

مطالعه بیان ژن EIF4E به عنوان مارکر مولکولی در سرطان تیروئید

محمد علی حسینپور فیضی^۱، مرضیه قنبریان^۲، محمد خلیج کندی^۳، ثریا شیری^۴، وحید منتظری^۵، منیره حلیمی^۵

۱- استاد، گروه رادیوبیولوژی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران. (مؤلف مسؤول) تلفن: ۰۴۱۱-۳۳۶۲۲۸۰ pourfeizi@eastp.ir

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

۳- دکتری ژنتیک مولکولی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

۴- استاد، گروه جراحی توراکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

۵- استادیار، گروه پاتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

چکیده

زمینه و هدف: تنظیم بیان ژن در سطح ترجمه به ویژه در مرحله آغازین وابسته به عملکرد فاکتور آغازگر یوکاریوتی "eIF4E" در قالب کمپلکس آغازگر EIF4F می باشد. گزارشات مبنی بر بیان متفاوت و بالای ژن EIF4E در چندین سرطان از جمله سینه، روده، ریه، سر و گردن، پروستات و سیستم هماتوپوئیتیک، مؤید نقش این فاکتور در تومورزایی و پیشرفت سرطان است. لذا در این تحقیق تلاش بر این بوده است که میزان بیان این فاکتور پروتئینی به عنوان یک مارکرمولکولی جدید در تومورهای تیروئید و بافت های حاشیه ای آن مورد ارزیابی قرار گیرد.

روش بررسی: در تحقیق حاضر ۲۱ نمونه توموری از نوع پاپیلاری و ۱۴ نمونه حاشیه ای تومور به صورت یک مطالعه ی مورد شاهده ی با استفاده از تکنیک Reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) به صورت نیمه کمی مورد بررسی قرار گرفت و ژن B2m جهت نرمال سازی نتایج به کار گرفته شد. به منظور آنالیز آماری، میزان بیان EIF4E با استفاده از نرم افزار SPSS (نگارش ۱۶) و تست های آماری پارامتریک One way-Anova و t-test در گروه های مختلف مورد مقایسه قرار گرفته شد.

یافته ها: بررسی ها نشان داده است که ۱) ژن EIF4E در تمامی نمونه های مورد مطالعه بیان شده است. ۲) میزان بیان این فاکتور در نمونه های سرطانی نسبت به نمونه های حاشیه ای توموری افزایش یافته است. ۳) سطوح بیان این ژن در بافت های بدخیم سرطانی بیشتر از بافت های خوش خیم بوده است.

نتیجه گیری: در مجموع یافته های این تحقیق نشان داد که ژن EIF4E به عنوان فاکتور آغازگر ترجمه ای دارای بیان سراسری بوده و میزان بیان آن با ماهیت سرطانی تومورها و درجه ی بدخیمی تومورهای سرطانی ارتباط مستقیمی داشته است. این نتایج ضمن تأیید نقش ژن EIF4E در پیشبرد روند سرطانی، افزایش بیان این ژن را در بروز تومورهای تیروئیدی مؤثر دانست. بنابراین ارزیابی بیان ژن EIF4E می تواند ملاک مناسبی جهت تمایز بیماری های توموری از انواع غیر توموری محسوب شود و به عنوان مارکری جهت رده بندی تومورهای تیروئیدی مورد استفاده قرار گیرد. این فاکتور پیش آگهی و تشخیصی، همچنین می تواند هدف درمانی نوید بخش برای درمان سرطان باشد.

کلید واژه ها: سرطان تیروئید، EIF4E، پیشرفت سرطان، RT-PCR نیمه کمی

وصول مقاله: ۸۹/۱۰/۱۴ اصلاحیه نهایی: ۸۹/۱۲/۲۲ پذیرش مقاله: ۹۰/۱/۲۹

مقدمه

سرطان تیروئید شایع ترین بدخیمی غدد درون ریز است که حدود یک درصد سرطان‌ها را شامل می‌شود (۲ و ۱). دلیل اصلی ابتلا به این بیماری دقیقاً مشخص نیست، اما گزارشات علمی مبنی بر این است که قرارگیری در معرض تشعشعات فرابنفش، سابقه خانوادگی، افزایش سن و مقادیر بسیار کم یا زیاد ید در رژیم غذایی می‌تواند خطر ابتلا به این بیماری را افزایش دهد (۳). طبق تحقیقات آماری، میزان بدخیمی این سرطان در بانوان بیش از سه برابر مردان است که این امر احتمالاً مربوط به ایجاد و ازدیاد گیرنده‌های هورمون استروژن در روند سرطانی شدن می‌باشد. میزان بروز این بیماری در دهه‌های سوم و چهارم زندگی به حداکثر میزان می‌رسد (۴). راه‌های تشخیصی ندول‌های سرطان تیروئید عبارتست از آزمایش خون، تست‌های تصویری مانند اسکن تیروئید، اولترا سوند و بافت برداری از طریق مکش سوزنی (Fine Needle Aspiration) (۵). تست‌های تصویری در بیشتر موارد قادر به تفکیک ندول‌های تیروئیدی نمی‌باشند و در رابطه با FNA که بهترین راه تشخیص ندول‌های تیروئیدی می‌باشد، امکان تشخیص ندول‌های توموری فولیکولار آدنومایی از نوع فولیکولار کاسینومایی وجود ندارد و نتایج حاصل از این روش تحت عنوان تشخیصات مشکوک طبقه بندی می‌شود (۶).

