

Caracterización de la expresión de galectina-3 mediante inmunohistoquímica en lesiones intraepiteliales de glándula mamaria de perras sin evidencia de tumor

J. A. Caicedo¹, C. A. Iregui^{1*}

Artículo recibido: 24 de abril de 2019 · Aprobado: 18 de agosto de 2019

RESUMEN

Las lesiones intraepiteliales (LIEs) son anormalidades morfológicas locales de los ductos y los lobulillos de la glándula mamaria que incrementan el riesgo de cáncer. Los programas de detección temprana de cáncer de seno han incrementado la identificación de LIEs. En este sentido, en perras se ha propuesto las LIEs como modelo comparativo con humanos. La galectina-3 está involucrada con la progresión del cáncer en mujeres y hembras caninas pero su papel en el comportamiento biológico de las neoplasias es contradictorio según la célula de origen. El objetivo de este trabajo fue caracterizar la expresión de la galectina-3 por medio de inmunohistoquímica en 19 glándulas mamarias (GM) de seis perras sin evidencia de tumor que contenían 50 tipos de LIEs y 7 carcinomas invasivos, teniendo en cuenta el porcentaje de células positivas y la intensidad del color de la inmunoreacción. No hubo inmunomarcación para galectina-3 en las adenosis, las hiperplasias ductales usuales, la hiperplasia lobular atípica, las lesiones de células columnares, los carcinomas complejos o las hiperplasias complejas. Un papiloma/adenoma con hiperplasia de acinos tuvo inmunomarcación multifocal en 11–50% de las células con moderada intensidad. Dos carcinomas *in situ* del subtipo lobular (uno de grado histológico nuclear intermedio y el otro de alto grado) tuvieron marcación en 10% de las células, pero uno tuvo intensidad baja y el otro, intensidad moderada. Los hallazgos sugieren que el papel de la galectina-3 es poco importante en la iniciación de las LIEs, pero sugieren que es una proteína de interés en la progresión de estas lesiones que posiblemente interactúa en el comportamiento biológico de esta enfermedad.

Palabras clave: perra, galectina-3, glándula mamaria, carcinogénesis.

Characterization of galectin-3 expression by immunohistochemistry in mammary intraepithelial lesions in bitches without evidence of tumor

ABSTRACT

Intraepithelial lesions (IELs) are local morphological abnormalities of the ducts and lobules of the mammary gland that increase the risk of cancer. Programs of early detection of breast cancer have improved the identification of IELs. In canines they have been proposed as a comparative model with human IELs. Galectin-3 is involved

¹ Laboratorio de Patología, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá. Cr. 30 nro. 45-07, Bogotá (Colombia).

* Autor para correspondencia: caireguic@unal.edu.co

with cancer progression in women and bitches but its role in the biological behavior of neoplasias is contradictory depending on the source cell. The aim of this study was to characterize by immunohistochemistry the expression of galectin-3 in 19 mammary glands (MG) from 6 canines without clinical signs of tumor, containing 50 types of IELs and seven invasive carcinomas, taking into account the percentage of positive cells and the intensity of color immunoreaction. There wasn't any immunostaining for galectin-3 in the adenosis, in the usual ductal hyperplasias, in the atypical lobular hyperplasia, in the columnar cell lesions, in the complex carcinomas or in the complex hyperplasias. A papilloma/adenoma with acinar hyperplasia had multifocal staining in 11-50% of the cells with moderate intensity. Two *in situ* lobular carcinomas (ISLC) (one of nuclear intermediate grade and the other of high nuclear grade) had 10% staining cells, but the intensity was moderate in one of them and low in the other. Findings suggest that the role of galectin-3 is unimportant in the initiation of IELs, but also that it is a protein of interest in the progression of the lesions and that it possibly acts in the biological behavior of the disease.

Keywords: bitch, galectin-3, mammary gland, carcinogenesis.

INTRODUCCIÓN

Recientemente se han demostrado coincidencias en el desarrollo temprano de las lesiones carcinomatosas de la glándula mamaria (GM) entre mujeres y hembras caninas; también denominadas lesiones intraepiteliales (LIEs) (Antuofermo *et al.* 2007), neoplasias intraepiteliales ductales y lobulares (Galimberti *et al.* 2013) o enfermedades de seno limítrofes "*borderline breast disease*" (Masood 2010), entre otras. Al respecto, Lopez-García *et al.* (2010) propusieron que durante la formación de algunos carcinomas (Ca) mamarios ocurren algunas de estas anomalías histológicas antes de la manifestación clínica de la lesión, por lo cual, las LIEs son factores de riesgo morfológico que se relacionan con el desarrollo de cáncer. Las hay de riesgo bajo e intermedio [adenosis, hiperplasia ductal usual (HDU), hiperplasia ductal atípica (HDA), lesión de células columnares (LCC) e hiperplasia compleja (HC)] y de alto riesgo [carcinoma *in situ* (CaIS) y carcinoma complejo (CaC)] (Caicedo e Iregui 2015).

