

مطالعه‌ی بیان ژن Survivin و واریانت‌های پیرایشی $\Delta Ex3$ ، 2b و 3b آن به عنوان تومور مارکرهای تشخیصی در سرطان پستان

دکتر محمدعلی حسینیپورفیضی^{۱*}، سولماز منیری جوادحصاری^۲، اسماعیل بابائی^۳، دکتر وحید منتظری^۴، دکتر منیره حلیمی^۵

چکیده

مقدمه: Survivin عضو جدیدی از خانواده‌ی پروتئین‌های مهارکننده‌ی آپوپتوز (IAP) می‌باشد که نقش مهمی در تنظیم چرخه‌ی سلولی و آپوپتوز ایفا می‌کند. بیان متمایز این ژن در سلول‌های توموری بر خلاف سلول‌های نرمال، آن را به عنوان چهارمین ترانس - کریپتوم عمده در تومورها معرفی کرده است. سرطان پستان شایع‌ترین بدخیمی در زنان می‌باشد و تلاش دانشمندان برای طبقه‌بندی آن به نتایج مختلفی منجر شده است. به دلیل شیوع بسیار بالای تومورهای پستان و کمبود مارکرهای مولکولی مناسب جهت تشخیص و پیش‌آگهی آنها، تلاش‌های گسترده‌ای در راستای شناسایی مارکرهای مولکولی اختصاصی که بتوانند غده‌های توموری را از غیر توموری متمایز سازند در حال انجام است. در مطالعه‌ی حاضر بیان ژن Survivin و واریانت‌های پیرایشی $\Delta Ex3$ ، 2b و 3b آن به عنوان مارکر مولکولی در تومورهای پستان و بافت حاشیه‌ی آنها مورد بررسی قرار گرفته است.

روش بررسی: در تحقیق حاضر ۱۸ نمونه‌ی توموری و ۱۷ نمونه‌ی حاشیه‌ی تومور به صورت یک مطالعه مورد شاهده‌ی با استفاده از تکنیک Reverse Transcriptase - Polymerase Chain Reaction نیمه کمی مورد بررسی قرار گرفتند و ژن $\beta 2m$ به عنوان کنترل داخلی برای نرمال نمودن نتایج به کار رفت.

نتایج: (۱) ژن Survivin و واریانت‌های پیرایشی $\Delta Ex3$ ، 2b و 3b در اکثر نمونه‌های توموری نسبت به بافت حاشیه‌ای آن بیان مجدد و بالایی داشتند (۲) سطوح بیان ژن Survivin، Survivin- $\Delta Ex3$ و Survivin-3b با ماهیت توموری نمونه‌ها ارتباط معنی‌داری داشت (۳) بیان واریانت 2b در تعداد کمی از نمونه‌ها مشاهده شد (۴) بیان واریانت 3b فقط در نمونه‌های توموری دیده شد. همچنین نتایج به دست آمده نشان داد که واریانت $\Delta Ex3$ می‌تواند به عنوان ترانس کریپتوم غالب در سرطان پستان معرفی شود.

نتیجه‌گیری: در مجموع نتایج ما نشان می‌دهد که بیان Survivin، Survivin- $\Delta Ex3$ و Survivin-3b با ماهیت سرطانی تومورها در ارتباط بوده و Survivin- $\Delta Ex3$ واریانت غالب بیان شده در کارسینوماهای پستان می‌باشد. این نتایج ضمن تأیید شایستگی ژن Survivin و واریانت‌های پیرایشی آن به عنوان مارکرهای مولکولی در سرطان پستان، نقش کلیدی این ژن و واریانت‌های مذکور به ویژه 3b را در بروز تومورهای پستان نشان داده و تفکیک ناحیه‌ی توموری از حاشیه‌ی تومور را امکان‌پذیر می‌سازد. بنابراین ارزیابی بیان ژن Survivin و واریانت‌های پیرایشی آن می‌تواند به عنوان مارکر برای رده‌بندی بیماران سرطان پستان جهت تیمارهای مؤثرتر مورد استفاده قرار گیرد و یک هدف درمانی نویدبخش برای درمان باشد.