ناهمگونی بالای تومورهای تیروئیدی از لحاظ ویژگی آسیب شناسی - بالینی و مورفولوژی به همراه کمبود مارکرهای مولکولی اختصاصی، تشخیص ماهیت متنوع ندول‌های توموری را از انواع غیرتوموری با چالش روبرو کرده است. بنابراین در سال‌های اخیر تلاش‌های فراوانی برای معرفی یک مارکر مولکولی مناسب بکار

رفته است (۷). تومورمارکرها فاکتورهایی هستند که توسط سلول‌های سرطانی یا دیگر سلول‌ها در پاسخ به سرطان، اختلالات خوش خیم و غیر سرطانی تولید می‌شود و مسئول فرآیندهای حیاتی سلول‌ها می‌باشند که حضور، افزایش یا کاهش آنها می‌تواند در زمینه‌های مختلفی مانند غربالگری، تشخیص، پیش آگهی یا درمان بیماری بکار رود. این مارکرهای مولکولی در خون، ادرار یا بافت‌های بدن تولید شده و با استفاده از تست‌های آزمایشگاهی قابل تشخیص‌اند (۸). فرآیند ترجمه متشکل از چندین مراحل پیچیده می‌باشد که سطح آغازین ترجمه، مهمترین سطح تنظیمی فرا رونویسی در بیان بسیاری از ژن‌های دخیل در رشد، تومورزایی و متاستاز به شمار می‌رود (۹ و ۱۰). این سطح از ترجمه که سبب فراخوانی ریبوزوم به توالی mRNA بالغ می‌شود، با عملکرد هماهنگ اجزای کمپلکس آغازگر یوکاریوتی eIF4F به ویژه eIF4E همراه می‌باشد. eIF4E بعنوان یک فاکتور پروتئینی ۲۵ کیلو دالتونی با اتصال به متیل گوانوزین کلاهیك در فراخوانی رونوشت‌های سلولی به کمپلکس eIF4F، تسهیل بارگیری ریبوزوم روی mRNA و آغاز ترجمه در سیتوپلاسم سهیم می‌باشد و در سطح هسته‌ای نیز در انتقال رونوشت‌های سیتوپلاسمی از هسته به سیتوپلاسم، مشارکت می‌کند. تحقیقات نشان داده است که میزان دسترسی رونوشت‌ها به این فاکتور آغازگر (eIF4E) با توجه به پیچیدگی سطوح ساختاری در منطقه 5'UTR تعیین می‌شود. این فاکتور با تنظیم بیان بسیاری از ژن‌های ضعیف رقابتی مانند انکوژن‌ها، تومور ساپرسورها، عوامل آنتی آپوپتیک و تنظیم‌گرهای چرخه سلولی در فرآیندهای سلولی مانند رشد و تکثیر سلولی و مهار آپوپتوز نقش بسزایی را ایفا می‌کند. مسیرهای پیام دهی

وابسته به میتوژن و استرس‌های درون سلولی با القاء فسفریلاسیون سبب تغییر فعالیت این فاکتور آغازگر می‌شود. بنابر گزارشات بدست آمده، بیان بالای این ژن در طول دوران جنین زایی و در بافت‌هایی با ظرفیت بالای تکثیر مشاهده شده است. این ژن در طول فرآیند پردازش متغیر، سه واریانت رونوشتی تولید می‌کند (۱۲ و ۱۱). مشاهده بیان بالای این فاکتور در رده‌های سلولی سرطانی و تومورهای انسانی، آن را به عنوان مارکر مولکولی در سرطان مطرح می‌سازد (۱۳). با توجه به مطالعات صورت گرفته، میزان بالای بیان ژن EIF4E در انواع بدخیم سرطان تیروئید مانند سرطان مدولاری و آناپلاستیک مشاهده شده است و طبق نتایج آزمایشگاهی این افزایش بیان در ۳۹٪ تومورهای پاپیلاری نیز مشهود است (۱۴). بنابراین در این مطالعه بیان EIF4E به عنوان مارکر مولکولی بالقوه مؤثر در بروز و پیشبرد سرطان تیروئید در قالب یک مطالعه تحلیلی مورد ارزیابی قرار گرفت.

روش بررسی

در تحقیق حاضر ۲۱ نمونه توموری از نوع پاپیلاری و ۱۴ نمونه حاشیه‌ی تومور به صورت یک مطالعه‌ی مورد-شاهدی با استفاده از تکنیک Reverse transcriptase polymerase chain reaction به صورت نیمه کمی مورد بررسی قرار گرفت.

نمونه‌گیری: جمع‌آوری نمونه‌های انسانی مورد نیاز در این تحقیق تحت نظارت جراح متخصص توراکیس و با رضایت کامل کسانی که تحت عمل جراحی قرار گرفته بودند، از بیمارستان نورنجات و امام رضا (ع) تبریز صورت گرفت. این نمونه‌ها در تیوب‌های عاری از RNase قرار داده شدند و سپس به نیتروژن مایع منتقل

گشتند. قابل توجه است که این نمونه‌ها تا مرحله استخراج RNA در یخچال ۸۰- نگه داری شدند. تعداد نمونه‌های مورد نیاز جهت ارائه نتیجه قابل قبول از نظر آماری در این زمینه تعیین شده است. در مجموع ۴۲ نمونه بافت تیروئید تحت نظارت پاتولوژیست در ۲ گروه طبقه‌بندی شدند که شامل ۲۸ نمونه توموری و ۱۴ نمونه حاشیه‌ی توموری بودند. نمونه‌های توموری در بر گیرنده‌ی ۱۷ نمونه بدخیم و ۱۱ نمونه خوش‌خیم توموری بودند. لازم به ذکر است که انواع حاشیه‌ی توموری از محل‌های دور از تومور که ظاهراً فاقد درگیری توموری بودند، جمع‌آوری شدند. مشخصات و ویژگی‌های پاتولوژیکی بیماران مورد مطالعه در جدول ۱ درج شده‌است.

