DOI: 10.48305/jims.v43.i812.0411

مجله دانشکده پزشکی اصفهان — سال چهل و سوم/شماره‌ی ۸۱۲/هفته‌ی چهارم خرداد ۱۴۰۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۸/۱۷ — تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۴/۱۰ — تاریخ چاپ: ۱۴۰۴/۰۳/۲۹

بررسی بیان RNA حلقوی hsa_circ_0065972 در مبتلایان به سرطان پستان

علی حیدرپور[۱]، محمد رضا صابریان[۲،۳]، مریم طباطبائیان[۴]، الهام امجدی[۵]، رضا میرفخرائی[۶]، محمد مؤذنی[۷]، هادی رئیسی شهرکی[۸]، حسین تیموری[۹]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: کارسینوم پستان، یکی از شایع‌ترین انواع سرطان‌ها در جهان است و در ایران نیز به عنوان شایع‌ترین سرطان شناخته می‌شود RNA های حلقوی نقش مهمی در تنظیم بیان ژن‌ها دارند. این RNA ها در فرایندهای زیستی مانند تکثیر سلولی، متاستاز و تومورزایی مؤثر هستند. RNA حلقوی hsa_circ_0065972 به عنوان یکی ازRNA های حلقوی مرتبط با ژن RPL29 در کارسینوم پستان شناخته شده است. مطالعات اخیر نشان داده‌اند کهRNA های حلقوی می‌توانند به عنوان نشانگرهای زیستی در پیش‌آگهی و درمان کارسینوم پستان کاربرد داشته باشند.

روش‌ها: در این مطالعه، ۳۵ جفت نمونه از بافت سرطانی و بافت سالم مجاور تومور بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان کاشانی شهرکرد و کلینیک آناهید و آزمایشگاه پورسینا حکیم اصفهان جمع‌آوری شد. بعد از استخراج RNA، سنتز cDNA و واکنش Real-Time PCR انجام شد. نتایج به‌دست‌آمده با نرم‌افزارهای Prism تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: تغییر بیان hsa_circ_0065972 در بافت توموری نسبت به بافت سالم مجاور تومور ۱/۴ برابر افزایش نشان داد. این تغییرات برای RNAهای حلقوی hsa_circ_0065972 از لحاظ آماری معنی‌دار (P = ۰/۰۰۰۹) بود.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان می‌دهد که میزان بیان RNA حلقوی hsa_circ_0065972 در بافت سرطانی پستان افزایش بیان پیدا می‌کند. از این‌رو این RNA حلقوی پتانسیل بالایی برای مطالعه به عنوان یک بیومارکر دارد که نیاز به تحقیقات بیشتر روی آن را اشکار می‌سازد.

واژگان کلیدی: نئوپلاسم‌های پستان؛ RNAهای حلقوی؛ پروتئین‌های ریبوزومی؛ واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در زمان واقعی

ارجاع: حیدرپور علی، صابریان محمد رضا، طباطبائیان مریم مریم، امجدی الهام، میرفخرائی رضا، مؤذنی محمد، رئیسی شهرکی هادی، تیموری حسین. **بررسی بیان RNA حلقوی hsa_circ_0065972 در مبتلایان به سرطان پستان.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۴؛ ۴۳ (۸۱۲): ۴۱۱- ۴۱۷.

مقدمه

کارسینوم پستان، یکی از شایع‌ترین نگرانی‌های مربوط به حوزه‌ی سلامت در سراسر جهان است (۱) که به عنوان دومین علت مرگ در کشورهای توسعه یافته و سومین علت مرگ در کشورهای کمتر توسعه یافته شناخته می‌شود (۲). کارسینوم پستان، شایع‌ترین سرطان تشخیص داده شده در بین زنان و عامل اصلی مرگ و میر ناشی از سرطان است (۳). در ایران، کارسینوم پستان به عنوان شایع‌ترین سرطان و همچنین پنجمین عامل مرگ و میر زنان ایرانی شناخته شده است (٤).