واژه‌های کلیدی: Survivin، واریانت پیرایشی، RT-PCR، نمه کمی، سرطان پستان

مقدمه

سرطان پستان شایع‌ترین بدخیمی در میان زنان و دومین عامل عمده‌ی مرگ ناشی از سرطان می‌باشد (۱). تلاش برای رده‌بندی مولکولی سرطان پستان منجر به نتایج مختلفی شده است

* نویسنده مسئول: استاد رادیوبیولوژی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز

تلفن: ۰۴۱۱-۳۳۶۲۲۸۰؛ Email: pourfeizi@eastp.ir

۲- کارشناس ارشد ژنتیک، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز

۳- دانشجوی مقطع دکتری ژنتیک مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه تربیت مدرس

۴- استاد جراحی توراکیس، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

۵- استادیار پاتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

تاریخ پذیرش: ۱۳۸۷/۲/۲۱

تاریخ دریافت: ۱۳۸۷/۲/۱۴

تاکنون مطالعاتی در زمینه ارتباط واریانت‌های $\Delta Ex3$ و 2α با تومورهای در سنین جوانی و تومورهای با منشأ مجرای پستان و همچنین ارتباط واریانت $\Delta Ex3$ با درجه‌ی پاتولوژیکی تومورها انجام شده است در حالیکه بیان واریانت $2b$ در بیمارانی با درگیری بیشتر غدد لنفاوی کمتر می‌باشد (۶). برای واریانت $3b$ نیز همانند Survivin و $\Delta Ex3$ نقش ضد آپوپتوزی پیشنهاد شده است (۷). بنابراین در تحقیق حاضر بیان Survivin و واریانت‌های پیرایشی $\Delta Ex3$ ، $2b$ و $3b$ آن به عنوان مارکر بالقوه‌ی تشخیصی در تومورهای پستان در قالب یک مطالعه تجربی مورد ارزیابی قرار گرفته است.

روش بررسی

نمونه‌گیری: نمونه‌های انسانی مورد نیاز در این تحقیق از بیمارستان امام خمینی (ره) تبریز جمع‌آوری شدند. نمونه‌ها تحت نظارت جراح متخصص توراکیس و با رضایت کامل بیماران از کسانی که تحت عمل جراحی بیوپسی و یا ماستکتومی قرار گرفته بودند جمع‌آوری و در تیوب‌های عاری از RNase قرار داده شد و سپس به نیتروژن مایع منتقل گردیدند. این نمونه‌ها تا مرحله‌ی استخراج RNA در نیتروژن مایع نگه‌داری شدند. تعداد نمونه‌های مورد نیاز جهت ارائه‌ی نتایج قابل قبول از نظر آماری با توجه به مطالعات قبلی در این زمینه تعیین و در مجموع ۱۸ نمونه‌ی توموری و ۱۷ نمونه از بافت‌های حاشیه‌ی تومور جمع‌آوری و در قالب یک مطالعه مورد شاهده‌ی مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌های مربوط به حاشیه‌ی تومور از محل دور از تومور که ظاهراً فاقد درگیری توموری بودند جمع‌آوری شدند.

استخراج RNA: RNA کل (Total RNA) با استفاده از محلول RNX-Plus و طبق دستورالعمل شرکت سازنده (سیناژن-ایران) استخراج شد. به دلیل حساسیت کار با RNA از نظر آلودگی با RNase، جهت غیرفعال‌سازی این آنزیم کلیه‌ی لوازم مورد استفاده با محلول DEPC ۰/۱ درصد تیمار گردید. کمیّت و کیفیت RNA به دست آمده با روش اسپکتروفوتومتری و الکتروفورز ژل آگارز بررسی شد.

تیمار با DNase I و واکنش رونویسی معکوس (Reverse (RT) Transcription: به منظور جلوگیری از آلودگی RNA