استخراج RNA: RNA کل (Total RNA) با استفاده از محلول RNX plus TM و طبق دستورالعمل کشور سازنده (سیناژن ایران) استخراج شده و به دلیل حساسیت کار با RNA، کلیه لوازم مورد استفاده در راستای غیرفعال سازی آنزیم RNase با محلول DEPC ۰/۱ درصد تیمار گشتند. کمیت و کیفیت RNA استخراجی با روش UV اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ژل آگارز بررسی شدند.

تیمار با DNaseI و واکنش رونویسی معکوس RT (Reverse transcription): به منظور اجتناب از آلودگی RNA با DNA، ابتدا مقادیر یکسانی از RNA اولیه (۲/۵۰۰ ug) از هر نمونه با آنزیم DNaseI تیمار شد. سپس با بکارگیری پرایمر رندوم هگزامر و راه اندازی واکنش رونویسی معکوس با استفاده از آنزیم RevertAid™ M-MuLV (شرکت فرمنتاز) مولکول‌های RNA تخلیص شده به cDNA تبدیل شدند.

جدول ۱: مشخصات بیماران که از آنها نمونه‌های توموری جمع‌آوری شده است.

نمونه	یافته‌های پاتولوژیکی	مرحله توموری	RT-PCR
۱	سلول‌های نئوپلاستیک با الگوی فولیکولار با تهاجم به کپسول و عروق، حضور کلونید، ماکروفاژ و سلول‌های هارتل.	تومور بدخیم در مراحل اولیه توموری	+
۲	سلول‌های نئوپلاستیک با الگوی فولیکولی، نبود سلول‌های ماکروفاژی و حضور کم کلونید در محل به همراه تهاجم به کپسول و عروق.	تومور بدخیم در مراحل اولیه توموری	+
۳	سلول‌های نئوپلاستیک با الگوی فولیکولار در قالب پایلار همراه تهاجم عروقی و کپسولی.	تومور بدخیم در مراحل اولیه توموری	+
۴	سلول‌های منفرد فولیکولی با تعداد کم همراه با تهاجم کپسولی-عروقی با درگیری غدد لنفاوی.	تومور بدخیم در مراحل پیشرفته توموری	+
۵	-	تومور بدخیم در مراحل اولیه توموری	+
۶	سلول‌های نئوپلاستیک به همراه تهاجم عروقی-کپسولی و نکروز توموری.	تومور بدخیم در مراحل پیشرفته توموری	+
۷	سلول‌های نئوپلاستیک در فرم پایلار همراه با تهاجم کپسولی و درگیری یک گره لنفاوی در تومور.	تومور بدخیم در مراحل اولیه توموری	-
۸	سلول‌های نئوپلاستیک مشتق شده از سلول‌های فولیکولی به دو صورت منفرد یا خوشه‌ای با تهاجم کپسولی-عروقی.	تومور بدخیم در مراحل اولیه توموری	-
۹	سلول‌های نئوپلاستیک در فرم پایلار، واجد شیارهای هسته‌ای با تهاجم کپسولی و عروقی.	تومور بدخیم در مراحل پیشرفته توموری	+
۱۰	سلول‌های نئوپلاستیک در فرم پایلار با تهاجم کپسولی-عروقی و درگیری غدد لنفاوی.	تومور بدخیم در مراحل پیشرفته توموری	+
۱۱	توده‌های سلولی اپی تلیالی با مگاکاریوسیس ملایم و تعدادی هسته‌های همپوشان.	تومور بدخیم در مراحل اولیه توموری	+
۱۲	سلول‌های نئوپلاستیک با تهاجم کپسولی و بدون درگیری غدد لنفاوی.	تومور بدخیم در مراحل اولیه توموری	+
۱۳	سلول‌های نئوپلاستیک در فرم پایلار همراه با تهاجم کپسولی.	تومور بدخیم در مراحل اولیه توموری	+
۱۴	سلول‌های نئوپلاستیک در فرم پایلار به همراه تهاجم کپسولی و درگیری غدد لنفاوی.	تومور بدخیم در مراحل پیشرفته توموری	+
۱۵	سلول‌های نئوپلاستیک با محتوای اپی تلیالی در قالب فولیکول‌های پایلاری و فاقد تهاجم عروقی و کپسولی.	تومور بدخیم در مراحل اولیه توموری	+
۱۶	سلول‌های نئوپلاستیک با ساختار پایلاری، بدون تهاجم کپسولی-عروقی و نکروز توموری.	تومور بدخیم در مراحل اولیه توموری	+
۱۷	سلول‌های نئوپلاستیک در فرم پایلار و مالتی ستریک.	تومور بدخیم در مراحل پیشرفته توموری	+
۱۸	-	تومور خوش خیم، آدنومای فولیکولی با سه گره لنفاوی فعال.	+
۱۹	-	تومور خوش خیم، آدنومای فولیکولی.	-
۲۰	-	-	+
۲۱	سلول‌های نئوپلاستیک متشکل از سلول‌های فولیکولی حضور کم کلونید و نبود ماکروفاژ در محل.	تومور خوش خیم، آدنومای فولیکولی همراه با شش گره لنفاوی فعال.	+
۲۲	-	تومور خوش خیم، آدنومای فولیکولی	+
۲۳	سلول‌های نئوپلاستیک متشکل از سلول‌های فولیکولی در الگوی فولیکولار همراه با ماکروفاژهای غنی از هموسیدرین و با حضور کم کلونید.	تومور خوش خیم، آدنومای هارتل سل	+
۲۴	-	تومور خوش خیم، آدنومای فولیکولی	+
۲۵	سلول‌های نئوپلاستیک متشکل از سلول‌های اپی تلیال در قالب فولیکولار.	تومور خوش خیم، آدنومای فولیکولی	+
۲۶	-	تومور خوش خیم، آدنومای فولیکولی	-
۲۷	-	تومور خوش خیم، آدنومای فولیکولی بدون تهاجم عروقی و کپسولی	-
۲۸	-	تومور خوش خیم، آدنومای فولیکولی	-

