مجـــله‌ی علمی، پژوهشی دانشگاه علـوم پزشکـی زنجـان
دوره‌ی ۱۶، شمـاره‌ی ٦٤، پاییـز ۱۳۸۷، صفحات ۱ تا ۱۰

بررسی بیان ژن Survivin و واریانت‌های پیرایشی 2B و ΔEx3 آن به عنوان مارکرهای مولکولی تشخیصی جدید در تومورهای تیروئیدی

سمیه وندقانونی[۱]، دکتر محمدعلی حسین‌پورفیضی[۲]، اسماعیل بابایی[۳]، دکتر وحید منتظری[٤]، دکتر منیره حلیمی[٥]

نویسنده‌ی مسئول: تبریز، دانشکده‌ی علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، گروه زیست‌شناسی pourfeizi@eastp.ir

دریافت:۸۷/٤/۲۲ پذیرش:۸۷/۹/۲۳

چکیده

زمینه و هدف: *سرطان تیروئید شایع‌ترین بدخیمی غدد درون‌ریز می‌باشد. به دلیل ناهمگونی بالای ندول‌های توموری و غیرتوموری تیروئید از نظر ویژگی‌های آسیب‌شناسی و فقدان مارکرهای مولکولی مناسب، تلاش‌های گسترده‌ای جهت شناسایی مارکرهای مولکولی برای تشخیص این ضایعات توموری در حال انجام است. Survivin جدیدترین عضو خانواده‌ی پروتئین‌های مهارکننده‌ی مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی، اخیرا به عنوان یک مارکر مولکولی جدید در سرطان مورد توجه قرار گرفته است. مطالعات، بیان متمایز Survivin و واریانت‌های پیرایشی آن را در سلول‌های سرطانی در مقایسه با سلول‌های بالغ نرمال نشان می‌دهند. در این تحقیق بیان ژن Survivin و واریانت‌های پیرایشی 2B و ΔEx3 آن به عنوان مارکرهای مولکولی جدید در تومورهای تیروئید مورد بررسی قرار گرفته است.*

روش بررسی: *٦۱ نمونه‌ی بافتی تیروئید شامل ۱٤ نمونه‌ی حاشیه‌ی تومور، ۱۱ نمونه‌ی غیرتوموری و ۳٦ نمونه‌ی توموری جمع‌آوری شدند و سطوح بیان ژن Survivin و واریانت‌های آن توسط روش RT-PCR نیمه‌کمی بررسی شد.*

یافته‌ها: *میزان بیان Survivin در تومورهای تیروئیدی در مقایسه با نمونه‌های حاشیه‌ی تومور و غیرتوموری به طور معنی‌داری افزایش یافت. همچنین گروه توموری نسبت به گروه حاشیه‌ی تومور افزایش معنی‌داری را در شدت بیان واریانت ΔEx3 نشان داد (P< ۰/۰۵). mRNA واریانت 2B نیز در نمونه‌های توموری در مقایسه با نمونه‌های غیرتوموری به میزان کمتری دیده شد.*

نتیجه‌گیری: *این نتایج بیانگر نقش ژن Survivin در ایجاد تومورهای تیروئیدی بوده و برای اولین بار نیز ارتباط بین بیان واریانت ΔEx3 و طبیعت این تومورها را مطرح می‌سازد. بنابراین آشکارسازی بیان Survivin و واریانت‌های جدید پیرایشی آن می‌تواند در تشخیص ندول‌های توموری و تفکیک آن از انواع غیرتوموری تیروئید در کنار سایر روش‌های روتین آزمایشگاهی مورد استفاده قرارگیرد.*

واژگان کلیدی: ***Survivin، سرطان تیروئید، واریانت‌های پیرایشی، RT-PCR نیمه‌کمی***

۱- کارشناس‌ارشد ژنتیک، دانشگاه تبریز
۲- دکترای رادیوبیولوژی، استاد دانشگاه تبریز
۳- دانشجوی دکترای ژنتیک مولکولی، دانشگاه تربیت مدرس
۴- متخصص جراحی توراکس، دانشیار دانشگاه علوم پزشکی تبریز
۵- متخصص پاتولوژی، دانشیار دانشگاه علوم پزشکی تبریز

