جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان / دوره هفدهم / زمستان ۱۳۹۱ /۴۵-۳۸

ارزیابی بیان واریانت‌های پیرایشی نوین Survivin-3b و Survivin-3α به عنوان تومور مارکر در سرطان تیروئید

کیهانه کیانی[۱]، محمدعلی حسین‌پورفیضی[۲]، اسماعیل بابائی[۳]، وحید منتظری[۴]، منیره حلیمی[۵]

۱. مربی، گروه ژنتیک، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد نجف آباد، نجف آباد، ایران

۲. استاد، گروه زیست شناسی جانوری، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران. (نویسنده مسئول) تلفن تماس: ۳۳۶۲۲۸۰-۰۴۱۱، pourfeizi@eastp.ir

۳. استادیار، گروه زیست شناسی جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

۴. استاد گروه جراحی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

۵. دانشیار گروه پاتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

چکیده

زمینه و هدف: Survivin عضو جدیدی از خانواده پروتئین‌های مهارکننده آپوپتوز (IAP) می باشد که نقش مهمی در تنظیم چرخه سلولی و ممانعت از مرگ برنامه‌ریزی شده سلول ایفا می‌کند. بیان متمایز این ژن در سلول‌های توموری بر خلاف سلول‌های نرمال، آن را به عنوان چهارمین ترانس‌کریپتوم عمده در تومورها معرفی کرده است. سرطان تیروئید شایع‌ترین بدخیمی غدد درون-ریز می‌باشد. به دلیل ناهمگونی بالای ندول‌های توموری و غیرتوموری تیروئید از نظر ویژگی‌های آسیب‌شناسی و فقدان مارکرهای مولکولی مناسب، امروزه تلاش‌های گسترده‌ای برای معرفی یک مارکر مولکولی جهت تشخیص این ضایعات توموری در حال انجام است. بررسی‌ها، بیان متمایز Survivin و واریانت‌های پیرایشی آن را در سلول‌های سرطانی در مقایسه با سلول‌های بالغ نرمال نشان می‌دهند. در این مطالعه بیان واریانت‌های پیرایشی نوین Survivin-3b و Survivin-3α به عنوان مارکرهای تشخیصی در تومورهای تیروئیدی مورد بررسی قرار گرفته است.

روش بررسی: :این مطالعه از نوع توصیفی است و طی آن ۷۷ نمونه‌ی بافتی تیروئید شامل ۴۹ نمونه‌ی توموری، ۱۴ نمونه‌ی غیرتوموری و ۱۴ نمونه‌ی حاشیه‌ی تومور جمع‌آوری و بیان واریانت‌های موردنظر توسط روش Hemi-Nested RT-PCR مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: بررسی‌ها نشان داد که میزان بیان واریانت پیرایشی Survivin-3b و Survivin-3α در گروه توموری نسبت به گروه حاشیه‌ی تومور و غیرتوموری افزایش می‌یابد و کمترین میزان بیان در گروه حاشیه‌ی تومور مشاهده می‌شود.

نتیجه گیری: این نتایج برای اولین‌بار بیان Survivin-3b و Survivin-3α را در سلول‌های تیروئیدی تایید می‌نماید. با توجه به بیان قابل توجه واریانت‌های 3B و 3α در سلول‌های توموری، در مجموع نتایج حاصل، عملکرد واریانت‌های مذکور را در پیشرفت سرطان تیروئید نشان داده و شایستگی آنها را به عنوان مارکر مولکولی بالقوه در تشخیص و طبقه بندی ندول‌های توموری و غیرتوموری تیروئید مطرح می‌سازد.

