai peranan ekspresi galectin-3 dalam membedakan lesi jinak dan ganas pada kelenjar tiroid.

Metode

Dilakukan pemeriksaan immunohistokimia untuk menilai ekspresi galectin-3 pada 80 sediaan lesi kelenjar tiroid (20 nodular goiter, 20 adenoma folikuler, 20 karsinoma folikuler, dan 20 karsinoma papiler).

Hasil

Seluruh sediaan karsinoma folikuler dan papiler memberikan hasil positif untuk galectin-3 (100%). Sementara hanya 1/20 (5%) sediaan nodular goiter dan 3/20 (15%) sediaan adenoma folikuler yang memberikan hasil positif pada galectin-3. Didapatkan perbedaan bermakna antara lesi jinak dan ganas ($p=0,0001$). Sensitivitas galectin-3 untuk diagnosa lesi maligna adalah 100% dengan spesifitas 90%. Nilai prediksi positif dan negatif adalah 90,9% dan 100%.

Kesimpulan

Ekspresi galectin-3 memiliki sensitivitas yang tinggi pada lesi maligna kelenjar tiroid. Oleh karena itu, ekspresi immunohistokimia galectin-3 dapat digunakan sebagai petanda tambahan dalam membedakan lesi jinak dan lesi ganas kelenjar tiroid.

Kata kunci: Galectin-3, lesi jinak tiroid, lesi ganas tiroid, immunohistokimia.

ABSTRACT

Background

Thyroid cancer represents one of the few cancer types that remains a diagnostic dilemma for the clinician. Fine needle aspiration biopsy (FNAB) represents the critical initial diagnostic test used for evaluation of thyroid nodules. However, diagnosis of thyroid cancer still remains uncertain in a large number of cases. Galectin-3 is a 31-kDa protein that is a member of the endogenous β -galactoside binding family of lectins. It appears to be involved with the several cell functions, including cell adhesion, proliferation, malignant transformation, and metastasis. The aim of this study is to evaluate galectin-3 expression in distinguishing between benign and malignant lesions of thyroid.

Methods

Expression of galectin-3 in a series of 80 thyroid lesion specimens (20 nodular goiters, 20 follicular adenomas, 20 follicular carcinomas and 20 papillary carcinomas) were investigated using immunohistochemically in order to differentiate benign lesions and malignant lesions.

Results

All specimens of follicular carcinoma and papillary carcinoma were positive for galectin-3 (100%). Meanwhile, only 1/20 (5%) of nodular goiter and 3/20 (15%) of follicular adenoma specimens were positive for galectin-3. Significant difference was found between the benign and malignant lesions ($p= 0.0001$). The sensitivity, specificity, positive and negative predictive value of galectin-3 staining were 100%, 90%, 90.9% and 100%, respectively. Significant differences were also found between the subgroups of benign and malignant lesions ($p\leq 0.05$).

Conclusion

Galectin-3 staining is highly sensitive for malignancy thyroid lesions. Galectin-3 immunostaining could be useful as an adjunct to distinguish benign from malignant thyroid lesions.

Key words: Galectin-3, benign thyroid lesions, malignant thyroid lesion, immunohistochemistry.

PENDAHULUAN

Kelenjar tiroid merupakan kelenjar endokrin yang paling besar dan merupakan kelenjar yang sering ditemukan nodul di dalamnya. Nodul tiroid umumnya berupa tumor jinak, sedangkan sebagian kecil berupa karsinoma dan jarang sekali berupa sarcoma. *International Agency for Research on Cancer (IARC)* memperkirakan ada 163.000 kasus baru kanker tiroid di dunia pada tahun 2008¹. Sementara menurut data *American Cancer Society*, diperkirakan kasus baru karsinoma tiroid akan mencapai 44.670 kasus dalam tahun 2010.² Di Indonesia sendiri, hingga saat ini masih belum ada data yang pasti mengenai angka insiden dan mortalitas dari karsinoma tiroid. Berdasarkan data dari Badan Registrasi Kanker-Yayasan Kanker Indonesia tahun 2005, kanker tiroid menempati urutan kesembilan dari 10 tumor ganas terbanyak, setelah kanker kolon. Data dari Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, sepanjang tahun 2010 ditemukan sebanyak 609 kasus kanker tiroid.