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

سرطان تیروئید جز یک درصد سرطان‌های بدخیم می‌باشد اما شایع‌ترین بدخیمی غدد درون‌ریز بوده و ۹۰ درصد آن‌ها را به خود اختصاص می‌دهد (۱). احتمال ابتلا به سرطان تیروئید در زنان سه برابر مردان است. بیشترین میزان شیوع آن در زنان بین سنین ٤٥ تا ٥٥ و در مردان بین ٥٥ تا ٦٥ می‌باشد (۲،۳). ناهمگونی بالای تومورهای تیروئیدی از لحاظ ویژگی‌های آسیب‌شناسی- بالینی به همراه کمبود مارکرهای مولکولی اختصاصی، تشخیص ندول‌های توموری از انواع غیرتوموری تیروئید را با مشکل مواجه ساخته است (٤). در سال‌های اخیر تلاش‌های زیادی برای معرفی یک مارکر مولکولی که بتواند ماهیت تومورهای تیروئیدی را پیش‌بینی کرده و به عنوان یک عامل کمکی تشخیصی و پیش‌آگهی در کنار سایر روش‌ها به کار برده شود در حال انجام است. از آنجا که مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلولی یک سازوکار طبیعی دفاع سلول‌ها در برابر سرطانی شدن می‌باشد، هرگونه نقص در مسیرهای القاکننده‌ی آن می‌تواند منجر به تکثیر بی‌رویه‌ی سلول‌ها و در نهایت تولید غده‌های توموری شود. بنابراین مهارکنندگان مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلولی می‌توانند به عنوان مارکرهای مهم دخیل در بروز و پیشروی سرطان محسوب شوند (۵). Survivin عضو جدید خانواده‌ی پروتئین‌های مهارکننده‌ی مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلولی می‌باشد. این ژن به فراوانی در بافت‌های جنینی بیان می‌شود ولی بیان آن در بافت‌های بالغ طبیعی ناچیز بوده و قابل‌ردیابی نمی‌باشد (٦). همچنین بیان این ژن برای تومور بسیار اختصاصی بوده و به عنوان چهارمین ترانس‌کریپتوم بیان‌شونده در سلول‌های توموری معرفی شده است (۷،۸). بیان متمایز Survivin و واریانت‌های پیرایشی آن در سلول‌های سرطانی در مقایسه با انواع نرمال باعث شده است تا این ژن به عنوان یک مارکر کلیدی تشخیصی در سرطان مطرح شود (۹،۱۰). در تحقیق حاضر بیان ژن Survivin و واریانت‌های پیرایشی 2B و ΔEx3 آن به عنوان عوامل بالقوه دخیل در بروز و پیشروی سرطان تیروئید مورد ارزیابی قرارگرفته است.

روش بررسی

نمونه‌گیری: نمونه‌های مورد نظر از بیماران تحت عمل جراحی در بیمارستان امام خمینی(ره) تبریز، زیرنظر پزشک فوق‌تخصص جراحی توراکس و با رضایت کامل آن‌ها جمع‌آوری شدند. در مجموع ٦١ نمونه جمع‌آوری شده و تحت نظارت متخصص پاتولوژی در سه گروه طبقه‌بندی شدند. این گروه‌ها شامل ٣٦ نمونه‌ی توموری، ١١ نمونه‌ی غیرتوموری و ١٤ نمونه‌ی حاشیه‌ی تومور هستند. نمونه‌های غیرتوموری شامل بیمارانی هستند که به دلیل وجود ضایعات غیرتوموری تیروئید از جمله گواتر تحت جراحی قرار گرفته بودند. انواع حاشیه‌ی تومور نیز از بافت‌های کناری غدد توموری گروه اول جمع‌آوری شد. مشخصات و ویژگی‌های آسیب‌شناسی ٤٥ بیماران مورد مطالعه در جدول ۱ درج شده است.

استخراج RNA: استخراج RNA از نمونه‌های بافتی یخ‌زده شده با استفاده از محلول RNX plus™ و طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد (سیناژن- ایران). پس از خرد کردن نمونه‌های بافتی توسط هموژنایزر در نیتروژن مایع، به ازای هر ٥٠ تا ١٠٠ میلی‌گرم از بافت مورد نظر یک میلی‌لیتر از محلول RNX PLUS اضافه شده و کاملا یکنواخت شد. سپس RNA توسط محلول کلروفرم جداسازی و با استفاده از ایزوپروپانول رسوب داده شد. رسوب RNA پس از شست‌وشو توسط اتانول در ۰/۱ میلی‌مول EDTA نگه‌داری شد. پس از استخراج، مقدار ۵ و ۷ میکروگرم از هر محلول حاوی RNA در لوله‌های جداگانه برداشته و به ترتیب از نظر کمی و کیفی با دستگاه‌های اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ژل آگارز مورد بررسی قرارگرفتند.

Archive of SID
www.SID.ir

جدول۱: مشخصات و ویژگی‌های پاتولوژیکی بیمارانی که از آن‌ها نمونه‌های توموری جمع‌آوری شده است.