واژه های کلیدی: سرطان تیروئید، Survivin-3b، Survivin-3α، واریانت پیرایشی، Hemi-Nested RT-PCR

وصول مقاله :۹۰/۵/۲۵ اصلاحیه نهایی:۹۱/۳/۲۲ پذیرش:۹۱/۶/۹

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

سرطان تیروئید جزء یک درصد سرطان‌های بدخیم می‌باشد، اما شایع‌ترین بدخیمی سیستم اندوکرینی بوده و ۹۰ درصد آن‌ها را به خود اختصاص می‌دهد (۱). بیشترین میزان شیوع آن در زنان بین ۴۵ تا ۵۵ سال و مردان ۵۵ تا ۶۵ سال مشاهده می‌گردد و احتمال ابتلا به این سرطان در زنان سه برابر مردان است (۲). استفاده از روش بیوپسی سوزنی ساده‌ترین راه تشخیص ندول‌های سرطان تیروئید می‌باشد که از هر ۲۰ آزمون تنها یک مورد ندول سرطانی را نشان می‌دهد و نتایج باقیمانده تحت عنوان بیماری مشکوک طبقه‌بندی می‌شوند. تست‌های تصویری مانند سونوگرافی و اسکن تیروئید نیز در بیشتر موارد قادر به تفکیک ندول‌های تیروئیدی نمی‌باشند (۴ و۳). ناهمگونی بالای تومورهای تیروئیدی از لحاظ ویژگی‌های آسیب‌شناسی - بالینی به همراه کمبود مارکرهای مولکولی اختصاصی، تشخیص ندول‌های توموری را از انواع غیرتوموری تیروئید با مشکل مواجه ساخته است. بنابراین در سال‌های اخیر تلاش‌های گسترده‌ای به منظور معرفی یک مارکر مولکولی که بتواند ماهیت تومورهای تیروئیدی را پیش‌بینی نموده و به عنوان یک عامل کمکی تشخیصی و پیش‌آگهی در کنار سایر روش‌ها به کار برده شود درحال انجام است (۶ و۵). Survivin عضو جدیدی از خانواده پروتئین‌های مهارکننده‌ی مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی می‌باشد که به دلیل نقش دوگانه آن در تنظیم مرگ سلولی و پیشبرد چرخه سلولی توجه بسیاری از محققان را به خود جلب نموده است؛ این ژن به میزان زیادی در بافت‌های جنینی بیان می‌گردد، در حالی‌که بیان آن در بافت‌های بالغ طبیعی ناچیز بوده و قابل ردیابی نمی‌باشد (۷)؛ همچنین بیان این ژن برای تومور بسیار اختصاصی بوده و به عنوان چهارمین ترانسکریپتوم بیان‌شونده در سلول‌های توموری معرفی شده است (۹و۸). ژن Survivin، واقع بر روی کروموزوم شماره $17q_{25}$، در اثر فرایند پردازش hnRNA واریانت‌های مختلفی تولید می‌کند که تا به حال واریانت‌های ΔEx3، 2α،2b، 3b و 3α در مطالعات مختلف شناسایی و گزارش شده است ؛ با توجه به این‌که مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی یکی از مکانیسم‌های دفاعی سلول‌ها در برابر سرطانی شدن می‌باشد از این‌رو مهارکنندگان آن به‌عنوان مارکر مولکولی مهم موثر در بروز و پیشروی سرطان مورد توجه قرار گرفته‌اند (۱۰). بیان متمایز Survivin و واریانت‌ها ی پیرایشی آن در سلول‌های سرطانی در مقایسه با انواع طبیعی باعث شده است تا به عنوان مارکر تشخیصی در سرطان مطرح گردند (۱۲ و۱۱). تاکنون مطالعات مختلفی در زمینه ارتباط واریانت‌های پیرایشی 3b و 3α با تومورهای مختلف انجام شده (۱۷-۱۳) و برای این دو واریانت نیز همانند Survivin و ΔEx3 نقش ضدآپوپتوزی پیشنهاد گردیده است (۱۸). در تحقیق حاضر بیان واریانت‌های پیرایشی نوین Survivin-3b و Survivin-3α به عنوان عامل بالقوه موثر در بروز و پیشروی سرطان تیرئید مورد ارزیابی قرارگرفته است.