Además de las similitudes morfológicas de las LIEs en mujeres y hembras caninas, en el plano molecular se han descrito otras semejanzas, entre ellas, que pueden ser positivas o negativas a estrógenos y que la expresión de progesterona en ambas especies es significativamente baja en el carcinoma *in situ* (CaIS) de bajo grado (Mouser *et al.* 2010); adicionalmente, para los CaIS se han descrito, según la expresión de estrógenos (e), progesterona (p), ERB-B2 y citoqueratinas (CK), los mismos subtipos moleculares que hay en mujeres: luminal A (e o p + y ERB-B2 +), luminal B (e o p + y ERB-B2 -), ERB-B2 (e o p - y ERB-B2+), basal (e o p - y ERB-B2 - pero CK 4 o CK5+) (Sassi *et al.* 2010).

Actualmente, las LIEs mamarias se diagnostican con frecuencia como resultado del éxito de programas de educación y concientización en mujeres. No obstante, establecer un modelo animal de estas lesiones se justifica ya que es un requisito previo para desarrollar ensayos clínicos en humanos y posteriormente probar

tratamientos o programas preventivos (Antuofermo *et al.* 2007; Sierra 2009).

Además de su utilidad en el diagnóstico temprano de neoplasias mamarias, algunas de estas LIEs, como el CaIS, pueden ser empleadas en el análisis de los primeros cambios genotípicos y fenotípicos que indiquen posibles rutas patogénicas a través de las cuales las células manifiestan sus propiedades invasivas tempranas. En este sentido, en las neoplasias mamarias humanas se describen cambios en distintas glicoproteínas, por ejemplo, hay expresión de mucinas aberrantes (MUC1 y MUC4) en la membrana celular de células tumorales (Cazet *et al.* 2010); también, los niveles de ARNm para muchos de los genes implicados en la glicosilación difieren significativamente entre los tejidos de mama normal y maligno, lo que indica que la síntesis, la degradación y la adhesión mediada por glicanos puede alterarse drásticamente en los carcinomas de mama (Cazet *et al.* 2010; Mukhopadhyay *et al.* 2011; Potapenko *et al.* 2010).

Por su parte, en perras también se han demostrado cambios fenotípicos de antígenos carbohidrato que normalmente no se encuentran en el epitelio de los acinos y ductos, pero que se expresan en tumores mamarios clínicamente manifiestos; entre ellos, los antígenos sialyl lea, T/Tn (Nowak *et al.* 2009) y galectina-3 (Choi *et al.* 2004). Sin embargo, no se conocen estudios que reporten la expresión de antígenos carbohidrato en lesiones tempranas mamarias de perras, lo cual es importante pues se conoce que los cambios en los patrones de glicosilación celular están implicados en la progresión del cáncer (Hakomori 2002).

Por otra parte, aunque el aumento de la expresión de galectina-3 en algunos tipos de tumores malignos (tiroides,

paratiroides, Ca renal, entre otros) se ha correlacionado con la transformación y eventos propios de la metástasis; una disminución en la expresión de la galectina-3 en distintos tumores, entre los que se incluye el cáncer de seno, también se ha asociado con progresión tumoral y metástasis (Castronovo *et al.* 1996; Cay 2012). Estos resultados aparentemente contradictorios demuestran que el papel de la galectina-3 en la carcinogénesis aún es en parte incomprendido. En efecto, se sabe que la GM de perras no expresa galectina-3, sin embargo, en tumores benignos se sobreexpresa y en tumores malignos disminuye su expresión (Choi *et al.* 2004); no obstante, aún no se conoce su papel en los estadios de iniciación del tumor. En este contexto, el objetivo de este trabajo fue caracterizar la expresión de galectina-3 en LIEs de GM de perras sin evidencia de tumor mamario.

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción de las LIEs incluidas en el estudio para hacer la inmunomarcación de galectina-3.

Se realizó un estudio descriptivo del fenotipo del estroma en lesiones intraductales e intraacinares no invasivas en GM de perras, denominadas como lesiones intraepiteliales (LIEs) en la literatura internacional (Antuofermo *et al.* 2007; Mouser *et al.* 2010). El estudio se realizó en muestras de GM con LIEs de seis hembras reproductivamente enteras (cinco perras de raza mestiza y una de raza pastor alemán), con de más de un celo y sin evidencia de tumor mamario. Dos de ellas se obtuvieron de la casuística de necropsia del Laboratorio de Patología Veterinaria (LPV) de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia

de la Universidad Nacional de Colombia (FMVZ-UN) y las restantes cuatro fueron hembras sometidas a eutanasia en el Centro de Zoonosis de Bogotá, todas sin evidencia de tumores mamarios. Estos procedimientos fueron practicados por médicos veterinarios calificados entre el 14 de febrero y el 14 de diciembre de 2012, después de la aprobación del Comité de Bioética de la FMVZ-UN en 2011 y del concepto a favor del Tribunal de Ética Profesional de COMVEZCOL en 2012.