نمونه	سن/ جنسیت	یافته‌های پاتولوژیکی	RT-PCR		
			2B	ΔEx3	Survivin
۱	۶۶/M	سلول‌های در حال تکثیر با هسته‌های گرد منفرد و سیتوپلاسم ائوزینوفیلیک، آرایش‌یافته به صورت فولیکول‌هایی با اندازه‌ی متغیر	–	–	+
۲	۵۴/F	-	–	+	+
۳	۶۵/F	-	+	+	+
۴	۲۰/F	-	+	+	+
۵	۳۴/M	سلول‌هایی با ظاهر زمینه‌ی روشن، شیارهای هسته‌ای هم‌پوشان در فرم پاپیلا، تهاجم به کپسول و عروق	–	–	–
۶	۱۴/F	-	+	+	+
۷	۴۳ /F	-	–	+	+
۸	۶۵/F	-	–	+	+
۹	۲۸/F	-	–	+	–
۱۰	۲۴/F	سلول‌های نئوپلاستیک با ظاهر زمینه‌ی روشن، شیارهای هسته‌ای هم‌پوشان در فرم پاپیلا، درگیری غدد لنفاوی	+	+	+
۱۱	۳۴/F	-	–	+	+
۱۲	۳۱/F	-	–	+	+
۱۳	۲۰/F	-	–	+	+
۱۴	۴۵/F	-	–	–	+
۱۵	۵۹/M	سلول‌های نئوپلاستیک دوکی شکل با سیتوپلاسم اندک، تهاجم پری‌نورال	–	+	+
۱۶	۵۱/F	سلول‌های نئوپلاستیک با ساختار پاپیلاری، هسته‌ی زمینه‌ی روشن، بعضی هسته‌ها در لوب چپ همراه با شیار و انکلوزیون،گره‌های لنفاوی واجد تغییرات انفعالی	–	–	–
۱۷	۵۰/F	سلول‌های نئوپلاستیک با ساختار پاپیلاری، هسته‌ی زمینه‌ی روشن، بعضی واجد شیار همراه با سودوانکلوزیون	–	+	+
۱۸	۶۵/F	-	–	+	–
۱۹	۳۲/F	-	–	+	+
۲۰	۳۴/F	-	–	+	+
۲۱	۲۸/F	سلول‌های نئوپلاستیک آرایش‌یافته به صورت پاپیلای واقعی، هسته‌ی زمینه روشن واجد شیار	+	+	+
۲۲	۴۴/F	-	–	+	+
۲۳	۵۱/F	-	–	+	–
۲۴	۲۷/F	سلول‌های نئوپلاستیک با هسته‌ی زمینه‌ی روشن و واجد شیار، بعضی واجد ساختارهای پاپیلاری، تهاجم به بافت‌های چربی فیبردار، تهاجم به عروق	–	+	+
۲۵	۵۵/F	–	–	+	–
۲۶	۱۵ /M	–	+	–	+
۲۷	۵۳/F	سلول‌های نئوپلاستیک با الگوی فولیکولار، پلی‌مورفیسم غیرتیپیک هسته‌ای ملایم با سیتوپلاسم ائوزینوفیلیکی ملایم	–	–	–
۲۸	۵۳/M	-	–	+	–
۲۹	۳۷/F	-	–	–	+
۳۰	۲۹/M	-	–	+	+
۳۱	۳۷/M	-	–	+	+
۳۲	۲۸/F	-	+	+	+
۳۳	۴۲/F	-	–	–	–
۳۴	۴۸/F	-	–	–	–
۳۵	۳۷/F	-	–	–	–
۳۶	۷۵/F	-	+	–	+

F: Female M: Male

Archive of SID

www.SID.ir

طراحی پرایمر: در این تحقیق از ژن B_2m به عنوان کنترل داخلی استفاده شد و برای تکثیر ژن‌های B_2m و Survivin از پرایمرهایی که توسط بابایی و همکاران طراحی شده بود استفاده شد (۱۱). توالی و مشخصات این پرایمرها به صورت زیر می‌باشد:

Human β2m (NM-00114048):
(HBF): 5'- CTA CTC TCT CTT TCT GGC CTG-3' (94-114)
(HBR): 5'- GAC AAG TCT GAA TGC TCC AC-3' (265-284)

Human Survivin (NM-001168):
(HFP):5'-TGG CAG CCC TTT CTC AAG-3' (149-166)
(HRP): 5'-GAG AGA GAG AAG CAG CCA C-3' (762-780)
(HFPN): 5'-ACC ACC GCA TCT CTA CAT TC- 3'(168-187)
(HRPN): 5'- CTG GTG CCA CTT TCA AGA C -3'(705-723)

واکنش Nested RT-PCR:

- واکنش RT: میزان مساوی از هر نمونه RNA (معادل ۵ میکروگرم) توسط آنزیم رونویسی معکوس (فرمنتاز) (RevertAid™ M-MLV)، ترانس‌کریپتاز معکوس و پرایمر Oligo dT، به cDNA تبدیل شد.