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، پژوهشکده‌ی پایه‌ی سلامت، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
۲ – دانشجوی دکتری تخصصی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، پژوهشکده‌ی پایه‌ی سلامت، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
۳- دانشجوی دکتری تخصصی ،گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس، ایران
۴ -دکتری تخصصی، شهرک سلامت اصفهان - کلینیک ارتقاء سلامت آناهید، اصفهان، ایران
۵- دکتری تخصصی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارشی پورسینا حکیم، اصفهان، ایران
۶-استاد، گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۷- دکتری تخصصی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، پژوهشکده‌ی پایه‌ی سلامت، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
۸- استادیار، گروه اپیدمیولوژی و آمار، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
۹- استاد، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، پژوهشکده‌ی پایه‌ی سلامت، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: حسین تیموری: استاد، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، پژوهشکده‌ی پایه‌ی سلامت، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
Email: hosseintimm@yahoo.com

RNAهای غیر کدکننده (ncRNAs) دسته‌ای از مولکول‌های RNA هستند که با تأثیر بر رشد سلولی، متابولیسم، انتقال اپیتلیال به مزانشیمی (EMT)، متاستاز یا مقاومت دارویی، نقش کلیدی در پیشرفت کارسینوم پستان دارند (۵).

RNAهای حلقوی دسته ای از RNA های غیر کد کننده هستند. حدود ۱۰ درصد از تمام ژن‌های بیان شده قادر به تولید RNAهای حلقوی هستند. آنها فاقد کلاهک‌های انتهایی ۵ و دم‌های پلی A هستند و یک کلاس پایدار و حفظ شده از مولکول‌های RNA هستند. RNAهای حلقوی قادر به تنظیم بیان ژن در سطوح رونویسی یا پس از رونویسی هستند. همچنین با ساختارهای منحصر به فرد حلقوی، در برابر اگزونوکلئازها مقاوم هستند و پایداری را راحت‌تر از RNAهای خطی حفظ می‌کنند. اخیراً تعداد فزاینده‌ای از RNAهای حلقوی کشف و گزارش شده‌اند که بیان متفاوتی در کارسینوم پستان نشان می‌دهند. RNAهای حلقوی در فرایندهای زیستی سرطان‌زایی کارسینوم پستان از جمله تکثیر سلولی، آپوپتوز، چرخه سلولی، تومورزایی، رگ‌زایی، تهاجم سلولی، مهاجرت و همچنین متاستاز شرکت می‌کنند (٦).

ژن RPL29 کدکننده یکی از پروتئین‌های زیرواحد بزرگ ریبوزومی است (۷). یکی از RNA های حلقوی که با این ژن مرتبط است ، RNA حلقوی hsa_circ_0065972 میباشد.(۸)

در مطالعه ای که توسط Zehuan Li و همکاران در سال ۲۰۱۹ صورت گرفته است، نقش انکوژنیک یا ضد سرطان‌زایی RNA حلقوی‌ها مورد بررسی قرار گرفته است که می‌توانند در درمان و پیش‌آگهی کارسینوم پستان استفاده شوند. تعداد زیادی از RNA حلقوی‌ها پتانسیل زیادی برای عملکرد در سرطان‌زایی، متاستاز یا مقاومت شیمیایی کارسینوم پستان از طریق تنظیم رونویسی RNAها از جمله miRNA و mRNA نشان داده‌اند، همچنین می‌توانند به عنوان نشانگرهای زیستی پایداری برای نظارت بر پیشرفت کارسینوم پستان استفاده شوند (٦).

روش‌ها

مطالعه‌ی حاضر از نوع مورد- شاهدی است، گروه مورد مطالعه، شامل ۳۵ زن مبتلا به کارسینوم پستان هستند که در بازه‌ی زمانی شهریورماه تا اسفندماه ۱٤۰۱ به بیمارستان کاشانی شهرکرد و کلینیک آناهید و آزمایشگاه پورسینا حکیم اصفهان مراجعه کرده‌اند و ابتلای آن‌ها به کارسینوم پستان با بررسی‌های پاتولوژیک تأیید شده است.

طبق تأیید پزشک جراح و همچنین آزمایش‌های پاتولوژی، افرادی که مبتلا به کارسینوم پستان در مرحله‌ی ۱،۲،۳،٤ هستند و درمانی دریافت نکرده‌اند و به علاوه بافت نرمال از اطراف بافت سرطانی برداشته می‌شود معیار ورود را تشکیل خواهند داد.

بیمارانی که تحت هرگونه درمانی ازجمله رادیوتراپی یا شیمی‌درمانی قرار گرفته‌اند یا عمل جراحی زیبایی یا برداشت فیبروما انجام داده‌اند از مطالعه خارج می‌شوند.