که هیچ یک در برگرفته‌ی تمامی انواع تومورهای این بافت نمی‌باشند (۲). بنابراین تحقیقات وسیعی به منظور شناسایی مارکر مولکولی که مختص انواع تومورهای پستان باشد و از سوی دیگر بتوان تیمارهای مناسبی بر پایه‌ی آن اتخاذ کرد در حال انجام است. تومور مارکرها فاکتورهای هستند که در خون، ادرار یا بافت‌های بدن به وجود آمده و با استفاده از تست‌های آزمایشگاهی قابل تشخیص می‌باشند. این فاکتورها توسط سلول‌های سرطانی یا پاسخ بدن به سرطان یا اختلالات غیرسرطانی خاصی تولید می‌شوند و مسئول فرآیندهای اصلی سلول هستند که حضور، افزایش یا کاهش آنها می‌تواند برای اهداف مختلفی در زمینه‌های غربالگری، تشخیص، پیش‌آگهی یا درمان بیماری به کار رود (۳). با توجه به اینکه آپوپتوز یکی از مکانیسم‌های دفاعی سلول‌ها در برابر سرطانی شدن می‌باشد مهارکنندگان آپوپتوز به عنوان مارکرهای مهم دخیل در بروز و پیشروی سرطان مورد توجه قرار گرفته‌اند و از آنجا که اکثر درمان‌های رایج در سرطان بر پایه‌ی القاء آپوپتوز در سلول‌های سرطانی است بنابراین مقاومت به آپوپتوز مهمترین مشکل سرطان محسوب می‌شود. Survivin عضو جدیدی از خانواده‌ی پروتئین‌های مهارکننده‌ی آپوپتوز (IAP) می‌باشد که به دلیل نقش دوگانه‌ی آن در مهار مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلول و پیشبرد چرخه‌ی سلولی توجه محققان بسیاری را به خود جلب کرده است. ژن Survivin به فراوانی در اندام‌های جنینی بیان می‌شود در حالیکه در انواع بالغ نرمال تمایز یافته بیان آن قابل شناسایی نیست. بیان متمایز آن در سلول‌های سرطانی در مقایسه با سلول‌های نرمال و از سوی دیگر وجود ارتباط بین میزان بیان آن با درجه‌ی بدخیمی تومورها و مقاومت به درمان‌های مختلف از جمله شیمی‌درمانی و پرتوتابی، آن را به عنوان مارکر مولکولی در سرطان مطرح می‌سازد (۴). Survivin در اثر فرآیند پردازش HnRNA (Heterogenous nuclear RNA) چندین واریانت تولید می‌کند که تا بحال واریانت‌های $\Delta Ex3$ ، $2b$ ، $3b$ و 2α در مطالعات مختلف شناسایی و گزارش شده‌اند و هر یک از آنها ویژگی‌های خاصی در ارتباط با فرآیند آپوپتوز دارند. مطالعات حاکی از ارتباط بیان بالای Survivin با پاسخ ضعیف به هورمون‌درمانی در سرطان پیشرفته‌ی پستان می‌باشد (۵).

آشکارسازی نمی‌باشد. در تمام نمونه‌ها، از ژن $\beta 2m$ به عنوان کنترل داخلی استفاده شد و واکنش PCR برای هر دو ژن $\beta 2m$ و Survivin در دو تیوب جداگانه و در شرایط کاملاً یکسان انجام گرفت. برای اطمینان از عدم آلودگی، یک تیوب نیز به عنوان کنترل منفی در هر واکنش به کار رفت که در آن به جای cDNA آب دو بار تقطیر استریل استفاده شد. بعد از انجام واکنش PCR، برای اطمینان از تکثیر بهینه‌ی قطعه‌ی موردنظر، محصول PCR توسط الکتروفورز ژل آگارز ۲ درصد بررسی گردید.

تعیین توالی: به منظور تعیین هویت قطعات حاصل از PCR، باندهای نوکلئوتیدی Survivin و باندهای نوکلئوتیدی Survivin- $\Delta Ex3$ پس از استخراج از ژل، توسط شرکت (Holland) Microgene تعیین توالی و با توالی موجود در Bank سایت NCBI مقایسه گردید.

نیمه کمی کردن بیان ژن: برای کمی‌سازی بیان ژن، تصاویر مربوط به الکتروفورز ژل آگارز توسط نرم‌افزار Uvidoc مورد بررسی قرار گرفت و پس از تعیین حجم باندها، شاخص بیان ژن در هر نمونه (نسبت حجم باندها مذکور به حجم باندهای $\beta 2m$) محاسبه شد سپس میانگین شاخص‌های بیان مربوط به هر واریانت در هر گروه تعیین و مقدار آستانه‌ی بیان به دست آمد. نمونه‌هایی که شاخص بیان آنها بیشتر از میزان آستانه‌ی بیان بود به عنوان مثبت و نمونه‌هایی که دارای شاخص بیان کمتر از آستانه بودند به عنوان نمونه‌های منفی در نظر گرفته شدند.