- **واکنش Nested PCR:** واکنش PCR برای ژن Survivin در دو مرحله توسط پرایمرهای خارجی و داخلی صورت گرفت. پرایمرهای خارجی و داخلی مورد استفاده قادر به پوشش و تکثیر هر سه واریانت Survivin، Survivin-2B و Survivin-ΔEx3 به طور همزمان بوده و به ترتیب قطعات با طول‌های مختلف ۵۵٦، ٦۲۵ و ٤۳۸ جفت باز را تولید می‌کنند (شکل ۲). به منظور اطمینان از صحت عملکرد پرایمرهای Survivin در واکنش PCR، نمونه‌های سرطان سینه که از قبل تهیه شده بودند به عنوان کنترل مثبت انتخاب و بیش بیان Survivin در آن‌ها به خوبی دیده شد. در ضمن چهار نمونه‌ی کاملا نرمال افراد تحت جراحی و بدون درگیری سرطان تیروئید به عنوان کنترل یا شاهد منفی در نظر گرفته شدند. پس از انجام واکنش PCR، برای اطمینان از تکثیر بهینه‌ی قطعه‌ی مورد نظر و تعیین کمیت محصول، محصولات PCR توسط الکتروفورز ژل آگارز ۲ درصد بررسی شد.

تعیین توالی: به منظور تأیید هویت قطعات حاصل، باند ۵۵٦ نوکلئوتیدی Survivin و باند ٤۳۸ نوکلئوتیدی Survivin-ΔEx3 از ژل استخراج شد (سیناژن- ایران) و پس از تعیین توالی توسط شرکت میکروژن (Microgene)، با توالی موجود در بانک ژنی مقایسه شد.

بررسی نیمه‌کمی بیان ژن Survivin و واریانت پیرایشی ΔEx3: به منظور بررسی بیان ژن Survivin و واریانت پیرایشی ΔEx3 به صورت نیمه‌کمی، شدت باندهای مربوطه و نیز باند β_2m با استفاده از نرم‌افزار Uvitech در هر نمونه تعیین شد. نسبت شدت بیان Survivin و واریانت ΔEx3 به β_2m به عنوان شاخص شدت بیان در هر نمونه در نظر گرفته شده و میانگین آن‌ها در هر گروه محاسبه شد. از کمترین میانگین به علاوه انحراف معیار به عنوان آستانه‌ی بیان استفاده شد. سپس بیان نسبی Survivin و واریانت ΔEx3 در گروه‌های مختلف با آستانه‌ی بیان مقایسه و نمونه‌هایی که شدت باند آن‌ها مساوی و یا بالاتر از آستانه‌ی بیان بودند برای واکنش RT-PCR مثبت و در غیر این صورت منفی در نظر گرفته شدند. قابل‌ذکر است به دلیل شدت بسیار ضعیف واریانت 2B و بیان آن در نمونه‌های بسیار کم، بررسی آن به صورت نیمه‌کمی امکان‌پذیر نبود.

تجزیه و تحلیل آماری: به منظور مقایسه‌ی شدت بیان Survivin و واریانت ΔEx3 در گروه‌های توموری،

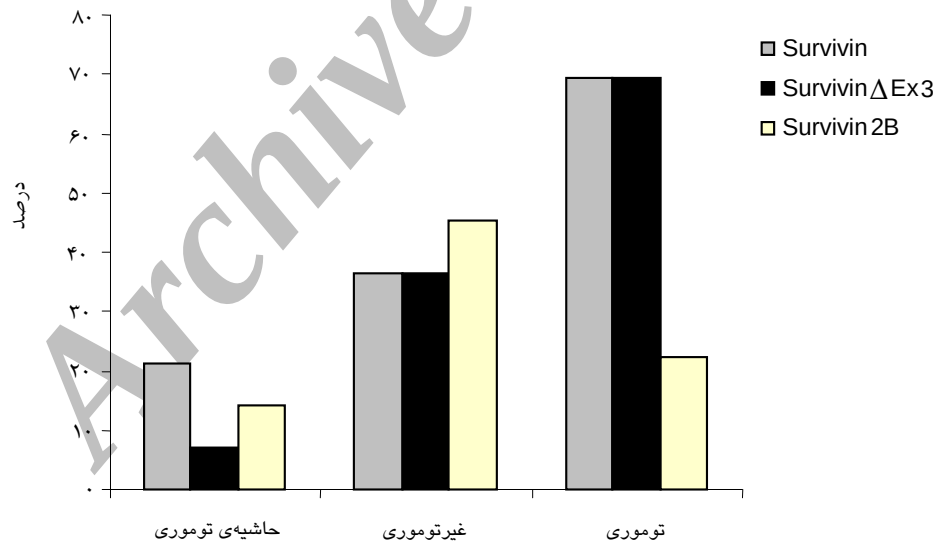
Archive of SID
www.SID.ir

حاشیه‌ی تومور و غیرتوموری، بیان Survivin و Survivin-ΔEx3 در گروه‌های مختلف با استفاده از نرم‌افزار SPSS و تست آماری من‌ویتی U مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها

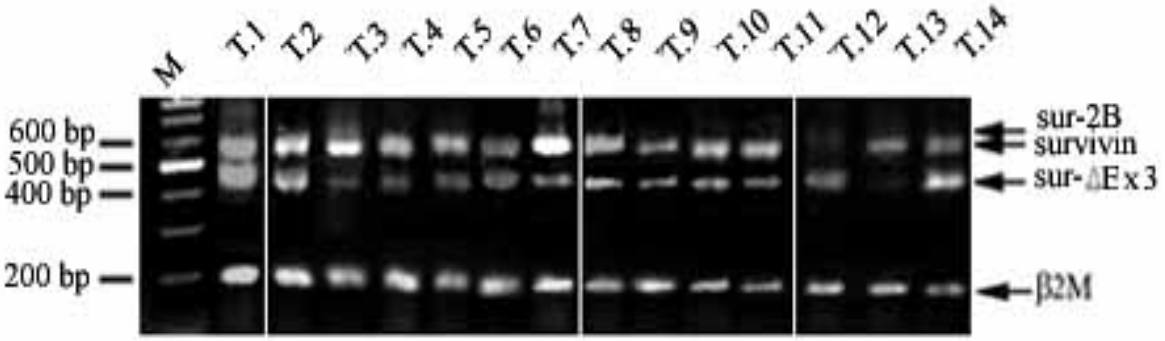
بیان ژن Survivin و واریانت‌های پیرایشی آن در نمونه‌های توموری، غیرتوموری و حاشیه‌ی تومور بافت تیروئید: بررسی بیان Survivin در گروه‌های مختلف توموری و غیرتوموری، افزایش بیان آن را به ترتیب از گروه‌های حاشیه‌ی تومور تا توموری نشان داد که این مقدار ۲۱/٤ درصد برای نمونه‌های حاشیه‌ی تومور، ۳٦/۳ درصد برای نمونه‌های غیرتوموری و ٦۹/٤ درصد برای نمونه‌های توموری می‌باشد. بیشترین میزان بیان واریانت پیرایشی ΔEx3 نیز در نمونه‌های توموری و به میزان ٦۹/٤ درصد دیده شد، در حالی که بیان آن در نمونه‌های حاشیه‌ی تومور و غیرتوموری به ترتیب ۷/۱٤ درصد و ۳٦/٦ درصد بود. از طرف دیگر واریانت بسیار ضعیف 2B در نمونه‌های توموری نسبت به نمونه‌های غیرتوموری به میزان کمتر و در ۲۲/۲ درصد از آن‌ها در مقایسه با ٤٥/٤ درصد از نمونه‌های غیرتوموری مشاهده شد.

از نمونه‌های حاشیه‌ی تومور نیز ۱٤/۲ درصد نمونه‌ها حاوی mRNA این واریانت بودند. در نمونه‌های کاملا نرمال تیروئید نیز که به عنوان کنترل منفی انتخاب شده بودند فقط باند مربوط به ژن β_2m مشاهده شد (شکل ۱) (نمودار ۱).



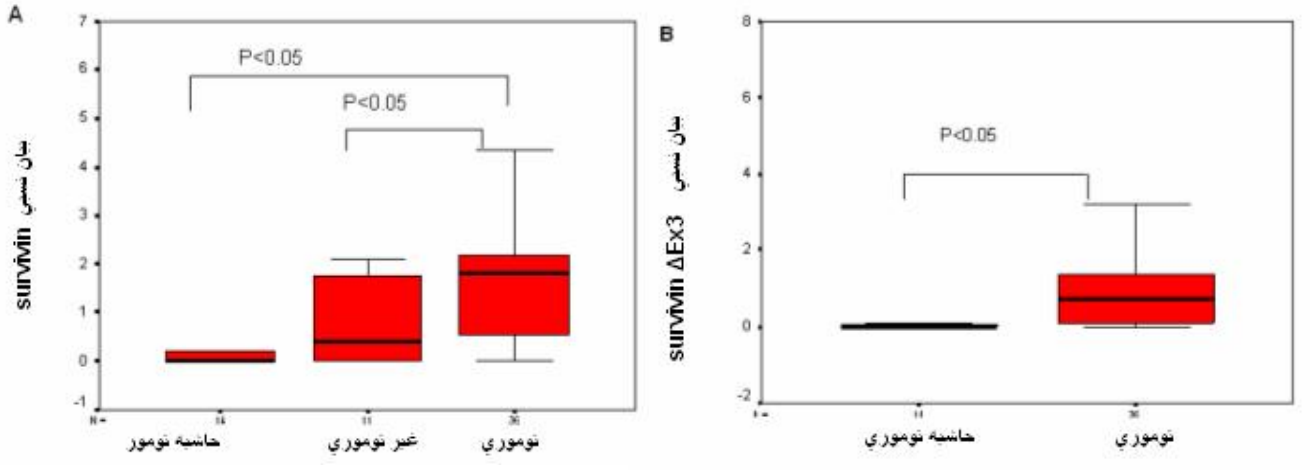
نمودار۱: مقایسه‌ی درصد بیان Survivin و واریانت‌های پیرایشی آن در گروه‌های توموری، غیرتوموری و حاشیه‌ی تومور. افزایش در مقدار بیان Survivin و واریانت ΔEx3 به ترتیب از نمونه‌های حاشیه‌ی تومور تا توموری به وضوح دیده می‌شود.

Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۱: طرح الکتروفورز محصولات PCR ژن Survivin، واریانت‌های پیرایشی آن و β2m در نمونه‌های توموری (T). ستون سمت چپ مارکر را نشان می‌دهد.

تجزیه و تحلیل آماری بیان ژن Survivin و واریانت ΔEx3 در گروه‌های مختلف: نتایج حاصل از تحلیل آماری در خصوص بررسی شدت بیان Survivin و واریانت پیرایشی ΔEx3 در گروه‌های مختلف، در مجموع افزایش معنی‌داری را در بیان ژن Survivin در گروه توموری نسبت به گروه‌های حاشیه‌ی تومور و غیرتوموری نشان داد. همچنین میزان بیان واریانت ΔEx3 از گروه حاشیه‌ی تومور به گروه توموری به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد (P<۰/۰۵) (نمودار۲).



نمودار ۲: افزایش معنی‌دار شدت بیان Survivin در گروه توموری نسبت به گروه غیرتوموری و حاشیه‌ی تومور. در نمودار Boxplot (A) افزایش معنی‌دار شدت بیان واریانت ΔEx3 در گروه توموری در مقایسه با حاشیه‌ی تومور(B) در هر نمودار محدوده‌ی بیان Survivin و واریانت ΔEx3 در هر گروه نشان داده شده است.

www.SID.ir

بحث

هرچند مطالعات اولیه در خصوص ارتباط Survivin با تومورهای تیروئیدی بیانگر ارتباط بین بیان Survivin و ماهیت توموری آن‌ها می‌باشد ولی تاکنون اطلاعات جامعی راجع به الگوی بیان Survivin در تومورهای تیروئیدی به دست نیامده است (۱۵-۱۲). همچنین تحقیقی درباره‌ی واریانت‌های پیرایشی Survivin و تومورهای تیروئیدی انجام نشده است. به این منظور در مطالعه‌ی حاضر تلاش بر این است تا اطلاعات اولیه‌ای راجع به الگوی بیان این ژن و واریانت‌های آن در ندول‌های توموری تیروئید به دست آید. مطالعات روی انواع مختلف تومورهای انسانی از جمله سرطان کولون، معده، ریه، مری، سینه و استئوسارکوما بیان بالای Survivin را در مقایسه با بافت‌های نرمال و نیز بافت‌های گرفته شده از حاشیه‌ی تومور نشان داده است (۸،۱۱). ایتو و همکاران با استفاده از روش ایمونوهیستوشیمی ارتباط بین بیان Survivin و تومورهای تیروئیدی را گزارش کردند (۱۲). نتایج ما نیز نشان می‌دهد میزان بیان Survivin در نمونه‌های توموری نسبت به نمونه‌های حاشیه‌ی تومور و غیرتوموری به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. با توجه به نقش Survivin در چرخه‌ی سلولی، افزایش بیان آن منجر به تکثیر غیرقابل کنترل و بی‌رویه‌ی سلول‌ها و پیشبرد تقسیم سلول‌های ناهنجار در میتوز و در نتیجه رشد توده‌های توموری می‌شود (۸). از آنجا که احتمال ایجاد تومور در بعضی افراد مبتلا به گواتر وجود دارد افزایش بیان Survivin می‌تواند در آغاز تکثیر بی‌رویه سلول‌ها نقش داشته باشد. این نتایج اولا با توجه به افزایش بیان Survivin در انواع توموری نسبت به حاشیه‌ی تومور، نشان‌دهنده‌ی نقش Survivin در ایجاد تومورهای تیروئیدی بوده و آن را به عنوان مارکر مولکولی در تومورهای تیروئیدی مطرح می‌کند. از سوی دیگر می‌تواند در مرزبندی غدد توموری و تفکیک حاشیه‌ی تومور از قسمت توموری آن در کنار سایر روش‌های تشخیصی و نیز اتخاذ روش‌هایی نظیر پرتودرمانی (Radiotherapy) مفید واقع شود. ثانیا بیان بالای Survivin در تومورها نسبت به انواع غیرتوموری، آن را به عنوان یک مارکر تشخیصی جدید در تفکیک و شناسایی انواع ندول‌های توموری از غیرتوموری نظیر گواتر معرفی می‌کند که می‌تواند در کنار سایر روش‌های متداول آزمایشگاهی مؤثر واقع شود.