گشت. قابل ذکر است که این ژن حاوی ۳ واریانت پیرایشی می‌باشد، که پرایمرهای طراحی شده دارای

واکنش PCR: در این واکنش باند ۲۳۶ جفت بازی با استفاده از پرایمرهای اختصاصی (جدول ۲) تکثیر

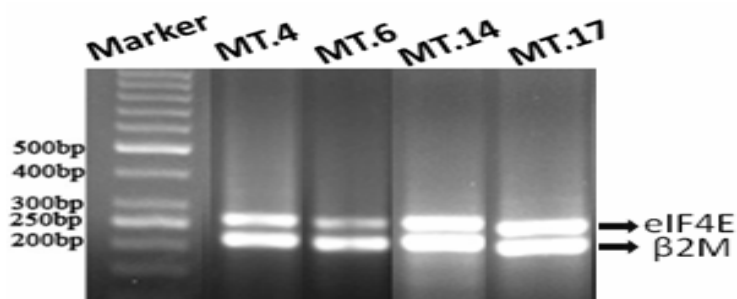
قابلیت تکثیر واریانت‌های I و III می‌باشند. در تمام نمونه‌ها از ژن $\beta 2m$ به عنوان کنترل داخلی استفاده شد و واکنش PCR برای هر دو ژن در دو تیوب جداگانه و در شرایط کاملاً یکسان صورت گرفت. جهت اطمینان از عدم آلودگی، یک تیوب نیز به عنوان کنترل منفی به کار رفت که در آن به جای cDNA از آب دوبار تقطیر استفاده شد.

جدول ۲: توالی پرایمرهای طراحی شده برای دو ژن $\beta 2m$ و EIF4E

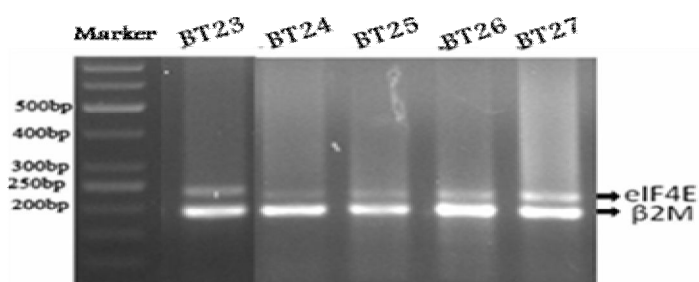
Eukaryotic initiation factor 4E (NM_001130678.1, NM_001130679.1, NM_001968.3)	Forward primer 5'-GGCTCTGTACAACCATATCCAG-3'
	Reverse primer 5'-CGCCACATACATCATCACTG-3'
Human Beta- 2-microglobulin gene (NM-00114048)	Forward primer 5'-CTACTCTCTCTTTCTGGCCTG-3'
	Reverse primer 5'-GACAAGTCTGAATGCTCCAC-3'

تعیین توالی: به منظور تأیید هویت قطعه‌ی حاصل از PCR، باند ۲۳۶ نوکلئوتیدی پس از استخراج از ژل (سیناژن-ایران) توسط شرکت فضا بیوتک تعیین توالی و با توالی موجود در بانک ژنی مقایسه گردید.

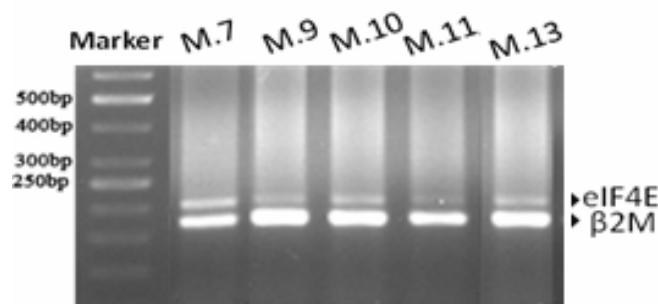
پس از انجام واکنش PCR جهت حصول اطمینان از تکثیر بهینه قطعه مورد نظر، محصول PCR توسط الکتروفورز ژل آگارز ۲ درصد بررسی شد (شکل‌های ۱ و ۲ و ۳).