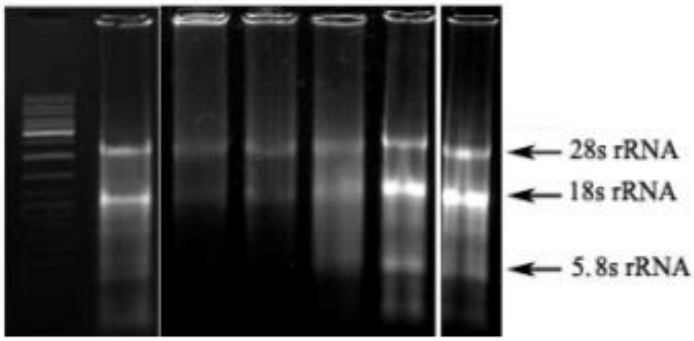
روش بررسی

این مطالعه به صورت توصیفی انجام شد و نمونه‌های مورد نظر از بیماران تحت عمل جراحی در بیمارستان امام خمینی(ره) تبریز، زیرنظر پزشک فوق تخصص جراحی توراکس و با رضایت کامل آن‌ها جمع‌آوری شدند و پس از قرار دادن در تیوب‌های عاری از RNase، بلافاصله به نیتروژن مایع منتقل گردیدند. در مجموع ۷۷ نمونه بافت تیروئیدی تحت نظارت متخصص پاتولوژی در سه گروه طبقه‌بندی شدند. این گروه‌ها شامل ۴۹ نمونه توموری، ۱۴ نمونه غیرتوموری و ۱۴ نمونه حاشیه‌ی تومور می‌باشند. موارد غیرتوموری شامل آن دسته از نمونه هایی است که

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

بیماران به دلیل وجود ضایعات غیرتوموری تیروئید از جمله گواتر تحت عمل جراحی قرارگرفته بودند؛ انواع حاشیه‌ی تومور نیز از بافت‌های کنار غدد توموری گروه اول جمع-آوری گردیدند.

استخراج RNA: استخراج RNA از نمونه‌های بافتی فریز شده با استفاده از محلول RNX plus™ و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد (سیناژن- ایران). به دلیل حساسیت کار با RNA از نظر آلودگی با RNase، جهت غیرفعال‌سازی این آنزیم کلیه لوازم مورد استفاده با محلول DEPC ۰/۱ درصد تیمار گردید. پس از خرد کردن نمونه‌های بافتی توسط هموژنایزر در نیتروژن مایع، به ازای هر ۵۰ تا ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت موردنظر ۱ میلی‌لیتر از محلول RNX plus اضافه و کاملا یکنواخت شد. سپس RNA توسط محلول کلروفرم جداسازی و با استفاده از ایزوپروپانول رسوب داده شد. رسوب RNA پس از شستشو توسط اتانول در ۰/۱ میلی‌مول EDTA نگهداری گردید. سپس کمیت و کیفیت RNAی به‌دست آمده به ترتیب با دستگاه‌های اسپکتروفتومتر و الکتروفورز ژل آگارز مورد بررسی قرارگرفتند (شکل ۱).



شکل ۱: کیفیت RNA های استخراجی بر روی ژل آگارز. فقدان اسمیر در قسمت‌های پایینی ژل و حضور باندهای واضح rRNA بیانگر کیفیت بالای RNA های استخراجی و عدم تجزیه آنها می‌باشد.