نتایج تحقیقات صورت گرفته توسط متکا و همکاران بر روی واریانت ΔEx3 در رده‌ی سلولی کارسینومای کلیه حاکی از بیان این واریانت در سلول‌های توموری و حفظ خاصیت ضدمرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلولی این واریانت می‌باشد (۱۶). نتایج تحقیق حاضر نیز با توجه به افزایش بیان این واریانت در نمونه‌های توموری نسبت به حاشیه‌ی تومور، علاوه بر انطباق با نتایج قبلی، دخالت واریانت ΔEx3 را در ایجاد تومورهای تیروئیدی نشان داده و شایستگی آن را به عنوان مارکر مولکولی تشخیصی جدید برای اولین بار در تومورهای تیروئیدی مطرح می‌کند. همچنین بررسی واریانت 2B در گروه‌ها در مجموع نشان می‌دهد نمونه‌های توموری به میزان کمتری نسبت به نمونه‌های غیرتوموری حاوی mRNA این واریانت هستند. تحقیقات صورت گرفته بر روی واریانت 2B بیانگر کاهش چشمگیرخصوصیات ضدمرگ برنامه‌ریزی شده سلولی این واریانت به دلیل تغییرات ساختاری آن می‌باشد. این واریانت به عنوان آنتاگونیست طبیعی واریانت‌های ضدمرگ برنامه‌ریزی شده سلولی Survivin عمل کرده و باعث کاهش فعالیت آن‌ها می‌شود (۱۰،۱۶). در مطالعات صورت گرفته توسط کریگ و همکاران بر روی تومورهای معده، ارتباط معکوس واریانت 2B و میزان پیشروی تومورها نشان داده شد (۱۷). نتایج این تحقیق نیز با توجه به کاهش خصوصیات ضدمرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلولی واریانت 2B و بیان کم آن در نمونه‌های توموری، علاوه بر انطباق با نتایج قبلی، نشان‌دهنده‌ی کاهش

Archive of SID
www.SID.ir

مسیرهای مرگ برنامه‌ریزی‌شده‌ی سلولی در سلول‌های توموری و رشد آن‌ها می‌باشد.

نتیجه‌گیری

در مجموع نتایج به دست آمده با توجه به بیان متمایز Survivin در تومورهای تیروئیدی نسبت به نمونه‌های حاشیه‌ی تومور و غیرتوموری ضمن تأیید شایستگی Survivin به عنوان یک مارکر مولکولی در سرطان تیروئید، نقش این ژن را در ایجاد تومورهای تیروئیدی نشان داده و همچنین تفکیک انواع توموری از بیماری‌های غیرتوموری تیروئید نظیر گواتر را امکان‌پذیر می‌سازد. همچنین نتایج حاصل از بررسی واریانت ضدمرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلولی ΔEx3 در تومورهای تیروئیدی با توجه به افزایش بیان آن در تومورها، علاوه بر تأیید حفظ خاصیت ضدمرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلولی این واریانت، بیانگر ارتباط واریانت ΔEx3 با ماهیت تومورهای تیروئیدی بوده و برای اولین بار آن را به عنوان مارکر مولکولی تشخیصی جدید در تومورهای تیروئیدی معرفی می‌کند. بنابراین ارزیابی Survivin و واریانت‌های جدید پیرایشی آن می‌تواند در تشخیص ندول‌های توموری و تفکیک آن از انواع غیرتوموری تیروئید همچنین تخمین اندازه‌ی تومور و مرزبندی آن در کنار سایر روش‌های متداول آزمایشگاهی مورد استفاده قرارگیرند.

منابع

1- Mazzaferri EL. Management of a solitary thyroid nodules. *N Engl J Med.* 1993; 328(8): 553-9.

2- Larijani B, Mohagheghi MA, Bastanhagh MH, et al. Primary thyroid malignancies in Tehran, Iran. *Med Princ Pract.* 2005; 14: 396-400.

3-Mazzaferri EL. Thyroid cancer– changing patterns of diagnosis and treatment. Business briefing: us endocrine review. 2005; Available from: URLhttp:// touchbriefings. com/ cdps/ cditem. cfm.

4- American Cancer Society. Thyroid cancer- all sections, 2006. Available from: http://documents. cancer.org/196.00/196.00.pdf.

5- Nachmias B, Ashhab Y, Ben-Yehuda D. The inhibitor of apoptosisi protein family (IAP): an emerging therapeutic target in cancer. *Semin Cancer Biol.* 2004; 14(4): 231-43.

6- Altieri DC. Survivin in apoptosis control and cell cycle regulation in cancer. *Prog Cell Cycle Res.* 2003; 5: 447-52.