بر اساس مطالعه‌ی Erbes و همکاران که در سال ۲۰۱۵ انجام گرفت، با فرض اینکه میانگین بیان بیومارکرها در گروه‌های تحت بررسی برابر ۱/۷۵ ± ۱٦/۲ و ۱ ± ۱٤/۷ باشد، بر اساس فرمول زیر با در نظر گرفتن ضریب اطمینان ۹۹ درصد و توان ۹۵ درصد، حجم نمونه در هر گروه برابر با ۳۵ و در کل مطالعه برابر با ۷۰ نفر تعیین شد (۹).

$$N = \frac{(S_1^2 + S_2^2)\left(Z_{1-\frac{\alpha}{2}} + Z_{1-\beta}\right)^2}{(\mu_1 - \mu_2)^2}$$

بافت سالم مجاور تومور به عنوان نمونه‌ی کنترل در نظر گرفته شد. در این مطالعه، تمام شرایط اخلاقی پزشکی رعایت گردید و از بیماران رضایت‌نامه‌ی کتبی دریافت شد.

بررسی‌های بیوانفورماتیک:

انتخاب RNA حلقوی hsa_circ_0065972 از طریق پایگاه داده circinteractome صورت گرفت. به این صورت که با وارد کردن ژن مورد نظر، تمامی RNAهای حلقوی مرتبط با آن ژن مشخص می‌شود. در نهایت با بررسی مطالعات قبلی، RNA حلقوی hsa_circ_0065972 برای بررسی بیان انتخاب شد.

طراحی پرایمر این RNA حلقوی با استفاده از نرم‌افزار تحت وب Primer BLAST انجام گرفت و اختصاصیت آن نیز با استفاده از BLAST مورد تأیید قرار گرفت.

مشخصات پرایمر hsa_circ_0065972 در جدول ۱ قابل ملاحظه است.

همچنین مشخصات ترمودینامیکی پرایمر با استفاده از نرم‌افزار Oligo Analizer بررسی شد.

تعداد ۳۵ نمونه توموری پستان به همراه بافت سالم بافاصله تقریبی ۷ سانتی‌متر از تومور از جراحی‌های ماستکتومی بیمارستان

جدول ۱. مشخصات پرایمر

نام پرایمر	توالی پرایمر	جهت	طول پرایمر	طول محصول
hsa_circ_0065972	TAAACCTGAGGCAGGACCCG	F	۲۰	۱۵۵
	GCCTGCATCTTCTTTAGGCCC	R	۲۱	

آیت‌الله کاشانی شهرکرد و کلینیک آناهید شهرک سلامت اصفهان جمع‌آوری و به فریزر منفی ۷۰ منتقل شد.

برای بافت سالم ۰.۵ گرم و برای بافت توموری ۰.۳ گرم از آن ها توزین و با استفاده از محلول RNX-PLUS شرکت سینا کلون ، RNA تام سلولی استخراج شد.

بعد از کمیت سنجی RNA استخراج شده که با استفاده از دستگاه نانودراپ صورت گرفت و غلظت آن ها تعیین شد ، ۱۰۰۰ نانوگرم از RNA برای سنتز cDNA مورد استفاده قرار گرفت که این واکنش با استفاده از کیت سنتز cDNA شرکت آناسل صورت گرفت.

در نهایت جهت بررسی میزان بیان RNA حلقوی hsa_circ_0065972 از روش Real-Time PCR و مستر میکس شرکت آناسل استفاده شد.

تمام واکنش ها با دو بار تکرار و با دستگاه Rotor Gene 3000 انجام گرفت.

برنامه زمانی و دمایی دستگاه در سه مرحله کلی تنظیم شد که مرحله ی اول واسرشتگی (Denaturation)نام دارد که در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد و مدت زمان ۱۰ ثانیه انجام میشود. مرحله ی دوم Annealing میباشد که در دمای ٦۰ درجه سانتی گراد و مدت زمان ۱۵ ثانیه جهت اتصال پرایمر ها به هدف تنظیم شد و مرحله ی سوم Extension میباشد که برای تکثیر قطعه مورد نظر به کار میرود و دمای آن ۷۲ درجه سانتی گراد و مدت ۲۰ ثانیه تنظیم شد.

حجم واکنش ها ۱۰ میکرولیتر در استریپ های مخصوص دستگاه انجام گرفت که ظرفیت هر استریپ ۱۰۰میکرولیتر است. ترکیبات هر واکنش شامل ۵ میکرولیتر از مستر میکس ، ۰.۵ میکرولیتر پرایمر رفت و ۰.۵ میکرولیتر پرایمر معکوس و ۱ میکرولیتر از cDNA سنتز شده و ۳ میکرولیتر آب عاری از نوکلئاز بود.