شکل ۱: طرح الکتروفورز محصولات PCR ژن EIF4E در گروه بدخیم توموری



شکل ۲: طرح الکتروفورز محصولات PCR ژن EIF4E در گروه خوش خیم توموری



شکل ۳: طرح الکتروفورز محصولات PCR ژن EIF4E در گروه حاشیه‌ی توموری

در دو گروه بدخیم و خوش خیم توموری نسبت به گروه حاشیه‌ای وجود نداشت (نمودار ۲). علاوه بر این، میزان بیان این فاکتور در گروه بدخیم توموری نسبت به گروه خوش خیم افزایش معنی‌داری داشته است ($P < 0.05$) (نمودار ۳). با تقسیم‌بندی بیشتر نمونه‌های بدخیم بر اساس سیستم طبقه‌بندی TNM، به دو گروه توموری بدخیم در مراحل پیشرفته و مراحل اولیه، نتایج بدست آمده بدین شرح بود؛ الف) بیشترین بیان EIF4E در تومورهای بدخیم مراحل ملاحظه شد. ب) اختلاف بیان معنی‌داری میان دو گروه بدخیم پیشرفته و اولیه دیده نشد ($P > 0.05$). ج) افزایش بیان این ژن در گروه بدخیم پیشرفته در مقایسه با گروه خوش خیم معنی‌دار بود ($P < 0.05$) (نمودار ۴).

بحث

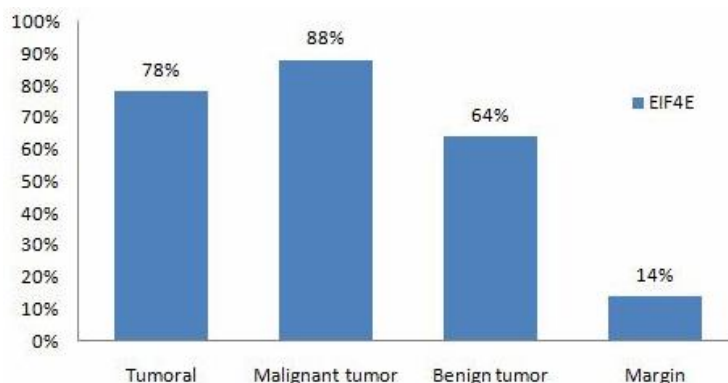
تنظیم در سطح ترجمه بویژه در مرحله آغازین، نقش بسیار مهمی در تنظیم پروسه‌های سلولی از قبیل تکثیر، رشد سلولی، تمایز و آپوپتوز دارد. شروع ترجمه بواسطه عملکرد مجموعه‌ای از پروتئین‌های آغازگر ترجمه در ساختمان کمپکس EIF4F راه‌اندازی می‌شود (۱۶ و ۱۵)، که در تحقیق حاضر فاکتور آغازگر پروتئینی مورد توجه واقع شده است. "EIF4E" پروتئین متصل شونده به کلاهک به وزن ۲۵ کیلودالتون می‌باشد که به دو

نیمه کمی کردن بیان ژن: برای کمی سازی بیان ژن، تصاویر مربوط به الکتروفورز ژل آگارز توسط نرم افزار UVidoc مورد بررسی قرار گرفت و پس از تعیین حجم باندها، شاخص بیان ژن در هر نمونه (نسبت حجم باند مذکور به حجم باند β2m) محاسبه گشت.

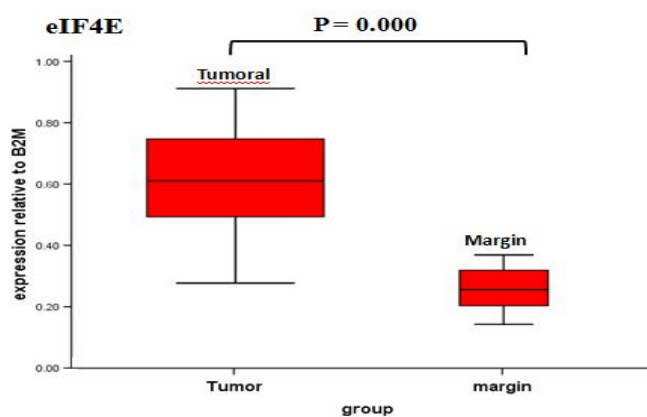
آنالیز آماری: برای بررسی ارتباط بیان ژن EIF4E و ماهیت تومورها، داده‌های بدست آمده توسط آزمون آماری T-Test و one way ANOVA با بهره‌گیری از نرم افزار SPSS (نگارش ۱۶) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