آنالیز آماری: برای بررسی ارتباط بین بیان ژن و ماهیت تومورها از آزمون آماری Mann-Whitney با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS استفاده شد.

نتایج

در این تحقیق ۱۸ نمونه‌ی توموری پستان و ۱۷ نمونه‌ی مربوط به بافت‌های حاشیه‌ی تومور از بیماران مراجعه کننده به بیمارستان امام خمینی (ره) تبریز مورد مطالعه قرار گرفتند. میانگین سنی بیماران (۷۲-۴۳) ۴۳/۸ بود. از این تعداد نمونه، ۵۷/۴ درصد از آنها ضایعه را در پستان سمت چپ داشتند. نیز ۶۶/۶ درصد (۱۲/۱۸) از بیماران دارای درگیری غدد لنفاوی بوده و هیچ سابقه فامیلی در بیماران وجود نداشت. بررسی نتایج نشان داد که بیان

حاصله با DNA، ابتدا مقادیر یکسان از RNA اولیه (۱ میکروگرم) از هر نمونه با آنزیم DNaseI تیمار و سپس با استفاده از پرایمر Oligo dT و طی واکنش رونویسی معکوس با استفاده از آنزیم RT (Germany, Fermentase) به cDNA تبدیل شدند.

طراحی پرایمر: در این تحقیق، ژن $\beta 2m$ به عنوان کنترل داخلی انتخاب و از همان پرایمرهایی که توسط بابائی و همکاران بر روی ژن $\beta 2m$ و Survivin انسانی طراحی شده بود استفاده گردید (شماره دستیابی ژن Survivin و $\beta 2m$ به ترتیب NM_001168 و NM_00114048 می‌باشد) (۸). ویژگی این پرایمرها قرار داشتن آنها بر روی اگزون‌های جداگانه است که در این صورت محصول PCR ناشی از آلودگی با DNA ژنومی به دلیل تفاوت در اندازه‌ی قطعه‌ی تکثیر شده، از محصول اصلی RT-PCR قابل تمایز می‌باشد. توالی و جایگاه پرایمرها به قرار زیر است

(Human $\beta 2m$ Forward primer)(HBF): 5'- CTA CTC TCT CTT TCT GGC CTG-3' (94-114)
 (Human $\beta 2m$ Reverse primer)(HBR): 5'- GAC AAG TCT GAA TGC TCC AC-3' (265-284)
 (HFP): 5'-TGG CAG CCC TTT CTC AAG-3' (149-166)
 (Human Survivin Forward Primer)
 (HRP): 5'-GAG AGA GAG AAG CAG CCA C-3' (762-780)
 (Human Survivin Reverse Primer)
 (HFPN): 5'-ACC ACC GCA TCT CTA CAT TC-3' (168-187)
 (Human Forward Primer Nested)
 (HRPN): 5'- CTG GTG CCA CTT TCA AGA C -3' (705-723)
 (Human Reverse Primer Nested)

واکنش Nested PCR: واکنش PCR برای ژن Survivin در دو مرحله و با استفاده از پرایمرهای داخلی و خارجی صورت گرفت. پرایمرهای مورد استفاده قادر به تکثیر هر چهار واریانت بوده و قطعاتی با طول‌های ۵۵۶، ۴۳۸، ۶۲۵ و ۷۳۱ جفت باز را به ترتیب برای Survivin و واریانت‌های $\Delta Ex3$ ، 2b و 3b آن به وجود می‌آورند. قابل ذکر است که بیان کم Survivin و واریانت‌های پیرایشی آن در مرحله‌ی اول PCR قابل