Galectin-3 adalah protein dengan berat molekul 31kDa dan tergolong *family β-galactoside-binding protein*, yang dikode oleh gen tunggal yang terletak pada kromosom 14q21-22.^{3,4} Protein ini terlibat dalam berbagai proses biologik seperti interaksi antara sel dengan sel dan sel dengan matriks, menginduksi *pre-mRNA splicing*, proliferasi sel, mengatur siklus sel, angiogenesis, tumorigenesis dan metastasis.³⁻⁵ Banyak penelitian sebelumnya yang menemukan bahwa galectin 3 berperan penting pada berbagai jenis kanker antara lain kanker payudara, melanoma, kanker colon, karsinoma pancreas dan pada kanker gaster, limfoma serta glioblastoma. Pada organ tersebut, overekspresi galectin-3 dihubungkan dengan kemampuan invasi dan metastasis. Pada model karsinoma mamma, overekspresi galectin-3 dapat memproteksi sel-sel tumor dari apoptosis yang diinduksi *loss of anchorage* sehingga mendukung kelangsungan hidup sel-sel tumor yang terlepas dari jaringan disekitarnya.⁶⁻⁸

Berbagai penelitian dalam beberapa tahun terakhir ini, menunjukkan ekspresi galectin-3 meningkat pada tumor tiroid yang ganas dan terekspresi rendah atau bahkan tidak terekspresi pada lesi jinak kelenjar tiroid.⁷⁻⁹ Di dalam sel, galectin-3 berperan sebagai protein *scaffold* dari protein K-Ras, di mana protein K-Ras berperan sebagai *binary switches alter-*

nating antara status ikatan guanosine diphosphate (inaktif) dan ikatan *guanosine triphosphate* (aktif), yang akan mengaktifkan sejumlah efektor Raf, *phosphatidylinositol-3-OH kinase* (PI3-K) dan *Ral-guanine nucleotide exchange factors*, yang kemudian secara bersama-sama akan mengatur proliferasi, diferensiasi, survival dan kematian sel. Sehingga overekspresi galectin-3 berperan pada karsinoma tiroid melalui peningkatan jalur signal K-Ras.GTP dan Ras.¹⁰

Lesi kelenjar tiroid berupa nodul adalah pembesaran seluruh kelenjar tiroid akibat proliferasi *thyrocyte* yang menyebabkan nodul tunggal ataupun *multinoduler goiter*.¹¹ Selama ini penentuan diagnosis dan klasifikasi histopatologis lesi tiroid, masih bertumpu pada gambaran mikroskopis dengan menggunakan pewarnaan Hematoksilin Eosin (H.E). Seringnya dijumpai gambaran morfologik yang tumpang tindih antara lesi jinak dan ganas baik yang polanya folikuler maupun papiler menyebabkan munculnya perbedaan interpretasi di antara ahli patologi. Oleh karena itu dibutuhkan suatu petanda tambahan untuk menghasilkan diagnosis yang lebih akurat. Dengan penelitian ini, diharapkan melalui pemeriksaan imunohistokimia lesi jaringan tiroid yang menggunakan galectin-3 dapat membantu diagnosis suatu nodul tiroid apakah merupakan suatu nodul jinak atau ganas.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, Makassar mulai Juli hingga Desember 2011. Penelitian ini menggunakan 80 sampel jaringan dari pasien lesi tiroid yang menjalani operasi dalam kurun waktu Januari hingga Desember 2010. Jaringan yang difiksasi dalam *buffered-formalin* dan disimpan dalam bentuk blok paraffin. Potongan serial ukuran 5 µm dilakukan pada setiap blok parafin dan dilekatkan ke *slide glass*. Potongan jaringan kemudian diwarnai dengan perwarnaan HE untuk memverifikasi jaringan dan mengkonfirmasi diagnosis. Diagnosa histopatologi ditegakkan berdasarkan kriteria *World Health Organization (WHO)*.