De estos seis animales se tomó tejido mamario completo de todas las GM visibles; posteriormente, todas las muestras fueron procesadas siguiendo los protocolos de rutina de histotecnica de inclusión en parafina, fijación en formalina al 3,7%, corte (3-4 μ m), desparafinado, hidratación y tinción con hematoxilina y eosina, PAS y tricrómica de Masson. Para confirmar las lesiones complejas se utilizaron anticuerpos contra miosina pesada.

Para el diagnóstico de las LIEs espontáneas se siguieron los criterios propuestos por Antuofermo *et al.* (2007), los cuales se establecieron a partir de la interconsulta de casos de LIEs de GM en perras con patólogos de humanos; también, se consultaron revisiones de patología mamaria de perras (Goldschmidt *et al.* 2011) y literatura reciente sobre patología de seno (Dabbs 2012; O'Malley *et al.* 2011; Rosen 2009). Por su parte, para las lesiones columnares se utilizó la clasificación establecida para perras por Ferreira *et al.* (2010). A su vez, el grado histológico para los Ca se estableció tomando en cuenta el pleomorfismo nuclear o presencia de mitosis con la siguiente interpretación: grado bajo o 1, grado intermedio o 2 y grado alto o 3 (Antuofermo *et al.* 2007; Lester *et al.* 2009; Mouser *et al.* 2010; Rosen 2009).

Se diagnosticaron 50 LIEs y 7 Ca invasivos (CaI) en 19 GM afectadas de las seis perras incluidas en el estudio como se resume en la Tabla 1, que también muestra el número y el tipo lesiones por animal y por GM (Caicedo e Iregui 2014).

Las adenosis constituyeron el 24% de las LIEs (14/57), mientras que los CaIS el 21% (12/57), los CaC el 11% (6/57) y los CaI 12% (7/57), que combinados constituyeron el 45% de la casuística.

Por su parte, en cuanto a los carcinomas *in situ* (CaIS), en 12 GM de cuatro perras se diagnosticaron CaIS de dos tipos, Ca ductal *in situ* (CDIS) y Ca lobular *in situ* (CLIS). Adicionalmente, dentro de cada una de estas GM se hizo un conteo para describir cada uno de los diferentes patrones de CaIS; en total se diagnosticaron 42 lesiones de este tipo. Estas alteraciones variaron desde grado histológico nuclear bajo hasta alto. En la Tabla 2 se resumen los subtipos según arreglo arquitectónico y grado histológico.

Protocolo para la prueba de detección inmunohistoquímica (IHQ) de galectina-3 (LPV, FMVZ-UN 2013)

Esta prueba provee una detección cualitativa de la expresión de la galectina-3 en tejidos fijados en formalina y embebidos en parafina, utiliza un anticuerpo primario monoclonal liofilizado producido en ratón (NCL-GAL3; Laboratorio Novocastra, Newcastle, UK) dirigido contra la proteína galectina-3. La galectina-3 es una lectina que se une a la enzima beta-galactosidasa que cataliza la hidrólisis de galactósidos a monosacáridos y se localiza en el citoplasma y en el núcleo de varios tipos de células (Cay 2012). Para el revelado se utilizó un juego de reactivos comercial de marca DAKO LSAB®2 Link (USA).

TABLA 1. Distribución detallada según el animal, tipo de lesión intraepitelial y glándula afectada

Identificación del Animal	Tipo de LIEs								Lesión invasiva	
	GM	A	HDU	PID	HC	LCC	HLA	CaIS	CaC	Cal
1	A1L	0	0	0	0	0	0	1	0	0
2	T2L	1	0	1	0	1	0	1	0	1
	T2R	1	1	0	0	0	0	1	1	1
	A1L	1	0	0	1	1	0	1	0	1
	A1R	1	0	0	0	1	0	1	1	1
	A2L	1	1	0	0	1	0	1	1	1
	A2R	1	0	0	0	0	0	1	1	1
	IL	1	0	1	0	0	0	1	1	1
	IR	1	0	1	0	0	0	1	0	0
	T2R	0	0	0	0	0	0	1	1	0
3	A1L	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	A2L	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	A2R	1	0	0	1	0	0	0	0	0
	IR	1	0	1	1	0	0	0	0	0
4	IL	1	1	0	0	0	0	1	0	0
	IR	1	1	0	0	0	0	1	0	0
5	IL	0	0	0	0	0	1	0	0	0
6	IL	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	IR	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	57	14	5	4	4	4	1	12	6	7
Porcentaje	100%	24	9	7	7	7	2	21	11	12