طراحی پرایمر: در این مطالعه از ژن β2m به عنوان کنترل داخلی استفاده شد و برای تکثیر آن از پرایمرهایی که توسط بابایی و همکاران طراحی شده بود استفاده گردید (۱۹). به‌منظور تکثیر ژن Survivin-3b و Survivin-3α نیز پس از دستیابی به توالی موردنظر از طریق سایت NCBI پرایمر مربوطه با استفاده از نرم‌افزار Generunner (نگارش ۳/۲۰ کمپانی Hastings software) طراحی و توسط شرکت Bioscience BV هلند ساخته شد. توالی و مشخصات این پرایمرها به صورت زیر می‌باشد:

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

Survivin-3b (HS3BF1):

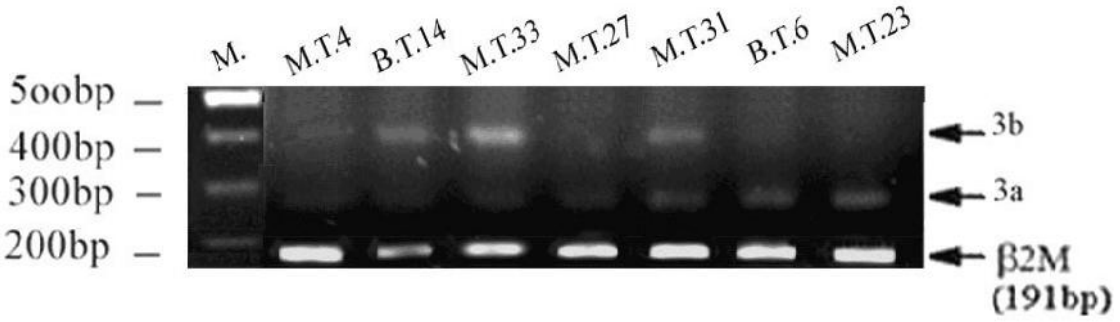
Human Survivin-3b Forward Primer (HS3BF1): 5'-TGG CAG CCC TTT CTC AAG-3'
Human Survivin-3b Reverse Primer (HS3BR): 5'-ACA GAC CCT GGC AAA CAT C-3'
Human Survivin-3b Forward Primer Nested (HS3BF2): 5'-ACCACCGCATCTCTACATTC-3'

واکنش Hemi-Nested RT-PCR:

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

- **واکنش Hemi-Nested PCR**: واکنش PCR برای ژن Survivin-3b و Survivin-3α در دو مرحله توسط پرایمرهای خارجی و داخلی صورت گرفت. پرایمر مورد استفاده قطعه‌ای با طول ۴۰۰ و ۲۸۳ جفت باز را به ترتیب برای Survivin-3b و Survivin-3α تولید می‌کند ؛ درضمن از ژن β2m به عنوان کنترل داخلی استفاده شد. برای اطمینان از عدم آلودگی، یک تیوب نیز به عنوان کنترل منفی به‌کار رفت که در آن به‌جای cDNA از آب دوبار تقطیر استریل استفاده گردید. پس از انجام واکنش PCR برای اطمینان از تکثیر بهینه‌ی قطعه‌ی موردنظر، محصولات PCR توسط ژل آگارز ۲ درصد مورد بررسی قرارگرفتند (شکل ۲).

تعیین توالی: به منظور تأیید هویت قطعه حاصل از PCR، باند ۴۰۰ نوکلئوتیدی Survivin-3b و باند ۲۸۳ نوکلئوتیدی Survivin-3α از ژل استخراج شد (سیناژن- ایران) و پس از تعیین توالی توسط شرکت میکروژن (Microgene) با توالی موجود در بانک ژنی مقایسه گردید.