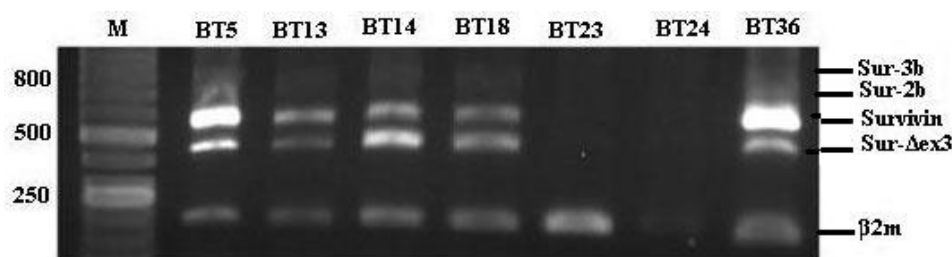
الف، ب و ج ارتباط بیان ژن Survivin و واریانت‌های پیرایشی Δ Ex3 و 3b را در گروه‌بندی‌های مختلف نشان می‌دهد به طوری‌که نتایج حاکی از بیان بالای ژن Survivin در گروه توموری (I) نسبت به حاشیه‌ی تومور (II) می‌باشد و بیان بالای آن را در تومورهای بدون درگیری غدد لنفاوی (IV) نسبت به تومورهای دارای غدد لنفاوی درگیر (III) نشان می‌دهد. نمودار (ب) حاکی از بیان بالای واریانت پیرایشی Δ Ex3 در گروه توموری نسبت به حاشیه تومور و در تومورهای بدون درگیری غدد لنفاوی نسبت به انواع دارای درگیری غدد لنفاوی است. نمودار (ج) نیز بیان بالا و متمایز واریانت پیرایشی 3b را در گروه توموری نسبت به نمونه‌های حاشیه تومور و در گروه بدون درگیری غدد لنفاوی نسبت به تومورهای دارای غدد لنفاوی درگیر نشان می‌دهد.

Survivin و واریانت‌های مذکور در گروه توموری نسبت به گروه حاشیه‌ی تومور افزایش داشتند و شدت بیان ژن Survivin، Survivin-3b و Survivin- Δ Ex3 در بافت‌های توموری نسبت به بافت‌های حاشیه‌ی تومور به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) برای Survivin و Survivin- Δ Ex3 و ($p < 0.07$) برای Survivin-3b بیشتر بود. جدول ۱ درصدهایی از افراد هر گروه که بیان واریانت‌های مختلف در آنها مثبت بوده است را نشان می‌دهد. همچنین با تقسیم بندی بیشتر نمونه‌ها با توجه به درگیری و عدم درگیری غدد لنفاوی و آنالیز آماری توسط نرم افزار spss، نتایج حاکی از بیان بالای Survivin- Δ Ex3 و Survivin- و Survivin-3b در تومورهای بدون درگیری غدد لنفاوی (گروه IV نمودارهای الف، ب و ج) و عدم ارتباط درگیری غدد لنفاوی با بیان آنها در گروه حاشیه‌ی تومور (گروه‌های V و VI نمودارهای الف، ب و ج) می‌باشد. همانطور که ملاحظه می‌شود نمودارهای

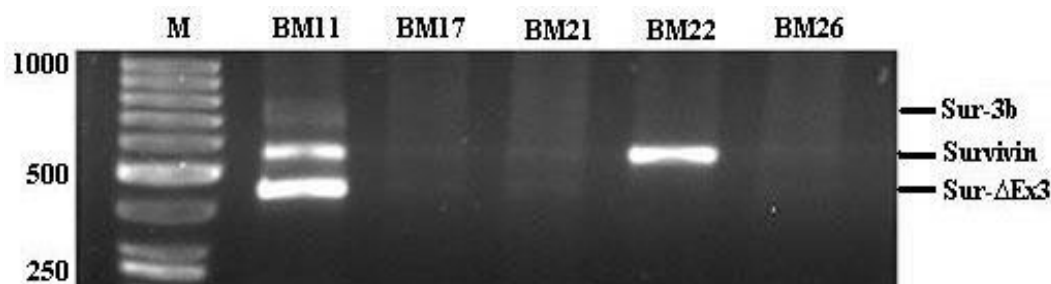
جدول: درصد بیان ژن Survivin و واریانت‌های پیرایشی Δ Ex3، 2b و 3b آن

گروه	Survivin	Survivin- Δ Ex3	Survivin-2b	Survivin-3b
توموری	٪۴۱/۱	٪۶۱/۱	٪۳۳/۳	٪۵۰
حاشیه تومور	٪۱۷/۶	٪۲۳	٪۱۱/۷۶	٪۰/۶۰۶

شکل ۱: بیان ژن Survivin و واریانت‌های پیرایشی Δ Ex3، 2b و 3b آن در نمونه‌های توموری