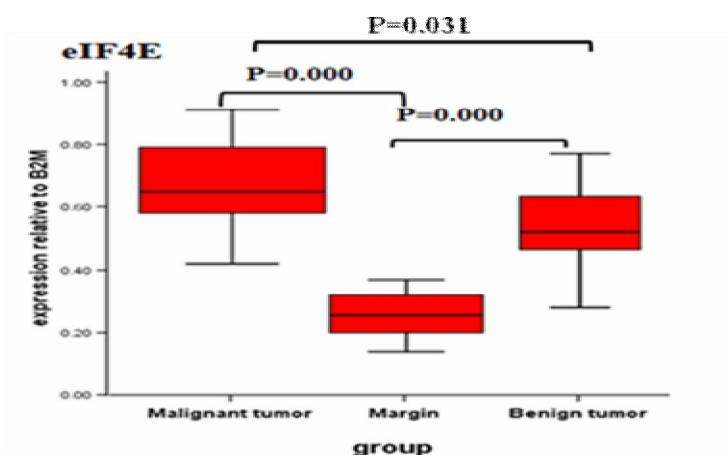
از میان ۲۸ بیمار، ۲۲ نفر زن و ۶ نفر مرد با میانگین سنی ۴۱ سال بودند. از آنجایی که این ژن دارای بیان سراسری می‌باشد، جهت دستیابی به درصد نمونه‌هایی با بیان مثبت در گروه‌های مختلف به محاسبه آستانه بیان در گروه‌ها پرداختیم، که نتایج بدین شرح بود؛ ۷۸ درصد گروه توموری، ۱۴ درصد گروه حاشیه توموری، ۸۸ درصد گروه بدخیم و ۶۴ درصد گروه خوش خیم دارای بیان مثبت بودند (نمودار ۱). نتایج حاصل از آنالیز آماری، نشان داد که بیان EIF4E در گروه توموری نسبت به گروه حاشیه توموری به صورت معنی‌داری افزایش یافته است و اختلاف معنی‌داری میان بیان این ژن



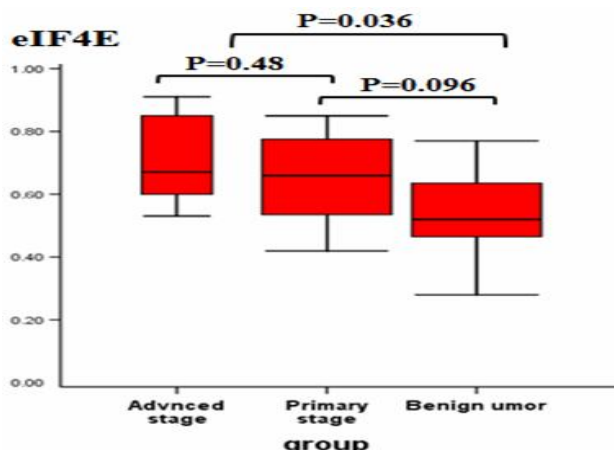
نمودار ۱: مقایسه درصد نمونه‌هایی با بیان مثبت eIF4E در گروه‌های توموری، بدخیم، خوش خیم، و حاشیه توموری.



نمودار ۲: مقایسه شدت بیان eIF4E در دو گروه توموری و حاشیه‌ی تومور در نمودار Box plot. اختلاف بیان معنی‌داری میان دو گروه توموری و حاشیه تومور مشاهده شد ($P < 0.05$)



نمودار ۳: مقایسه شدت بیان eIF4E در سه گروه توموری بدخیم، خوش خیم و حاشیه‌ی تومور در نمودار . Box plot بیان ژن در دو گروه توموری خوش خیم و بدخیم به طور معنی‌داری بالاتر از گروه حاشیه توموری می‌باشد ($P < 0.05$).



نمودار ۴: مقایسه شدت بیان eIF4E میان سه گروه توموری بدخیم در مراحل پیشرفته، اولیه و خوش خیم در نمودار Box plot. اختلاف بیان معنی داری میان دو گروه توموری بدخیم پیشرفته و اولیه مشاهده نمی شود ($P>0.05$)، دو گروه توموری خوش خیم و بدخیم در مراحل اولیه فاقد اختلاف بیان معنی دار می باشند ($P>0.05$) و بیان eIF4E در گروه توموری بدخیم پیشرفته به طور معنی داری بالاتر از تومورهای خوش خیم می باشد ($P<0.05$).

تومورهای پیشرفته مشاهده شده است (۱۸ و ۱۹). با توجه به نتایج این مطالعات، هدف اصلی در این تحقیق، ارزیابی شایستگی ژن eIF4E به عنوان مارکر مولکولی در تشخیص، پیش آگهی و درمان سرطان تیروئید می باشد. سرطان تیروئید شایع ترین بدخیمی غدد درون ریز است (۱). میزان شیوع این بیماری در زنان تقریباً سه برابر مردان است و بیشتر در دهه های میانی زندگی آنها بروز می یابد (۴). بررسی های آماری نشان می دهند که در سال ۱۳۸۴ سرطان تیروئید جزء ده سرطان شایع در میان زنان آذربایجان شرقی بوده است (۲۲). لذا در سال های اخیر تلاش های فراوانی به منظور معرفی یک تومور مارکر که بتواند ماهیت متنوع ندول های تیروئیدی را پیش بینی نموده و به عنوان یک فاکتور کمکی تشخیصی و پیش آگهی در کنار سایر روش های آسیب شناسی - بالینی به کار برده شود، در حال انجام است. طبق تحقیقات انجام شده، بیش بیان این فاکتور تا حدود ۳۰-۳ برابر در سرطان سینه مشاهده شده

صورت آزاد و متصل به کمپلکس پروتئینی eIF4F ظاهر می گردد. این فاکتور مهمترین عامل تنظیم گر و تعیین کننده میزان ترجمه در طول پروسه ترجمه وابسته به کلاهک در سلول های یوکاریوتی می باشد (۱۷ و ۱۰). افزایش بیان این فاکتور، عمده تغییر نابجایی است که در طول پروسه ترجمه اعمال می شود و منجر به افزایش انتقالات هسته - سیتوپلاسم رونوشت های گزینشی، افزایش سطح ترجمه وابسته به کلاهک، مهار آپوپتوز و القاء ترانسفر ماسیون بدخیمی می شود (۱۸). تحقیقات نشان داده است که این ژن درون سلول در قالب یک انکوژن عمل می کند و افزایش بیان آن محرک رشد و تکثیر سلولی، تهاجم توموری و متاستاز می باشد (۲۰). میزان بالای بیان این فاکتور نقش مهمی را در تومورزایی و بروز سرطان هایی مانند سرطان سینه، ریه، روده، سر و گردن، پروستات و مثانه ایفا می کند (۲۱). علاوه بر این، ارتباط معنی دار مثبتی میان بیان افزایشی eIF4E و بروز خصوصیات بدخیمی از قبیل متاستاز و تمایززدایی در