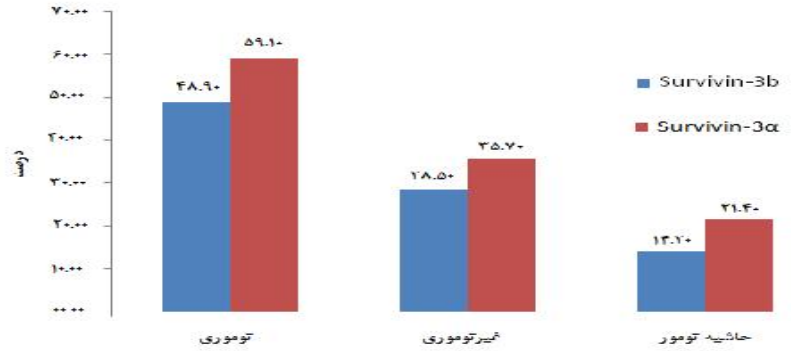


شکل ۲- طرح الکتروفورز محصولات PCR ژن Survivin-3B, Survivin-3α و β2m در نمونه‌های توموری (بدخیم و خوش‌خیم). لاین سمت چپ مارکر را نشان می‌دهد. .BT: تومور خوش‌خیم. .M.T: تومور بدخیم.

یافته‌ها

در مجموع ۷۷ نمونه بافت تیروئیدی شامل ۴۹ نمونه‌ی توموری، ۱۴ نمونه‌ی غیرتوموری و ۱۴ نمونه‌ی حاشیه‌ی تومور مورد مطالعه قرارگرفت که نمونه‌های توموری به ترتیب شامل ۳۵ و ۱۴ مورد بدخیم وخوش‌خیم بود. از میان ۴۹ مورد بیمار واجد تومور ۳۸ نفر زن و ۱۱ نفر مرد بودند که در زنان تقریباً به میزان ۳/۴ برابر مردان مشاهده شد.

بررسی‌ها افزایش بیان واریانت‌های پیرایشی Survivin-3b را در گروه توموری نسبت به موارد حاشیه تومور نشان می‌دهد که این مقدار ۴۸/۹ درصد برای نمونه‌های توموری و ۱۴/۲ درصد در موارد حاشیه توموری می‌باشد؛ میزان بیان در گروه غیرتوموری ۲۸/۵ درصد بود؛ درضمن بیان این واریانت در نمونه‌های تووری خوش‌خیم و بدخیم به ترتیب ۵۴/۲ درصد و ۳۵/۷ درصد مشاهده گردید (نمودارهای ۱ و ۲). همچنین مشاهدات ما افزایش بیان واریانت پیرایشی Survivin-3α را در گروه توموری نسبت به موارد حاشیه تومور نشان می‌دهد. بررسی‌ها حاکی از بیان این واریانت در ۵۹/۱ درصد از نمونه‌های توموری، ۳۵/۷ درصد از نمونه‌های غیرتوموری و ۲۱/۴ درصد از نمونه‌های حاشیه تومور می‌باشند؛ درضمن ۶۵/۷ درصد از نمونه‌های بدخیم و ۴۲/۸ درصد از نمونه‌های خوش‌خیم از نظر بیان این واریانت مثبت بودند (نمودارهای ۱ و ۲).



نمودار ۱: مقایسه‌ی درصد بیان واریانت‌های پیرایشی Survivin-3b و Survivin-3α در گروه‌های توموری، غیرتوموری و حاشیه‌ی تومور .کاهش میزان بیان این دو واریانت در نمونه‌های توموری تا حاشیه‌ی تومور به وضوح نشان داده شده است.

نمودار ۲: مقایسه درصد بیان واریانت‌های پیرایشی Survivin-3b و Survivin-3α در گروه‌های توموری خوش‌خیم، بدخیم، غیرتوموری و حاشیه تومور.

بحث

سرطان تیروئید جزء یک درصد سرطان‌های بدخیم و شایع‌ترین بدخیمی غدد درون‌ریز است (۲۰و ۱). میزان شیوع آن در زنان تقریباً سه برابر مردان می‌باشد و بیشتر در دهه‌های میانی زندگی آنها بروز می‌کند (۲۰). بررسی‌های انجام شده در سال ۱۳۸۴ نشان می‌دهند که سرطان تیروئید جزء ده سرطان شایع در میان زنان آذربایجان شرقی بوده و میزان آن ۳ درصد است (۲۱)؛ لذا با توجه به اهمیت موضوع؛ در سال‌های اخیر تلاش‌های فراوانی به منظور معرفی یک تومور مارکر که بتواند ماهیت متنوع ندول‌های تیروئیدی را پیش‌بینی نموده و به عنوان یک فاکتور کمکی تشخیصی و پیش‌آگهی در کنار سایر روش‌های آسیب-شناسی- بالینی به‌کار برده شود در حال انجام است.