A (adenosis), **HDU** (hiperplasia ductal usual), **PID** (papiloma intraductal), **HC** (hiperplasia compleja), **LCC** (lesiones de células columnares), **HLA** (hiperplasia lobular atípica), **CaIS** (carcinomas *in situ*), **CaC** (carcinoma complejo), **Cal** (carcinoma invasivo), **GM** (glándula mamaria); **T2L** (Torácica 2 lado izquierdo); **T2R** (torácica 2 lado derecho); **A1L** (abdominal 1 lado izquierdo); **A1R** (abdominal 1 lado derecho); **A2L** (abdominal 2 lado izquierdo); **A2R** (abdominal 2 lado derecho); **IL** (inguinal izquierda); **IR** (inguinal derecha).

TABLA 2. Frecuencia de presentación de los subtipos arquitectónicos de carcinoma ductal *in situ* (CDIS) y de carcinoma lobular *in situ* (CLIS) en glándula mamaria de perras y su grado histológico.

Diagnóstico	Nro. Lesiones y (n♀)	Nro. Casos	Grado
CLIS	17 (2)	7	I
		9	II
		1	III
CDIS Papilar	7 (2)	0	I
		5	II
		2	III
CDIS Micropapilar	8 (2)	5	I
		2	II
		1	III
CDIS Solido	5 (1)	1	I
		2	II
		2	III
CDIS Comedocarcinoma	5 (2)	0	I
		0	II
		5	III

Grados bajo (I), intermedio, (II) y alto (III). **Nro. de lesiones:** número total de lesiones. **n♀:** número de hembras con esta lesión.

Procesamiento de los tejidos para inmunohistoquímica (IHQ): se cortaron secciones de 3 µm de espesor, se desparafinizaron con xileno y se rehidrataron mediante una serie de soluciones graduadas de etanol/agua. Para mejorar la inmunoreactividad del tejido se sumergieron las láminas en un frasco de plástico con un búfer de desmascaramiento Tris-EDTA y se calentaron en un horno microondas durante 25 minutos; a continuación, las secciones se lavaron con agua durante 10 minutos y se bloquearon durante una hora con 200µl de leche descremada al 5% en TBST a temperatura ambiente. Para visualizar la expresión de la galectina-3, sobre cada tejido de GM desparafinado

se aplicaron 200µl de Ig anti-galectina-3 a una dilución de 1:100; posteriormente, se incubó durante una hora en cámara húmeda a 25°C y para el revelado de la reacción se utilizó un sistema de detección IgG anti-ratón producido en Cabra (Dako, Dinamarca). Se utilizó como cromógeno diaminobencidina (Dako-Cytomation) lista para usar y como tinción de contraste, hematoxilina de Meyer.

Interpretación: las células marcadas con el anticuerpo contra galectina-3 muestran un patrón de tinción en el citoplasma o en el núcleo celular de color pardo a rojizo. Como testigo positivo, se utilizó tejido prostático (Figura 1) y como testigo negativo, tiroi-

des, ambos de origen humano (Figura 2). Adicionalmente, en las GM se evaluaron los macrófagos como un testigo adicional, ya que normalmente presentan marcación positiva para galectina-3.

Lectura de inmunohistoquímica (IHQ): se llevó a cabo un análisis semicuantitati-

vo de la expresión de galectina-3, según lo descrito por Choi *et al.* (2004), pero modificado, debido a que en el presente estudio se tuvo en cuenta la intensidad de la reacción del color en las células del tejido mamario, comparado con el testigo positivo de próstata y los macrófagos en el interior de la GM (Tabla 3).

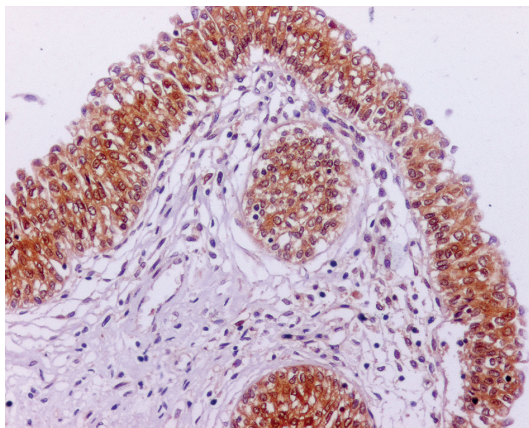


FIGURA 1. Próstata de humano, testigo positivo de tinción IHQ para la galectina- 3. La marcación es de tono café en el citoplasma de las células epiteliales y de algunos macrófagos en el estroma subepitelial. IHQ 200x.