شکل ۲: بیان ژن Survivin و واریانت‌های پیرایشی Δ Ex3، 2b و 3b آن در نمونه‌های حاشیه‌ی تومور

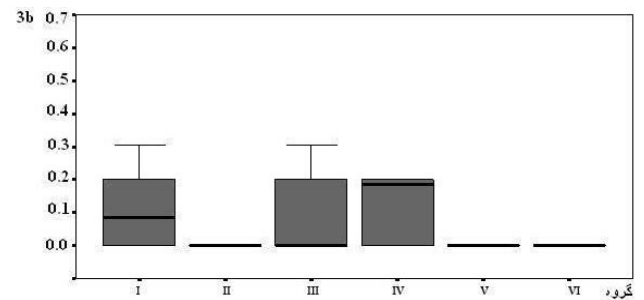
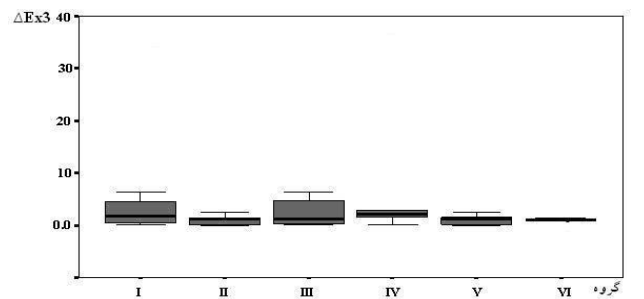
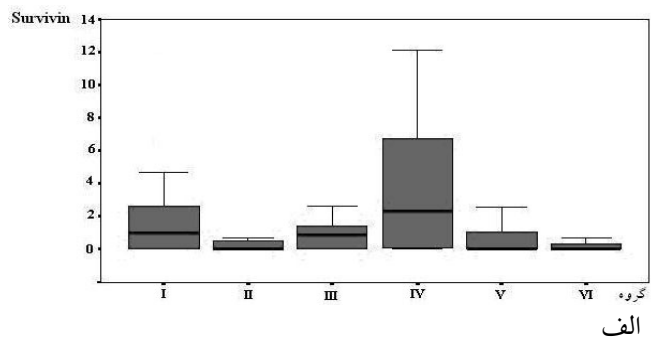


گسترده‌ای در راستای شناسایی ارتباط این واریانت‌ها با تومورها آغاز شده است (۹).

مطالعات بر روی انواع مختلف تومورهای انسانی از جمله سرطان کولون، معده، ریه، کلیه، کبد، مری و نوروبلاستوما نشان داده است که Survivin در عمده سلول‌های سرطانی بیان می‌شود. در حالیکه در انواع بافت‌های بالغ نرمال و مجاور تومور بیان آن به شدت کاهش یافته و قابل آشکارسازی نمی‌باشد.

مطالعات مختلف در راستای آشکارسازی ارتباط واریانت $\Delta Ex3$ و تومورها نشان دهنده‌ی حفظ خاصیت ضد آپوپتوزی آن و نقش آن در پیشروی تومورها می‌باشد (۱۰). همچنین کاهش بیان واریانت 2b با میزان درگیری غدد لنفاوی گزارش شده است (۵). برای واریانت 3b نیز برخی گزارشها حکایت از نقش ضد آپوپتوزی آن دارند (۶). با در نظر گرفتن این نتایج، هدف اصلی این تحقیق ارزیابی شایستگی ژن Survivin و واریانت‌های پیرایشی $\Delta Ex3$ ، 2b، و 3b آن به عنوان مارکرهای مولکولی در سرطان پستان می‌باشد.