امروزه با کشف واریانت‌های پیرایشی Survivin تلاش در راستای شناسایی ارتباط میان آنها و شکل‌گیری تومور در حال انجام است. هرچند مطالعات اولیه نشان‌دهنده ارتباط میان بیان Survivin با تومورهای اولیه می‌باشد ولی تاکنون اطلاعات جامعی راجع به ارتباط بیان این ژن و واریانت‌های پیرایشی آن در تومورهای تیروئیدی به دست نیامده است (۲۳ و۲۲). بدین منظور در مطالعه‌ی حاضر تلاش بر این است تا اطلاعات اولیه‌ای راجع به ارتباط بیان واریانت‌های پیرایشی جدید Survivin-3b و Survivin-3α در ندول‌های تیروئیدی به‌دست آید.

بررسی‌های انجام شده بر روی تومورهای مختلف از جمله سرطان‌های سینه، معده، ریه، مری و روده نشان داده است که Survivin در بیشتر سلول‌های سرطانی بیان می-شود، درحالی که در سلول‌های طبیعی بیان آن قابل آشکارسازی نمی‌باشد؛ همچنین میزان بیان پایین آن در بافت‌های بالغ طبیعی مانند تیموس، پانکراس، معده، سلول-های بنیادی $CD3^+$ و لنفوسیت‌های خون مشاهده شده است (۲۳ و۸) مطالعات انجام شده با استفاده از تکنیک ایمنوهیستوشیمی توسط ایتو و همکاران در سال ۲۰۰۳ و دو و همکاران در سال ۲۰۰۶ نشان داد که Survivin در بافت نرمال تیروئید قابل شناسایی و آشکارسازی نمی‌باشد، با این-وجود تریو با استفاده از تکنیک RT-PCR و وسترن بلات میزان بیان اندک آنرا در بافت نرمال تیروئید شناسایی نمود(۲۴-۲۲و۱۸). در سال ۲۰۰۵ Caldas و همکاران واریانت 2α را در بررسی‌های خود بر روی رده‌های سلولی سینه، ریه، رحم و مدولابلاستوما شناسایی نمودند (۱۰). همچنین مطالعات انجام شده بر روی سرطان سینه توسط، وگران و همکاران نشان داد که در نمونه‌های حاشیه تومور این بافت، Survivin و واریانت‌های پیرایشی ΔEx3، 2b و 3b به میزان بسیار ناچیزی بیان می‌یابند (۲۵). Badran و همکاران در سال ۲۰۰۴ ضمن مطالعه بر روی رده‌های سلولی سرطان‌های آدنوکارسینومای معده، روده و لوسمی میلوژن حاد، واریانت 3b را شناسایی نمودند (۱۳). در سال ۲۰۰۵ Vegran و همکاران بیان 3b را در ۱۲۱ بیمار مبتلا به سرطان سینه بررسی کردند؛ نتایج آنها ضمن تایید نقش آنتی‌آپوپتیکی این واریانت حاکی از بیان آن در مراحل بالای تومور می‌باشد، همچنین بیان ضعیف آن را در بافت-های حاشیه تومور شناسایی کردند. بررسی‌های انجام شده توسط همین محققان بر روی ارتباط میان جهش‌های P_{53} و بیان واریانت‌های پیرایشی Survivin در سرطان سینه نشان دهنده‌ی ارتباط مثبت Survivin و 3b در مواردی که P_{53} آنها جهش یافته بود می‌باشد (۲۵). در سال ۲۰۰۶ نیز Span و همکاران ضمن بررسی واریانت‌های گوناگون Survivin در سرطان سینه نشان دادند که 3b در مقایسه با سایر واریانت‌ها به میزان کمتری در نمونه‌های توموری بیان می-یابد (۲۶). واریانت جدید 3α در سال ۲۰۰۵ توسط Vietri و همکاران در لوسمی میلوژن حاد گزارش شد که نقش و