Setelah diagnosis dipastikan, kemudian dilakukan pemeriksaan imunohistokimia dengan cara sebagai berikut. Jaringan dalam blok parafin dipotong ukuran 5 µm dan direkatkan pada kaca obyektif yang dilapisi *poly L-lysine* dan kemudian dilakukan deparafinisasi dan dehi-

drasi. Slide kemudian diinkubasi dalam larutan trypsin 0.1% dalam sitrat buffer pH 6 selama 10 menit dalam incubator pada suhu 37⁰ C. Setelah itu dilanjutkan dengan metode menurut protokol standar yang menggunakan *NovoLink Polymer Detection System* (Novocastra, New Castle, UK). Antibodi yang digunakan ialah antibodi monoklonal anti galectin-3 (Novocastra, New Castle, UK), dengan pengenceran 1:100.

Hasil pewarnaan imunohistokimia dievaluasi dengan mikroskop cahaya oleh 2 orang spesialis patologi tanpa mengetahui diagnosa histopatologiknya. Ekspresi galectin-3 positif apabila terdapat warna coklat pada sitoplasma selnya. Derajat ekspresi dihitung dengan menggunakan sistem skoring berdasarkan proporsi sel yang positif, dimana persentasi sel yang positif dihitung dari rata-rata 10 daerah lapang pandang yang berbeda pada perbesaran 400 X. Derajat ekspresi galectin-3 ditentukan sebagai skor 0 = 0-10%; +1 => 10-25%; +2 => 25-50%; +3 => 50-75% dan +4 => 75%. Selanjutnya skor 0 dinyatakan negatif dan skor +1, +2, +3, +4 dinyatakan positif.¹²

Analisa perbedaan antara diagnosa histopatologik menurut skor galectin-3 dievaluasi dengan menggunakan uji Kruskal-Wallis dan uji Mann-Whitney-U. Perbedaan antara diagnosa histopatologik menurut ekspresi galectin-3 dievaluasi dengan menggunakan uji X²(*chi square*). Untuk menilai kesesuaian antara diagnosa histopatologik sebagai lesi ganas dengan hasil ekspresi galectin-3 positif dilakukan dengan uji McNemar dan uji Kappa. Analisis statistik menggunakan SPSS versi 16.0. Nilai *probability* (p) dikatakan bermakna, bila p ≤ 0,05.

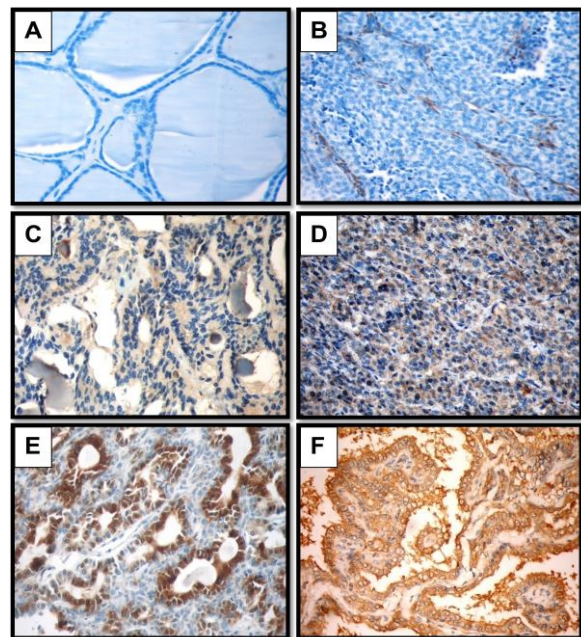
HASIL

Tabel 1. Karakteristik sampel penelitian

Karakteristik	Nilai	%
Umur		
6-30 th	15	18,8%
31-55 th	57	71,3%
56-81 th	8	10%
Jenis Kelamin		
Laki-laki	9	11,3%
Perempuan	71	88,8%
Jenis tumor		
Jinak : Nodular Goiter	20	25%
Adenoma Folikuler	20	25%
Ganas : Karsinoma Folikuler	20	25%
Karsinoma Papilier	20	25%
Ekspresi galectin-3		
Negatif	36	45%
Positif	44	55%

Uji X² p>0,05.