نتایج حاصل از بررسی‌های صورت گرفته توسط Ryan و همکاران بر روی بافت‌های توموری پستان حاکی از بیان ژن Survivin و واریانت‌های $\Delta Ex3$ و 2b در نسبت بالایی از سرطان پستان می‌باشد (۱۱). Vegran و همکاران نیز بیان Survivin و واریانت‌های $\Delta Ex3$ ، 2b، و 3b را در سلولهای توموری و حاشیه‌ی تومور در سرطان پستان گزارش کرده‌اند (۱۲). نتایج این مطالعه نیز هم‌راستا با مطالعات قبلی، بیان ژن Survivin و واریانت‌های پیرایشی $\Delta Ex3$ ، 2b، و 3b را در بافت‌های توموری پستان نشان داد. نتایج Vegran و همکاران بر روی بافت‌های توموری پستان بیانگر ارتباط بیان Survivin و واریانت $\Delta Ex3$ با ماهیت توموری نمونه‌های بافتی و ارتباط بیان واریانت 3b با مراحل بالاتر تومور بوده و میزان بیان آنها به ترتیب در ۹۴ و ۸۰ و ۳۰ درصد از نمونه‌ها گزارش شده است (۱۲). در مطالعه‌ی حاضر نیز ارتباط بیان ژن Survivin و واریانت‌های $\Delta Ex3$ و 3b با ماهیت تومورها به دست آمد و بیان آنها به ترتیب در ۴۱/۱، ۶۱/۱ و ۵۰ درصد از نمونه‌های توموری مشاهده شد. در مطالعه‌ی Vegran و همکاران، واریانت 2b در ۷۰ درصد نمونه‌های توموری بیان شده است در



نمودارها: مقایسه‌ی بیان ژن الف) Survivin، ب) Survivin- $\Delta Ex3$ و ج) Survivin-3b در ۶ گروه: I-توموری II- حاشیه‌ی تومور III-توموری با درگیری غدد لنفاوی IV- توموری بدون درگیری غدد لنفاوی V- حاشیه‌ی تومور با درگیری غدد لنفاوی VI- حاشیه‌ی تومور بدون درگیری غدد لنفاوی.

بحث

Survivin عضو جدید خانواده پروتئین‌های مهارکننده آپوپتوز می‌باشد. این ژن به فراوانی در بافت‌های جنینی بیان می‌شود ولی بیان آن در بافت‌های تمایز یافته نرمال قابل ردیابی نمی‌باشد. همچنین بیان این ژن بسیار اختصاصی برای تومور بوده و محصول آن به فراوانی در عمده تومورها یافت می‌شود. از طرف دیگر با کشف واریانت‌های پیرایشی Survivin تلاش‌های

حاضر نیز ضمن همخوانی با نتایج قبلی از نظر بیان اختصاصی Survivin و واریانت‌های $\Delta Ex3$ و 3b در توده‌های توموری نسبت به حاشیه‌ی غیر توموری، نقش کلیدی این ژن و به ویژه واریانت $\Delta Ex3$ و 3b را در بروز تومورهای پستان نشان می‌دهد. از سوی دیگر بیان کمتر آنها در نمونه‌های گرفته شده از حاشیه‌ی تومور بیانگر تعداد کمتر سلول‌های توموری در این نواحی بوده و تفکیک ناحیه‌ی توموری از حاشیه‌ی تومور را امکان‌پذیر می‌سازد که در نوع خود می‌تواند در کنار سایر روش‌های روتین آزمایشگاهی، در مرزبندی تومورها به منظور اتخاذ روش‌های درمانی مناسب، مفید واقع شود. در مجموع نتایج به دست آمده حاکی از ارتباط بین بیان Survivin و به ویژه واریانت‌های $\Delta Ex3$ و 3b با تومورهای پستان بوده و استفاده از آنها را به عنوان مارکرهای مولکولی در تشخیص تومورهای پستان امکان‌پذیر می‌سازد.

سپاسگزاری

از همکاری بیماران محترم و خانواده‌های ایشان، کارکنان اتاق عمل و بخش پاتولوژی بیمارستان امام خمینی و همکاران دانشکده علوم طبیعی دانشگاه تبریز قدردانی می‌نماییم. همچنین از مهندس مهدی حقی و خانم فاطمه خدایی برای همکاری در نمونه‌گیری و انجام هر چه بهتر آزمایشها کمال تشکر را داریم.

حالیکه این مقدار در مطالعه‌ی حاضر ۳۳ درصد و نزدیک به نتایج مطالعه‌ی O'Driscoll و همکاران می‌باشد (۱۳).

در مطالعات Vegran و همکاران و همچنین Ryan و همکاران (۱۱، ۱۲)، Survivin در اکثر بافت‌های توموری بیان یافته و به عنوان واریانت غالب گزارش شده است، در حالیکه مطالعه‌ی حاضر واریانت $\Delta Ex3$ را به عنوان واریانت غالب معرفی می‌کند.