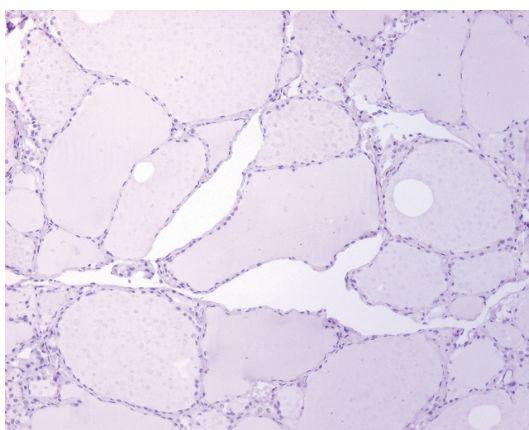


FIGURA 2. Tiroides de humano, testigo negativo de tinción IHQ para la galectina- 3. No hay marcación en ninguna célula de los folículos. IHQ 100x.

TABLA 3. Análisis semicuantitativo en la lectura de la IHQ para galectina-3*.

Porcentaje de células positivas	Intensidad de la reacción del color
Ninguna célula con tinción: 0	No tiñen: 0
1-10% células con tinción positiva: 1	Baja intensidad vs testigo positivo: 1
11–50% células con tinción positiva: 2	Moderada intensidad vs testigo positivo: 2
51–100% células con tinción positiva: 3	Igual intensidad vs testigo positivo: 3

*De acuerdo con Choi *et al.* (2004). Los conteos se realizaron en el aumento de 400x.

TABLA 4. Inmunomarcación para galectina-3 según tipo de LIEs en cuanto al porcentaje de células positivas.

Tipo de lesión	Cantidad	Puntaje según porcentaje de células positivas			
		0	1	2	3
Adenosis	14	14	0	0	0
Papiloma intraductal	4	3	0	1	0
HDU	5	5	0	0	0
Lesiones columnares	4	4	0	0	0
Hiperplasias complejas	4	4	0	0	0
HLA	1	1	0	0	0
CaIS (CDIS–CLIS)	42*	40	2	0	0
Ca complejo	8	8	0	0	0
CaI	12	11	1	0	0
Total	94	90	3	1	0

*Se diagnosticaron CaIS en 12 GM; en adición, se realizó un conteo según subtipo y arreglo de cada CaIS con el cual se obtuvieron en total 42 CaIS.

RESULTADOS

Caracterización de la expresión de galectina-3 en LIEs de GM de perras sin evidencia de tumor por IHQ.

Los resultados de la expresión de galectina-3 para cada tipo de lesión diagnosticada en este trabajo se resumen en las Tablas 4 y 5.

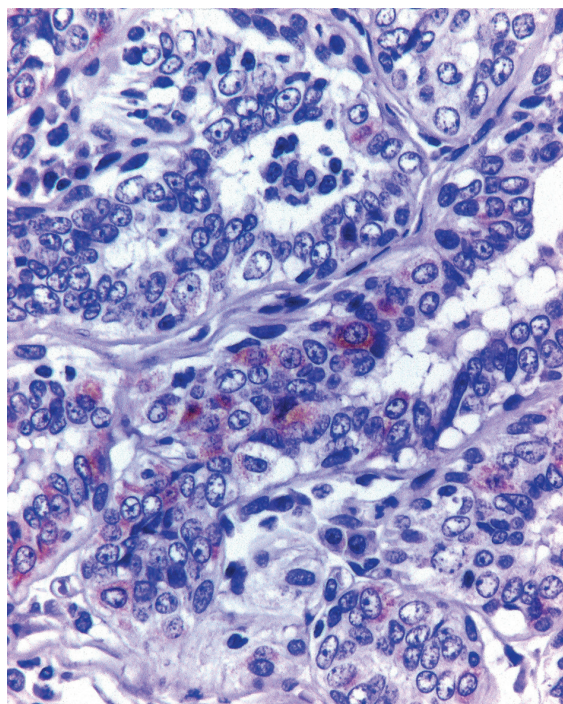
No hubo inmunomarcación para galectina-3 en las adenosis, las hiperplasias ductales usuales, la hiperplasia lobular atípica, las lesiones de células columnares, el Ca complejo o las hiperplasias complejas.

Un papiloma/adenoma con hiperplasia de acinos tuvo inmunomarcación multifocal en 11–50% de las células epiteliales con moderada intensidad con respecto a los testigos positivos (Figura 3). Un Ca invasivo (CaI) tuvo inmunomarcación en 1-10% de las células con baja intensidad. Dos CaIS, ambos del subtipo CLIS, uno de grado histológico intermedio y otro de alto grado, tuvieron marcación en 10% de las células, pero uno tuvo intensidad baja y el otro, intensidad moderada con respecto al tejido prostático (testigo positivo) de IHQ (Figura 4).