خصوصیت واریانت مذکور در ایجاد تومور نامشخص می‌باشد. با این وجود میزان بیان بالای آن در نمونه‌های توموری بافت تیروئید احتمالاً بیانگر ارتباط آن در رابطه با ماهیت تومورهای تیروئیدی می‌باشد (۱۴).

نتایج ما نیز برای اولین بار بیان واریانت‌های پیرایشی Survivin-3bو Survivin-3α را در سلول‌های توموری تیروئید تایید می‌نماید. همچنین بیان آنها در سلول‌ها غیرتوموری و حاشیه‌ی تومور نیز مشاهده می‌شوند که بیان در نمونه‌های توموری به ویژه موارد بدخیم، بیشتر از سایر گروه‌ها می‌باشد. در ضمن، مقایسه میان میزان بیان این دو واریانت نشان می‌دهد که درصد بیان Survivin-3α در موارد توموری بیشتر از Survivin-3b می‌باشد. بیان بالای واریانت‌های پیرایشی 3B و 3α در نمونه‌های توموری نسبت به حاشیه تومور می‌تواند بیانگر دخالت و نقش آنها در شکل‌گیری سلول‌های توموری و ایجاد مقاومت به آپوپتوز به همراه خود واریانت Survivin باشد. در ضمن به دلیل افزایش بیان این واریانت‌ها در نمونه‌های بدخیم توموری، می‌توانند در تبدیل موارد خوش‌خیم توموری به بدخیم دخیل باشند چنین به نظر می‌رسد که این عملکرد با تقویت هترودایمر Survivin/Survivin-3B و Survivin/Survivin-3α اتفاق می‌افتد.

نتیجه گیری

در مجموع نتایج به دست آمده با توجه به بیان بیشتر واریانت‌های پیرایشی Survivin-3b و Survivin-3α در تومورهای تیروئیدی نسبت به نمونه‌های حاشیه‌ی تومور و غیرتوموری، عملکرد آنها را در پیشرفت سرطان تیروئید نشان می‌دهد؛ همچنین این مطالعه شایستگی این دو واریانت را به عنوان مارکر مولکولی بالقوه در تشخیص و طبقه بندی ندول‌های توموری و غیرتوموری تیروئید مطرح می‌سازد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاونت پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشگاه تبریز وهمچنین از کارکنان اتاق عمل و بخش پاتولوژی بیمارستان امام خمینی تبریز ابراز می دارند.

References

1. Mazzaferri EL. Management of solitary thyroid nodules. N Engl J Med. 1993; 328: 553-59.
2. Franceschi S, La Vecchia C. Cancer of thyroid. Trendes in Incidence and Mortality 1999; 10: 393-424.
3. Ortel Y, Ortel J. Thyroid cytology and histology. Clinical Endocrinology and Metabolism 2000; 14: 541-557.
4. Hamburger JI. Diagnosis of thyroid nodules by fine needle biopsy. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 1994; 79: 335-339.
5. American Cancer Society, Thyroid cancer-All sections. 2006 Available from http:// documents. cancer. org/ 196.00/196.00.pdf.2006; 1-25.
6. Mazzaferri EL. Thyroid cancer–changing patterns of diagnosis and treatment, Business briefing. US endocrine 2005; review, 2:1-8.
7. Altieri DC. Survivin in apoptosis control and cell cycle regulation in cancer. Prog Cell Cycle Res. 2003; 5: 447-52.
8. Altieri DC. Validating Survivin as a cancer therapeutic target. Nat Rev Cancer 2003; 3: 46-53.
9. Altieri DC. Survivin, versatile modulation of cell division and apoptosis in cancer. Oncogene 2003; 22: 8581-89.