Pada 80 penderita dengan lesi tiroid, didapatkan rentang usia berkisar antara 6 hingga 81 tahun dengan frekuensi terbanyak pada kelompok umur 31-55 tahun, sebanyak 57 orang (71,3%) (Tabel 1. Umur). Menurut jenis kelamin, sebagian besar penderita adalah perempuan sebanyak 71 orang (88,8%), sedangkan laki-laki hanya sebanyak 9 (11,3%) (Tabel 1. Jenis kelamin). Menurut jenis tumor, didapatkan tumor jinak kelenjar tiroid berupa *nodular goiter* dan adenoma folikuler; serta tumor ganas kelenjar tiroid berupa karsinoma folikuler dan karsinoma papiller, dengan jumlah dan persentase masing-masing sama (n = 20;25 %) (Tabel 1. Jenis tumor).



Gambar 1. Ekspresi galectin-3 pada lesi jinak dan ganas tiroid. **A.** Ekspresi galectin-3 negatif pada *nodular goiter*. **B.** Ekspresi galectin-3 negatif pada adenoma folikuler. **C.** Ekspresi galectin-3 positif (skor +1) pada karsinoma folikuler. **D.** Ekspresi galectin-3 positif (skor +2) pada karsinoma folikuler. **E.** Ekspresi galectin-3 positif (skor +3) pada karsinoma folikuler. **F.** Ekspresi galectin-3 positif (skor +4) pada karsinoma papilier.(pembesaran 400x).

Ekspresi galectin-3 ditemukan terutama pada sitoplasma sel (Gambar 1). Sediaan kontrol positif memperlihatkan skor immuno-staining galectin-3 +4. Sementara, kontrol negatif tidak memberikan warna (skor 0). Berdasarkan ekspresi galectin-3, didapatkan skor 0 adalah 36 sampel (45%); skor +1

sebanyak 7 sampel (8.8%); skor +2 sebanyak 8 sampel (10,8%); skor +3 sebanyak 15 sampel (18,8%); dan skor +4 sebanyak 14 sampel (17.5%). (Tabel 1). Tidak ada perbedaan bermakna yang didapatkan dari masing-masing karakteristik sampel penelitian.

Perbedaan bermakna skor galectin-3 menurut jenis histopatologik lesi tiroid

Tabel 2. Skor galectin-3 pada lesi tiroid berdasarkan jenis histopatologik.

Skor Galectin-3	Jenis Histopatologik			
	Nodular Goiter	Adenoma folikuler	Karsinoma folikuler	Karsinoma papiler
Mean	0,05	0,45	2,20	3,50
Median	0,00	0,00	2,00	4,00
Standar Deviasi	0,22	1,14	1,00	0,61
Minimum	0,00	0,00	1,00	2,00
Maximum	1,00	4,00	4,00	4,00

Uji Kruskal-Wallis df=3 p=0,0001 (p<0,05)

Seperti yang terlihat pada tabel 2, rerata skor ekspresi galectin-3 didapatkan tertinggi pada karsinoma papiler (3.5) dan terendah pada nodular goiter (0,05). Berdasarkan uji Kruskal-Wallis didapatkan nilai p=0.001 (p<0,05) yang berarti terdapat perbedaan bermakna skor ekspresi galectin-3 yaitu pada karsinoma papiler nilai skor ekspresi galectin-3 lebih tinggi dibandingkan karsinoma folikuler, adenoma folikuler dan nodular goiter. Pada karsinoma folikuler nilai skor ekspresi galectin-3 lebih tinggi dibandingkan adenoma folikuler dan nodular goiter. Pada nodular goiter dan adenoma folikuler tidak ditemukan perbedaan bermakna. Perbedaan bermakna (p<0,05) juga didapatkan antara karsinoma papiler dengan karsinoma folikuler (uji Mann-Whitney-U z=-3,903 dan p=0,0001).

Perbedaan bermakna skor galectin-3 antara lesi jinak dan ganas tiroid

Tabel 3. Perbedaan skor galectin-3 antara lesi jinak dan ganas tiroid.