TABLA 5. Inmunorreactividad a la marcación para galectina-3 según tipo de LIEs en cuanto a la intensidad de la reacción del color.

Tipo de lesión	Cantidad	Puntaje según la intensidad de la reacción del color			
		0	1	2	3
Adenosis	14	14	0	0	0
Papiloma intraductal	4	3	0	1	0
HDU	5	5	0	0	0
Lesiones columnares	4	4	0	0	0
Hiperplasias complejas	4	4	0	0	0
HLA	1	1	0	0	0
CaIS (CDIS-CLIS)	42*	40	1	1	0
Ca complejo	8	8	0	0	0
Call	12	11	1	0	0
Total	94	90	2	2	0

*Se diagnosticaron CaIS en 12 GM; en adición, se realizó un conteo según subtipo y arreglo de cada CaIS con el cual se obtuvieron en total 42 CaIS.

**FIGURA 3.** Papiloma/adenoma con foco de hiperplasia de acinos. Las células epiteliales tienen inmunomarcación multifocal positiva color café en su citoplasma. IHQ para galectina- 3. 400x.

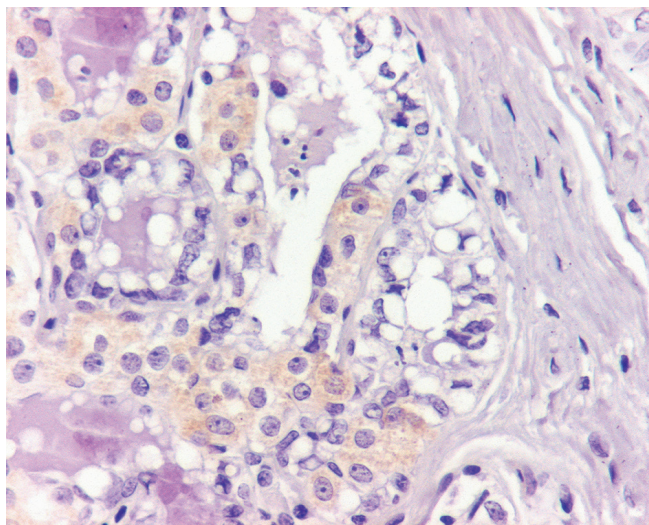


FIGURA 4. CLIS grado intermedio. Las células epiteliales tienen inmunomarcación positiva color café de baja intensidad en su citoplasma que tiene vacuolas. IHQ para galectina- 3. 200x.

DISCUSIÓN

Este estudio demuestra que la mayoría de las LIEs encontradas no expresaron galectina-3; tampoco se percibió la expresión de esta molécula en el epitelio de ductos ni acinos normales; finalmente, hubo expresión de galectina-3 en un papiloma/adenoma, dos CLIS y un CaI la cual fue de poca extensión e intensidad débil. La ausencia de expresión de galectina-3 en epitelio normal, así como la baja expresión de este antígeno en adenomas clínicamente manifestos de GM de perras ha sido documentada por Choi *et al.* (2004). En principio, los resultados pertinentes al epitelio normal son directamente comparables entre este estudio y el de Choi *et al.* (2004); de igual manera, se podría concluir que existe similitud entre los dos estudios en lo referente a los resultados de los adenocarcinomas, así como en los hallazgos en el caso de las lesiones de alto grado en las que la marcación para galectina-3 fue escasa. En todo caso, se debe recordar que

en la investigación de los citados autores, las perras ya tenían tumores clínicamente manifestos en contraste con las muestras del presente trabajo.

De esta forma, con base en los resultados se podría afirmar que la expresión de galectina-3 en LIEs de perras no es una característica importante en la evolución de las lesiones malignas mamarias en sus primeros estadios de desarrollo y que su expresión es mayor en tumores clínicamente evidentes (Choi *et al.* 2004); en tal caso, dicha expresión correspondería a una fase tardía de su evolución.

La galectina-3 en tumores mamarios manifestos bien desarrollados de hembras caninas desempeña varias funciones estrechamente relacionadas con los primeros pasos del proceso metastásico y otros procesos de malignidad (De Oliveira *et al.* 2010) porque: 1) La galectina-3 interactúa con proteínas oncogénicas (HRAS y KRAS); 2) La galectina-3 regula las ciclinas A, D y E promotoras del ciclo celular,

además, regula los niveles de moléculas inhibidoras del ciclo celular p21 (WAF 1) y p27 (KIP1); 3) La galectina-3 tiene efectos anti-apoptóticos- por interactuar con la familia de proteínas BCL2 (Honjo *et al.* 2001). También se considera a la galectina-3 como un quimioatrayente para células endoteliales y estimula la neovascularización *in vivo*, por lo tanto, contribuye a la angiogénesis del tumor y proporciona una vía de escape por el cual las células potencialmente malignas pueden abandonar el tumor primario y entrar en los vasos sanguíneos (Nangia-Makker *et al.* 2000).