همچنین نتایج به دست آمده حاکی از بیان بالای Survivin و واریانت‌های $\Delta Ex3$ و 3b در تومورهای بدون درگیری غدد لنفاوی است. گرچه این ارتباطها معنی‌دار نمی‌باشند. به نظر می‌رسد چنانچه تعداد نمونه‌ها افزایش یابد می‌توان این ارتباطها را به صورت معنی‌داری به دست آورد.

نتیجه‌گیری

از آنجا که بیان Survivin وابسته به سیکل سلولی می‌باشد، بیش بیان آن در سرطان نه تنها تکثیر نرمال سلولی را بر هم زده بلکه باعث سرکوب آپوپتوز در سلول‌های توموری نیز می‌شود. با وجودی که بیان ژن Survivin و واریانت‌های پیرایشی آن توسط مکانیسم‌های متعددی در درون سلول‌ها صورت می‌گیرد، ولی ارتباط بیش بیان آنها با سرانجام نامناسب در سرطانها موضوع مورد بحث بسیاری از مطالعات کنونی می‌باشد. نتایج مطالعه

References

- 1- Smigal C, Jemal A, Ward E, Cokkinides V, Smith R, Howe HL, et al. *Trends in Breast Cancer by Race and Ethnicity*. CA Cancer J Clin 2006; 56(3): 168-83.
- 2- Pusztai L, Mazouni C, Anderson K, Wu Y, Symmans WF. *Molecular Classification of Breast Cancer: Limitations and Potential*. Oncologist 2006; 11: 868-77.
- 3- American cancer society, *prevention and early detection*. Tumor Markers. Nov29, 2007.
- 4- Ouhtit A, Matrougui Kh, Bengrine A, Koochekpour Sh, Zerfaoui M, Yousief Z. *Survivin is not only a death encounter but also a survival protein for invading tumor cells*. Frontiers in Bioscience 2007;12: 1260-70.
- 5- Span P, Tjan-Heijnen V, Manders P, Tienoven D,

- Lehr J, Sweep F. *High survivin predicts a poor response to endocrine therapy, but a good response to chemotherapy in advanced breast cancer*. Breast Cancer Research and Treatment 2006;98: 223-30.
- 6- Span P, Tjan-Heijnen V, Heuvel J, Jacques B. de Kok, Foekens J, et al. *Do the Survivin (BIRC5) Splice Variants Modulate or Add to the Prognostic Value of Total Survivin in Breast Cancer?* Clinical Chemistry 2006; 52(9): 1693-700.
- 7- Badran A, Yoshida A, Ishikawa K, Goi T, Yamaguchi A, Ueda T, et al. *Identification of a novel splice variant of the human anti-apoptosis gene survivin*. Biochemical and Biophysical Research Communications 2004;314: 902-07.
- 8- Babaei E, Mowla SJ, Shariat Torbaghan Sh, Emadi Baygi M. *Detection of Survivin Gene Expression in Formalin-Fixed Paraffin-Embedded Tissues of Human Osteosarcoma: Its Potential Usefulness in Diagnosis and Prognosis of Bone Tumors*. Iranian Biomedical Journal 2006; 10(1): 39-45.
- 9- Sah NK, Khan Z, Khan GJ, Bisen PS. *Structural functional and therapeutic biology of survivin*. Cancer Lett 2006; 244 (2): 164-71.
- 10- Li F. *Role of survivin and its splice variants in tumorigenesis*. British Journal of Cancer 2005; 92: 212-16.
- 11- Ryan B, O'donovan N, Browne B, O'shea C, Crown J, Hilla DK, et al. *Expression of Survivin and its splice variants Survivin-2B and Survivin-ΔEx3 in breast cancer*. Br J Cancer 2005; 92: 120-4.
- 12- Vegran F, Boidot R, Oudin C, Riedinger JM, Lizard-Nacol L. *Distinct expression of Survivin splice variants in breast carcinomas*. International Journal of Oncology 2005; 27: 1151-7.
- 13- O'Driscoll L, Linehan R, Kennedy SM, Cronin D, Purcell R, Glynn SH, et al. *Lack of prognostic significance of Survivin, Survivin-Ex3, Survivin-2B, galectin-3, bag-1, bax-a and MRP-1 mRNAs in breast cancer*. Cancer Letters 2003;201: 225-36.