است (۲۴) و بیان ۷ برابری eIF4E، در این مبتلایان با پیش آگهی ضعیف و ریسک بالای عود بیماری و مرگ و میر گزارش شده است (۲۵ و ۲۷). در سرطان پروستات نیز سطوح بالای بیان eIF4E با پیش آگهی ضعیف همراه است (۲۶) و در سرطان AML نیز افزایش میزان eIF4E، از خصوصیات زیرگروه‌های پیشرفته این سرطان M4 و M5 است (۲۸).

لازم به ذکر است که مطالعات صورت گرفته تا به حال در رابطه با ارتباط بیان این ژن و تومورزایی و پیشرفت روند توموری در سرطان تیروئید بسیار محدود بوده است و تاکنون اطلاعات جامعی به دست نیامده است. تحقیقات انجام شده با استفاده از تکنیک ایمنوهیستوشیمیایی توسط وانگ و همکاران در سال ۲۰۰۰ و ۲۰۰۱ نشان داد که eIF4E با تأثیر افزایشی در بیان ژن پیشبرنده چرخه سلولی "سایکلین D1" در تومورهای آناپلاستیک تیروئیدی نقش مهمی را در پیشبرد روند سرطانی ایفا می‌کند (۳۰ و ۲۹). وان جی و همکاران در سال ۲۰۰۷ نیز با مشاهده افزایش همزمان بیان eIF4E و c-Myc در تومورهای پاپیلار تیروئیدی چنین دریافتند که eIF4E در پیشرفت سرطان پاپیلار تیروئید نیز نقش دارد (۳۱). در مطالعه حاضر نیز هم راستا با مطالعات قبلی، ارتباط مستقیمی میان بیش بیان ژن eIF4E با پیشبرد روند سرطانی در تومورهای تیروئیدی بدست آمده است و چنین بنظر می‌رسد که این ژن در تبدیل انواع توموری خوش خیم به بدخیم و پیشرفت روند بدخیمی نیز نقش ویژه‌ای ایفا می‌کند.

علاوه بر این، در این تحقیق برای اولین بار ارتباط میان بیان این ژن با بروز تومورهای تیروئیدی مشاهده گردید. نتایج به دست آمده همچنین حاکی از بیان بالای eIF4E در تومورهایی با درگیری غدد لنفاوی است. گرچه این ارتباط معنی‌دار نمی‌باشد، اما چنین به نظر می‌رسد که چنانچه تعداد نمونه‌ها افزایش یابد، می‌توان ارتباط معناداری بدست آورد.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر ضمن همخوانی با مطالعات قبلی از لحاظ بیان افزایشی eIF4E در تومورهای بدخیم نسبت به تومورهای خوش خیم، نقش کلیدی این ژن را در بروز تومورهای تیروئیدی نیز اثبات کرده است. از سویی دیگر بیان کمتر این ژن در نمونه‌های مربوط به حاشیه تومور بیانگر میزان کم سلول‌های توموری در این نواحی بوده و تفکیک ناحیه‌ی توموری را از ناحیه غیر توموری امکان پذیر ساخته است. این فاکتور به دلیل مشارکت در تومورزایی و پیشبرد روند سرطانی تیروئید، دارای قابلیت کاربری بعنوان مارکرمولکولی در تشخیص و درمان تومورهای تیروئیدی بوده است.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاونت پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشگاه تبریز و همچنین از کارکنان اتاق عمل و بخش پاتولوژی بیمارستان امام رضا و نورنجات تبریز ابراز می‌دارند.

References

- Scopa CD. Histopathology of thyroid tumors. An overview. *Hormones* 2004; 3: 100-10.
- Larijani B, Mohagheghi MA, Bastanagh MH, Mosavi-Jarrahi AR, Haghpanah V. Primary thyroid malignancies in Tehran, Iran. *Medical Principles and Practice* 2005; 14: 396-400.