10. Caldas H, Honsey LE, Altura RA. Survivin 2α: a novel survivin splice variant expressed in human malignancies. Molecular cancer 2005; 4: 1-9.
11. Li F. Role of survivin and its splice variants in tumorigenesis. British Journal of Cancer. Br J Cancer 2005; 92: 212-16.
12. Sah NK, Khan Z, Khan GJ, Bisen, PS. Structural, functional and therapeutic biology of survivin. Cancer Lett. 2006; 244:164-171.
13 .Badran, A., Yoshida, A., Ishikawa, K., Goi, T., Yamaguchi, A., Ueda, T., Inuzuka, M. Identification of a novel splice variant of the human anti-apoptosis gene survivin, Biochemical and Biophysical Research Communications 2004; 314: 902-907.
14. Vietri, M.T., Cioffi,M., Sessa, M., Sica, V., Molinari, A.M. Identification of a novel survivin splicing variant 3alpha in acute myeloid leukemia 2005; Unpublished.
15. LV, Y.G., Yu, F., Yao, Q., Chen, J.H., Wang, L. The role of survivin in diagnosis, prognosis and treatment of breast cancer, J Thorac Dis 2010; 2: 100-110.
16. Sawai, K., Goi, T., Hirono, Y., Katayama, K., Yamaguchi, A. Survivin-3B gene decreases the invasion-inhibitory effect of colon cancer cells with 5-fluorouracil, Oncol Res. 2010; 18:541-7.
17. Huang, Y., Chen, X., Chen, N., Nie, L., Xu, M., Zhou, Q., Expression and prognostic significance of survivin splice variants in diffusely infiltrating astrocytoma. J Clin Pathol. 2011; 64: 953-959.
18. Quhitit A, Matrouguni K, Bengrine A, Koochekpour S, Zerfqou M, Yousief Z.,Survivin is not only a death encounter but also a survival protein for invading tumor cells. Front Biosci. 2007; 12: 1260-70.
19. 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 Usfulness in Diagnosis and Prognosis of Bone Tumors. Iran Biomed J. 2006; 10: 39-45.
20. Patel NK, Bhuvanesh S. Genetic Considerations in Thyroid Cancer. Cancer control 2006; 13: 111-118.
21. Ministry of Health and Medical Education, Registration of cancer cases incidence, Kelke Dirin pub.2005; 92: 212-16.
22. Du ZX, Zangh HY, Gao DX, Wang HQ, Li YJ, Liu GL. Anti survivin oligonucleotides inhibit growth and induce apoptosis in human medullary thyroid carcinoma cells. Exp Mol Med. 2006; 38: 230-24.
23. Tirro E, Consoli ML, Massimino M, Manzella L, Francesco F, Sciacca L, et al. Altered Expression of c-IAP, Survivin, and Smac Contributes to Chemotherapy Resistance in Thyroid Cancer Cells. Cancer Res. 2006; 66: 4263-72.
24. Ito Y, Yoshida H, Uruno T, Nakano K. Miya A, Kobayashi K, and et.al. Survivin expression is significantly linked to the dedifferentiation of thyroid carcinoma. Oncology Reports 2003; 10: 1337-1340.
25. Vegran, F., Boidot, R., Oudin, C., Defrain, C., Rebucci, M., Lizard-Nacol, S. Association of p53 gene alternation with the expression of antiapoptotic survivin splice variants in breast cancer, Oncogene, 2007; 26: 290-297.
26. Span, P.N., Tjan-Heijnen, V.C.G., Heuvel, J.J.M., DeKok, J.B., Foekenes, J.A., Sweep, F.C.G.J. Do the survivin (BRIC5) spice variants modulate or add to the prognostic value of total survivin in brast cancer? Clinical Chemistry2006; 52: 1693-1700.