Skor galectin-3	Jenis tumor	
	Jinak	Ganas
Mean	0,25	2,85
Median	0,00	3,0
Standar deviasi	0,84	1,05
Minimum	0,00	1,00
Maximum	4,00	4,00

Uji Mann-Whitney U z=-7.464 p=0,0001 (p<0,05)

Pada tabel 3, didapatkan mean skor galectin-3 lebih tinggi pada lesi ganas tiroid (2,85) dibandingkan pada lesi jinak tiroid (0,25). Berdasarkan uji statistik didapatkan perbedaan yang bermakna (p=0,0001) antara skor ekspresi galectin-3 pada lesi jinak dan ganas tiroid (Uji Mann-Whitney U, z=-7,464).

Perbedaan bermakna ekspresi galectin-3 antara lesi jinak dan ganas tiroid

Tabel 4. Perbandingan ekspresi galectin-3 pada lesi jinak dan ganas tiroid.

Ekspresi galectin-3		Jenis Tumor		Jumlah
		Jinak	Ganas	
		Positif	4 (10%)	
Negatif	36 (90%)	0 (0%)	36	
Jumlah		40(100%)	40(100%)	80

Uji X²=65,455 df: 1 p=0,000 (p<0,05)

Peneliti selanjutnya mengelompokkan skor ekspresi galectin-3 ke dalam kelompok negatif yaitu skor 0; dan kelompok positif yaitu skor +1, +2,+3, dan +4. Berdasarkan uji Chi-Square, didapatkan perbedaan yang bermakna antara ekspresi galectin-3 pada lesi jinak dan ganas tiroid (p=0,0001). Evaluasi lain dengan menggunakan uji McNemar mendapatkan probabilitas 0.125 (> 0,05) sehingga terdapat kesesuaian yaitu lesi yang didiagnosis ganas juga sama dengan ekspresi galectin-3 yang positif dan dengan menggunakan uji Kappa didapatkan nilai koefisien 0.900 (>0,75) sehingga menunjukkan kesesuaian ekspresi galectin-3 yang positif sebagai lesi ganas pada pemeriksaan hematoxililin eosin. Evaluasi nilai sensitivitas, spesifisitas, nilai prediksi positif dan nilai prediksi negatif dari ekspresi galectin-3 pada lesi jinak dan ganas tiroid, didapatkan :

Sensitivitas= $[b/(b+d)] \times 100\% = (40/40+0) \times 100\% = 100\%$

Spesifisitas= $[c/(a+c)] \times 100\% = (36/4+36) \times 100\% = 90\%$

Nilai prediksi positif= $[b/(a+b)] \times 100\% = (40/4+44) \times 100\% = 90.9\%$

Nilai prediksi negatif= $[c/(c+d)] \times 100\% = (36/36+0) \times 100\% = 100\%$

DISKUSI

Pada Tabel 1 dapat dilihat bahwa frekuensi terbanyak kasus nodul tiroid terjadi pada kelompok umur 31 tahun sampai 50 tahun, dengan usia termuda adalah 6 tahun dan usia tertua adalah 81 tahun. Hal ini sesuai dengan

penelitian yang dilakukan sebelumnya, yang menyatakan bahwa karsinoma papiler tiroid umumnya terjadi pada usia 20-50 tahun sedangkan karsinoma folikuler umumnya terjadi pada usia 40-60 tahun.¹⁰

Pada Tabel 1 juga terlihat lesi tiroid baik yang jinak maupun yang ganas ditemukan lebih banyak pada penderita perempuan dibanding laki-laki. Untuk lesi nodular goiter dan karsinoma folikuler, seluruh penderita adalah perempuan. Sedangkan, pada adenoma folikuler terdapat 18 (90%) penderita perempuan dan pada karsinoma papiler didapatkan 13 (65%) penderita perempuan. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa kejadian karsinoma tiroid pada perempuan adalah 2-4 kali lebih banyak dibandingkan laki-laki sehingga kemungkinan adanya keterlibatan gen tertentu yang bereaksi dengan reseptor hormon seks dalam perkembangan karsinoma tiroid perlu diteliti lebih lanjut.¹⁰