CONCLUSIONES

Los hallazgos de este estudio sugieren que para el caso de las lesiones tempranas iniciales la galectina-3 no tiene un papel significativo en el origen y evolución de los Ca mamarios en las primeras fases de desarrollo; es posible que otras vías metabólicas pudieran tener mayor significado.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por la Dirección de Investigación y Extensión sede Bogotá (DIB) y por el fondo de investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia.

REFERENCIAS

- Antuofermo E, Miller MA, Pirino S, Xie J, Badve S, Mohammed SI. 2007. Spontaneous mammary intraepithelial lesions in dogs—A model of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 16(11): 2247-2256. Doi: [10.1158/1055-9965.EPI-06-0932](https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-06-0932).
- Caicedo JA, Iregui CA. 2014. Intraepithelial Lesions (IELs) in mammary glands of dogs without clinical evidence of tumors. Bogotá (CO): SA. LCPG Presentations in ACVP&ASVCP 2014 Concurrent Annual Meeting. Atlanta – Georgia, USA (November 10th 2014).
- Caicedo JA, Martinez N, Iregui C. 2015. Stromal changes within in situ carcinoma and early invasive carcinomas in mammary gland of female dogs without clinical signs of mammary tumor: histopathologic study. Presented at: ACVP/ASVCP/STP Annual Meeting; October 18th, 2015; Minneapolis, USA.
- Castronovo V, Van Den Brùle FA, Jackers P, Clausse N, Liu FT, Gillet C, Sobel ME. 1996. Decreased expression of galectin-3 is associated with progression of human breast cancer. *J Pathol.* 179: 43–48. Doi: [10.1002/\(SICI\)1096-9896\(199605\)179:1<43::AID-PATH541>3.0.CO;2-N](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9896(199605)179:1<43::AID-PATH541>3.0.CO;2-N).
- Cay T. 2012. Immunohistochemical expression of galectin-3 in cancer: a review of the literature. *Türk Patoloji Derg.* 28(1): 1-10. Doi: [10.5146/tjpath.2012.01090](https://doi.org/10.5146/tjpath.2012.01090).
- Cazet A, Julien S, Bobowski M, Burchell J, Delanoy P. 2010. Tumour-associated carbohydrate antigens in breast cancer. *Breast Cancer Res.* 12(3): 204. Doi: [10.1186/bcr2577](https://doi.org/10.1186/bcr2577).
- Choi YK, Hong SH, Kim BH, Kim HC, Woo HJ, Kim DY. 2004. Immunohistochemical expression of galectin-3 in canine mammary tumours. *J Comp Pathol.* 131: 242-245. Doi: [10.1016/j.jcpa.2004.02.002](https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2004.02.002).
- Dabbs DJ. 2012. *Breast Pathology*. 1st ed. Saunders Elsevier.
- De Oliveira JT, de Matos AJ, Gomes J, Vilanova M, Hespanhol V, Manninen A, Rutteman G, Chammas R, Gärtner F, Bernardes ES. 2010. Coordinated expression of galectin-3 and galectin-3-binding sites in malignant mammary tumors: implications for tumor metastasis. *Glycobiology.* 20(11): 1341–1352. Doi: [10.1093/glycob/cwq103](https://doi.org/10.1093/glycob/cwq103).
- Ferreira E, Gobbi H, Saraiva BS, Cassali GD. 2010. Columnar cell lesions of the canine mammary gland: pathological features and immunophenotypic analysis. *BMC Cancer.* 10: 61. Doi: [10.1186/1471-2407-10-61](https://doi.org/10.1186/1471-2407-10-61).
- Galimberti V, Monti S, Mastropasqua MG. 2013. DCIS and LCIS are confusing and outdated terms. They should be abandoned in favor of