7- Altieri DC. Validating survivin as a cancer therapeutic target. *Nat Rev Cancer.* 2003; 3(1): 46-54.

8- Altieri DC. Survivin, versatile modulation of cell division and apoptosis in cancer. *Oncogene.* 2003; 22(53): 8581-9.

9- Li F. Role of survivin and its splice variants in tumorigenesis. *Br J Cancer.* 2005; 92(2): 212-6.

10- Sah NK, Khan Z, Khan GJ, Bisen PS. Structural, functional and therapeutic biology of surviving. *Cancer Lett.* 2006; 244(2): 164-71.

11- Babaei E, Mowla SJ, Shariat Torbaghan Sh, Emadi Baygi M. Detection of survivin gene expression in formalin-fixed paraffin-embedded

Archive of SID
www.SID.ir

tissues of human osteosarcoma: its potential usefulness in diagnosis and prognosis of bone tumors. *Iran Biomed J*. 2006; 10(1): 39-45.

12- Ito Y, Yoshida H, Uruno T, et al. Survivin expression is significantly linked to the dedifferentiation of thyroid carcinoma. *Oncol Reports*. 2003; 10(5): 1337-40.

13- O'Neal MD JP, Pellitteri PK, Carey DDJ, Barth PC. Expression of the anti-apoptotic gene survivin in human medullary thyroid carcinoma tissue. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2004; 131(2): 211.

14- Du ZX, Zangh HY, Gao DX, Wang HQ, Li YJ, Liu GL. Antisurvivin oligonucleotides inhibit growth and induce apoptosis in human medullary thyroid carcinoma cells. *Exp Mol Med*. 2006; 38(3): 230-24.

15- Tirro E, Consoli ML, Massimino M, et al. Altered expression of c-IAP, survivin and smac contributes to chemotherapy resistance in thyroid cancer cells. *Cancer Res*. 2006; 66(8): 4263-72.

16- Mohatka C, Wenzel M, Springer E, Gabbert HE, Gerharz CD. Survivin-ΔEx3 and Survivin-2B: two novel splice variants of the apoptosis inhibitor survivin with different antiapoptotic properties. *Cancer Res*. 1999; 59: 6097-102.

17- Krieg A, Mohatka C, Krieg T, et al. Expression of different survivin variants in gastric carcinomas: frist clues to a role of survivin-2B in tumor progression. *Br J Cancer*. 2002; 86(5): 737-43.

Archive of SID

www.SID.ir

Evaluating the Expression of Survivin and Its Splice Variants; 2B and ΔEx3 as New Diagnostic Molecular Markers in Thyroid Cancer

Vandghanooni S[1], Hosseinpour Feizi MA[1], Babaei E[1,2], Montazeri V[3], Halimi M[3]

[1] Dept of Biology, School of Nature Sciences, Tabriz University, Tabriz, Iran

[2] Dept of Genetics, Faculty of Basic Sciences, Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran

[3] Imam Khomeini Hospital, School of Medicin, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

Corresponding Author's Address: Dept of Biology, School of Nature Science, Tabriz University, Tabriz, Iran

E-mail: pourfeizi@eastp.ir

Received: 12 July, 2008 **Accepted:** 13 Dec, 2008

Background and Objective: Thyroid cancer is the most common endocrine malignancy. Because of the highly heterogeneous nature of tumoral and non-tumoral thyroid nodules and lack of suitable clinico-pathological criteria and absence of appropriate molecular markers, scientists have been trying to find a molecular tumor marker for specific diagnosis of thyroid tumors. Recent attention has been paid to Survivin, a novel member of the Inhibitor of Apoptosis Protein Family (IAP), as a new molecular marker in cancer. Studies have demonstrated that Survivin and its splice variants have different expression in cancerous tissues compared to normal tissues.

Materials and Methods: In this study the expression of Survivin and its splice variants; 2B and ΔEx3 were evaluated as new diagnostic molecular markers in thyroid cancer. Tissue samples were collected from 61 thyroid specimens including 14 tumor margins, 11 non-tumoral and 36 tumoral samples. Expression levels of Surviving and its variants were measured by semi quntitative RT-PCR.

Results: Expression level of Survivin in tumor samples was significantly higher compared with surgical margins and non tumural tissues. There was also a significant increase in expression level of Survivin-ΔEx3 in tumoral tissues compared with surgical margins. The expression of Survivin 2B in tumors was lower than the non-tumoral tissues.

Conclusion: Our data indicated the important role of Survivin in production of thyroid tumors and also revealed that high expression of ΔEx3 variant is correlated with nature of thyroid tumors. Therefore, evaluating Survivin gene expression and its recently introduced splice variants may be used in diagnosis and classification of thyroid tumors from non-tumoral lesions.

Key words: Survivin, Thyroid cancer, Splice variants, Semi quntitative RT-PCR

Archive of SID

www.SID.ir