3. Unknown author Causes, effects, symptoms and treatments of thyroid cancer, available from <http://gfang.com/cancer/causes-effects-symptoms-and-treatments-of-thyroid-cancer.htm>. Viewed in Dec, 2010.
4. Franceschi S, La Vecchia C, Cancer of thyroid, trends in incidence and mortality. Cold Spring Harbor Press 1994; 19: 393-424.
5. Cobin RH, Gharib H, Bergman DA, Clark OH, Cooper DS, Daniels GH, and et al. AACE/AAES medical/surgical guidelines for clinical practice: management of thyroid carcinoma. American Association of Clinical Endocrinologists. American College of Endocrinology Endocr Pract 2001; 7: 202-220.
6. Hamburger JI. Diagnosis of thyroid nodules by fine needle biopsy. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 1994; 79: 335-339.
7. American Cancer Society, Thyroid cancer-All sections. 2006. Available from: <http://documents.cancer.org/196.00/196.00.pdf>. Viewed in Dec 2010.
8. Mazzaferri EL. Thyroid cancer-changing patterns of diagnosis and treatment, US Endocrine Review 2005; 2: 1-8.
9. Calkhoven CF, Müller C, Leutz A. Translational control of gene expression and disease. Trends in Molecular Medicine 2002; 8:577-83.
10. Silvera D, Formenti SC, Schneider RJ. Translational control in cancer. Nat Rev Cancer 2010; 10: 254-66.
11. Mamane Y, Petroulakis E, Rong L, Yoshida K, Ler LW, Sonenberg N. eIF4E-from translation to transformation. Oncogene 23: 3172-9.
12. Atlas of genetics and cytogenetics in oncology and haematology, available from: <http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/EIF4EID40431ch4q23.html>. Reviewed in Dec 2010.
13. Joseph P, O'Kernick CM, Othumpangat S, Lei YX, Yuan BZ, Ong TM. Expression profile of eukaryotic translation factors in human cancer tissues and cell lines. Mol Carcinog 2004; 40: 171-9.
14. Kouvaraki M, Rassidakis GZ, Staikou E, Moraitis D, Patsouris E, Tseleni-Balafouta S. The mTOR effector eukaryotic initiating factor 4E is overexpressed in thyroid carcinoma and correlates with tumor aggressiveness. HORMONES 2010.
15. Konicek BW, Dumstorf CA, Graff JR. Targeting the eIF4F translation initiation complex for cancer therapy. Cell Cycle 2008; 7: 2466-71.
16. Pestova TV, Kolupaeva VG, Lomakin IB, Pilipenko EV, Shatsky IN, Agol VI, and et al. Molecular mechanisms of translation initiation in eukaryotes. Proc Natl Acad Sci USA. 2001; 98: 7029-703.
17. De Benedetti A, Graff JR. eIF-4E expression and its role in malignancies and metastases. Oncogene 2004; 23: 3189-99.
18. Wang R, Geng J, Wang JH, Chu XY, Geng HC, Chen LB. Overexpression of eukaryotic initiation factor 4E (eIF4E) and its clinical significance in lung adenocarcinoma. Lung Cancer 2009; 66: 237-44.
19. Zhou FF, Yan M, Guo GF, Wang F, Qiu HJ, Zheng FM and et al. Knockdown of eIF4E suppresses cell growth and migration, enhances chemosensitivity and correlates with increase in Bax/Bcl-2 ratio in triple-negative breast cancer cells. Med Oncol 2010 Jul 22. [Epub ahead of print]
20. Wendel HG, Silva RL, Malina A, Mills JR, Zhu H, Ueda T, and et al. Dissecting eIF4E action in tumorigenesis. Genes Dev 2007; 21: 3232-7.
21. Hsieh AC, Ruggero D. Targeting eukaryotic translation initiation factor 4E (eIF4E) in cancer. Clinical cancer research 2010; 16: 4914-20.
22. Disease Management Center, Ministry of Health and Medical Education. Registration of cancer cases incidence, Tehran: Kelke Dirin pub, 2005. P. 25-26.
23. B D L Li, L. Liu, M Dawson, and A de Benedetti. Overexpression of eukaryotic initiation factor 4E (eIF4E) in breast carcinoma. Cancer 1997; 79: 2385-2390.
24. B D Li J C McDonald, R Nassar, and A de Benedetti. Clinical outcome in stage I to III breast carcinoma and eIF4E overexpression. Annals of Surgery 1998; 227: 756-763.

25. Jeremy R Graffl and Stephen G Zimmer. Translational control and metastatic progression: Enhanced activity of the mRNA cap-binding protein eIF-4E selectively enhances translation of metastasis-related mRNAs. *Clinical & Experimental Metastasis* 2003; 20: 265-273.
26. Graff JR, Konicek BW, Lynch RL, Dumstorf CA, Dowless MS, McNulty AM and et al. eIF4E activation is commonly elevated in advanced human prostate cancers and significantly related to reduced patient survival. *Cancer Res* 2009; 69: 3866-73.
27. Coleman LJ, Peter MB, Teall TJ, et al. Combined analysis of eIF4E and 4E-binding protein expression predicts breast cancer survival and estimates eIF4E activity. *Br J Cancer* 2009; 100: 1393-9.
28. Assouline S, Culjkovic B, Cocolakis E, Rousseau C, Beslu N, Amri A and et al. Molecular targeting of the oncogene eIF4E in acute myeloid leukemia (AML): a proof-of-principle clinical trial with ribavirin. *Blood* 2009; 114: 257-60.
29. Wang S, Lloyd RV, Hutzler MJ, Safran MS, Patwardhan NA, Khan A. The role of cell cycle regulatory protein, cyclin D1, in the progression of thyroid cancer. *Modern Pathology* 2000; 13: 882-7.
30. Wang S, Lloyd RV, Hutzler MJ, Rosenwald IB, Safran MS, Patwardhan NA and et al. Expression of eukaryotic translation initiation factors 4E and 2alpha correlates with the progression of thyroid carcinoma. *Thyroid* 2001; 11: 1101-7.
31. Wan Jie, Zhou Sheng, Ke Changshu, Xu Sanpeng, Wu Shimin, Wu Renliang. Expression of eukaryotic initiation factor 4E and c-Myc in papillary thyroid carcinoma. *Chinese Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 2007; 16: 461-465.