Pada penelitian ini didapatkan bahwa seluruh lesi ganas tiroid mengekspresikan galectin-3 dan sebagian besar lesi jinak tiroid tidak mengekspresikan galectin-3. Penelitian ini mendukung dan memperkuat beberapa hasil penelitian sebelumnya yang mendapatkan bahwa hampir seluruh sampel lesi jinak tiroid seperti *nodular goiter* tidak mengekspresi galectin-3 yaitu hanya 3-12% yang positif dan sebaliknya hampir seluruh sampel lesi ganas tiroid (karsinoma papiler dan folikuler) mengekspresikan galectin-3.^{7,13-15} Namun pada penelitian yang dilakukan oleh Mehrortra P, dkk menunjukkan galectin 3 terekspresi pada lesi jinak dalam jumlah yang besar mungkin karena metode imunohistokimia yang digunakan menyebabkan biotin endogen yang terdapat didalam sel normal tiroid juga ikut terwarnai dan tidak ada prosedur yang digunakan untuk menghambat biotin endogen.¹⁶

Ekspresi galectin-3 pada lesi jinak tiroid pernah dilaporkan oleh beberapa peneliti lain.^{17,18} Pada penelitian ini, ditemukan beberapa lesi tiroid jinak yang mengekspresi galectin-3. Peneliti menduga bahwa lesi jinak yang mengekspresikan galectin-3 tersebut kemungkinan merupakan lesi yang sedang mengalami transformasi maligna atau kemungkinan lain adalah lesi tersebut mempunyai fokus maligna (*occult cancer*) yang tidak ditemukan pada potongan jaringan yang dievaluasi. Dengan demikian, ekspresi galectin-3 dapat dijadikan

patokan bagi ahli patologi dalam mendiagnosis suatu adenoma folikuler yang cenderung atau ada kecurigaan keganasan, sehingga dapat menjadi petunjuk untuk mendapatkan fokus invasi pada seluruh potongan jaringan. Pada penelitian ini didapatkan skor ekspresi galectin-3 lebih tinggi pada karsinoma papiler dibandingkan dengan karsinoma folikuler. Beberapa penelitian lain telah menunjukkan bahwa galectin-3 terkait dengan proses neoplastik di berbagai jaringan dan merekomendasikan galectin-3 sebagai salah satu marker yang paling sensitif dan akurat untuk kanker tiroid, terutama pada karsinoma papiler.^{12,13,19-21} Namun, hingga saat ini belum ada penjelasan yang dapat menerangkan perbedaan ekspresi antara kedua jenis lesi ganas tersebut.

Penelitian ini juga mendapatkan nilai sensitivitas, spesifitas, nilai prediksi positif dan negatif yang mencapai 100%. Sehingga dapat dikatakan bahwa pewarnaan dengan antibodi galectin-3 bisa dijadikan pemeriksaan tambahan untuk membedakan lesi jinak dan ganas tiroid terutama pada karsinoma folikuler atau karsinoma papiler varian folikuler apabila gambaran histopatologiknya meragukan.

KESIMPULAN

Ekspresi galectin-3 memiliki sensitivitas yang tinggi pada lesi maligna kelenjar tiroid. Oleh karena itu, ekspresi imunohistokimia galectin-3 dapat digunakan sebagai petanda tambahan dalam membedakan lesi jinak dan lesi ganas kelenjar tiroid.

DAFTAR PUSTAKA

1. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin.* 2011;61: 134.
2. Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin.* 2010;60:277-300.
3. Krzeslak A, Lipinska A. Galectin-3 as a multifunctional protein. *Cell Mol Biol Lett.* 2004;9:305-28.
4. Chiu CG, Strugnelli SS, Griffith OL, Jones SJ, Gown AM, Walker B, *et al.* Diagnostic utility of galectin-3 in thyroid cancer. *Am J Pathol.* 2010;176:2067-81.
5. Ringel MD. Diagnostic Molecular Markers in Thyroid Cancer. In: Farid NR, editor. *Molecular Basis of Thyroid Cancer.* Boston:

- Kluwer Academic Publisher; 2005. p. 295-316.
6. Kim HR, Lin HM, Biliran H, Raz A. Cell cycle arrest and inhibition of anoikis by galectin-3 in human breast epithelial cells. *Cancer Res.* 1999;59:4148-54.
 7. Bryson PC, Shores CG, Hart C, Thorne L, Patel MR, Richey L, *et al.* Immunohistochemical distinction of follicular thyroid adenomas and follicular carcinomas. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2008;134:581-6.
 8. Inohara H, Segawa T, Miyauchi A, Yoshii T, Nakahara S, Raz A, *et al.* Cytoplasmic and serum galectin-3 in diagnosis of thyroid malignancies. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008;376:605-10.
 9. Liu YY, Morreau H, Kievit J, Romijn JA, Carrasco N, Smit JW. Combined immunostaining with galectin-3, fibronectin-1, CITED-1, Hector Battifora mesothelial-1, cytokeratin-19, peroxisome proliferator-activated receptor- γ , and sodium/iodide symporter antibodies for the differential diagnosis of non-medullary thyroid carcinoma. *Eur J Endocrinol.* 2008;158:375-84.
 10. Levy R, Grafi-Cohen M, Kraiem Z, Kloog Y. Galectin-3 promotes chronic activation of K-Ras and differentiation block in malignant thyroid carcinomas. *Mol Cancer Ther.* 2010;9:2208-19.
 11. Riesco-Eizaguirre G, Santisteban P. New insights in thyroid follicular cell biology and its impact in thyroid cancer therapy. *Endocr Relat Cancer.* 2007;14:957-77.
 12. Park YJ, Kwak SH, Kim DC, Kim H, Choe G, Park do J, *et al.* Diagnostic value of galectin-3, HBME-1, cytokeratin 19, high molecular weight cytokeratin, cyclin D1 and p27(kip1) in the differential diagnosis of thyroid nodules. *J Korean Med Sci.* 2007;22:621-8.
 13. Rossi ED, Raffaelli M, Mule A, Miraglia A, Lombardi CP, Vecchio FM, *et al.* Simultaneous immunohistochemical expression of HBME-1 and galectin-3 differentiates papillary carcinomas from hyperfunctioning lesions of the thyroid. *Histopathology.* 2006;48:795-800.
 14. Prasad ML, Pellegata NS, Huang Y, Nagaraja HN, de la Chapelle A, Kloos RT. Galectin-3, fibronectin-1, CITED-1, HBME1 and cytokeratin-19 immunohistochemistry is useful for the differential diagnosis of thyroid tumors. *Mod Pathol.* 2005;18:48-57.
 15. Ito Y, Yoshida H, Tomoda C, Miya A, Kobayashi K, Matsuzuka F, *et al.* Galectin-3 expression in follicular tumours: an immunohistochemical study of its use as a marker of follicular carcinoma. *Pathology.* 2005;37:296-8.
 16. Bartolazzi A, Bussolati G. Galectin-3 does not reliably distinguish benign from malignant thyroid neoplasms. *Histopathology.* 2006;48:212-3.
 17. Collet JF, Hurbain I, Prengel C, Utzmann O, Scetbon F, Bernaudin JF, *et al.* Galectin-3 immunodetection in follicular thyroid neoplasms: a prospective study on fine-needle aspiration samples. *Br J Cancer.* 2005;93:1175-81.
 18. Bartolazzi A, D'Alessandria C, Parisella MG, Signore A, Del Prete F, Lavra L, *et al.* Thyroid cancer imaging in vivo by targeting the anti-apoptotic molecule galectin-3. *PLoS One.* 2008;3:e3768.
 19. Londero SC, Godballe C, Krogdahl A, Bastholt L, Specht L, Sorensen CH, *et al.* Papillary microcarcinoma of the thyroid gland: is the immunohistochemical expression of cyclin D1 or galectin-3 in primary tumour an indicator of metastatic disease? *Acta Oncol.* 2008;47:451-7.
 20. Sapio MR, Guerra A, Posca D, Limone PP, Deandrea M, Motta M, *et al.* Combined analysis of galectin-3 and BRAFV600E improves the accuracy of fine-needle aspiration biopsy with cytological findings suspicious for papillary thyroid carcinoma. *Endocr Relat Cancer.* 2007;14:1089-97.
 21. Cvejic DS, Savin SB, Petrovic IM, Paunovic IR, Tatic SB, Havelka MJ. Galectin-3 expression in papillary thyroid carcinoma: relation to histomorphologic growth pattern, lymph node metastasis, extrathyroid invasion, and tumor size. *Head Neck.* 2005;27:1049-55.