- ductal intraepithelial neoplasia (DIN) and lobular intraepithelial neoplasia (LIN). *Breast*. 22(4): 431-435. Doi: [10.1016/j.breast.2013.04.010](https://doi.org/10.1016/j.breast.2013.04.010).
- Goldschmidt M, Peña L, Rasotto R, Zappulli V. 2011. Classification and grading of canine mammary tumors. *Vet Pathology Online*. 48(1): 117-131. Doi: [10.1177/0300985810393258](https://doi.org/10.1177/0300985810393258).
- Hakomori S. 2002. Glycosylation defining cancer malignancy: new wine in an old bottle. *PNAS*. 99(16): 10231- 10233. Doi: [10.1073/pnas.172380699](https://doi.org/10.1073/pnas.172380699).
- Honjo Y, Nangia-Makker P, Inohara H, Raz A. 2001. Down-regulation of galectin-3 suppresses tumorigenicity of human breast carcinoma cells. *Clin Cancer Res*. 7(3): 661-668.
- Lester SC, Bose S, Chen YY, Connolly JL, de Baca ME, Fitzgibbons PL, Hayes DF, Kleer C, O'Malley FP, Page DL. 2009. Protocol for the examination of specimens from patients with ductal carcinoma in situ of the breast. *Arch Pathol Lab Med*. 133: 15-25. Doi: [10.1043/1543-2165-133.1.15](https://doi.org/10.1043/1543-2165-133.1.15).
- Lopez-Garcia MA, Geyer FC, Lacroix-Triki M, Marchió C, Reis-Filho JS. 2010. Breast cancer precursors revisited: molecular features and progression pathways. *Histopathology*. 57(2): 171-92. Doi: [10.1111/j.1365-2559.2010.03568.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.2010.03568.x).
- Masood S. 2010. Is it time to retire the term of "in situ carcinoma" and use the term of "borderline breast disease"? *Breast J*. 16(6): 571-572. Doi: [10.1111/j.1524-4741.2010.01014.x](https://doi.org/10.1111/j.1524-4741.2010.01014.x).
- Mouser P, Miller MA, Antuofermo E, Badve SS, Mohammed SI. 2010. Prevalence and classification of spontaneous mammary intraepithelial lesions in dogs without clinical mammary disease. *Vet Pathol*. 47(2): 275-284. Doi: [10.1177/0300985809358603](https://doi.org/10.1177/0300985809358603).
- Mukhopadhyay P, Chakraborty S, Ponnusamy MP, Lakshmanan I, Jain M, Batra SK. 2011. Mucins in the pathogenesis of breast cancer: Implications in diagnosis, prognosis and therapy. *Biochim Biophys Acta*. 1815(2): 224-240. Doi: [10.1016/j.bbcan.2011.01.001](https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2011.01.001).
- Nangia-Makker P, Honjo Y, Sarvis R, Akahani S, Hogan V, Pienta KJ, Raz A. 2000. Galectin-3 induces endothelial cell morphogenesis and angiogenesis. *Am J Pathol*. 156(3): 899-909. Doi: [10.1016/S0002-9440\(10\)64959-0](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)64959-0).
- Nowak M, Madej J, Dzięgiel P, Lopiński W, Rodo A, Ugorski M. 2009. Tumor-associated carbohydrate antigens: sialyl Le(a) and T/Tn antigens in canine mammary tumors. *Vet Pathol*. 46(2): 222-226. Doi: [10.1354/vp.46-2-222](https://doi.org/10.1354/vp.46-2-222).
- O'Malley FP, Pinder SE, Mulligan AM. 2011. *Breast Pathology: A volume in the series: Foundations in diagnostic pathology (Expert Consult – Online)*. 2^o ed. Saunders.
- Potapenko IO, Haakensen VD, Luders T, Helland A, Bukholm I, Sorlie T, Kristensen VN, Lingjaerde OC, Borresen-Dale AL. 2010. Glycan gene expression signatures in normal and malignant breast tissue; possible role in diagnosis and progression. *Molecular Oncology*. 4(2): 98-118. Doi: [10.1016/j.molonc.2009.12.001](https://doi.org/10.1016/j.molonc.2009.12.001).
- Rosen P. 2009. Papilloma and related benign tumors. En: Rosen PP, editor. *Rosen's Breast pathology*. 3^o ed. Philadelphia (USA): Lippincott, Williams & Wilkins. 101-108.
- Sassi F, Benazzi C, Castellani G, Sarli G. 2010. Molecular-based tumour subtypes of canine mammary carcinomas assessed by immunohistochemistry. *BMC Vet Res*. 6: 5. Doi: [10.1186/1746-6148-6-5](https://doi.org/10.1186/1746-6148-6-5).
- Sierra A. 2009. Animal models of breast cancer for the study of pathogenesis and therapeutic insights. *Clin Transl Oncol*. 11(11): 721-7.

Article citation:

Caicedo JA, Iregui CA. 2019. Caracterización de la expresión de galectina-3 mediante inmunohistoquímica en lesiones intraepiteliales de glándula mamaria de perras sin evidencia de tumor. [Characterization of galectin-3 expression by immunohistochemistry in mammary intraepithelial lesions in bitches without evidence of tumor]. *Rev Med Vet Zoot*. 66(2): 99-110. Doi: [10.15446/rfmvz.v66n2.82428](https://doi.org/10.15446/rfmvz.v66n2.82428).