به‌منظور مطالعه آماری میزان تغییرات بیان hsa_circ_0065972 در نمونه‌های توموری نسبت به نرمال، از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۰ استفاده شد. با توجه به اینکه توزیع داده‌ها از نرمال پیروی می‌کند برای مقایسه دو گروه از آزمون t مستقل ۲ نمونه‌ای، آنالیز واریانس یک طرفه به همراه آزمون تعقیبی (post-hoc) توکی و آزمون هم بستگی پیرسون استفاده شد.

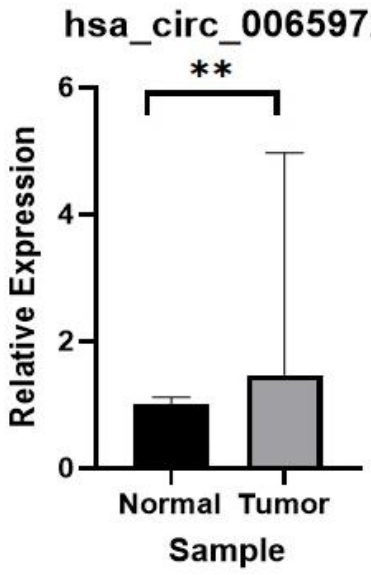
همچنین برای تجزیه تحلیل داده‌های Real Time PCR از فرمول ۲-ΔΔCt استفاده و ژن B-Actin به عنوان ژن کنترل در نظر گرفته شد (جدول ۱).

این مقاله با کد اخلاق IR.SKUMS.MED.REC.1401.008 در دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد به تصویب رسید.

یافته‌ها

تعداد ۳۵ نمونه توموری پستان به همراه بافت سالم با فاصله‌ی تقریبی ۷ سانتی‌متر از تومور از جراحی‌های ماستکتومی بیمارستان آیت‌الله کاشانی شهرکرد و کلینیک آناهید و آزمایشگاه پورسینا حکیم اصفهان شهرک سلامت اصفهان جمع‌آوری و به فریزر منفی ۷۰ منتقل شد. ۸۸ درصد بیماران در بازه‌ی سنی ٤۰ تا ٦۵ سال بودند و بر اساس بررسی‌های پاتولوژی و هیستولوژی، همه‌ی نمونه‌های در مرحله‌های I, II, III قرار داشتند.

برای مقایسه‌ی میزان بیان RNA حلقوی hsa_circ_0065972 سطح بیان آن در بافت‌های کارسینوم پستان و بافت سالم مجاور آن به‌عنوان کنترل با روش Real-Time PCR سنجیده شد. همان‌گونه که شکل ۱ نشان می‌دهد، در بافت سرطانی نسبت به بافت کنترل که با استفاده از روش t-test انجام شد به ترتیب ۱/٤ برابر افزایش بیان دارد ($P < ۰/۰۵$).



شکل ۱ . مقایسه‌ی میزان بیان hsa_circ_0065972 در بافت سالم مجاور تومور و سرطانی

(بافت سرطانی نسبت به بافت کنترل (روش t-test) به ترتیب ۱/٤ برابر افزایش بیان دارد ($P < ۰/۰۵$).

همچنین با استفاده از آزمون همبستگی Pearson، میزان بیان این RNA حلقوی با مشخصات بیماران مثل سن و شاخص توده‌ی بدنی BMI (Body Mass Index) و خصوصیات پاتولوژیک بیماران مانند اندازه‌ی تومور، مرحله، درجه، مشخصات ایمونوهیستوشیمی مورد مقایسه قرار گرفت (جدول ۲) که با هیچ یک از مشخصات از لحاظ آماری ارتباط معنی‌داری وجود نداشت.

مقایسه‌ی درجات مختلف:

مقایسه‌ی درجه I با II: P = ۰/۴۲ (غیر معنادار)

مقایسه‌ی درجه I با III: P = ۰/۰۹ (غیر معنادار، اما نزدیک به معنادار)

مقایسه‌ی درجه II با III: P = ۰/۱۶ (غیر معنادار)

تفسیر:

نتایج نشان می‌دهد که اگرچه میانگین سطح بیان در درجه III نسبت به درجات I و II بالاتر است، اما این تفاوت‌ها از نظر آماری معنادار نیستند (P > ۰/۰۵). این یافته‌ها بیانگر این هستند که hsa_circ_0065972 نمی‌تواند به عنوان یک شاخص افتراق‌دهنده بین درجات مختلف تومور در نظر گرفته شود.

مقایسه‌ی مراحل مختلف:

مقایسه‌ی مرحله I با II: P = ۰/۷۸ (غیر معنادار)

مقایسه‌ی مرحله I با III: P = ۰/۹۱ (غیر معنادار)

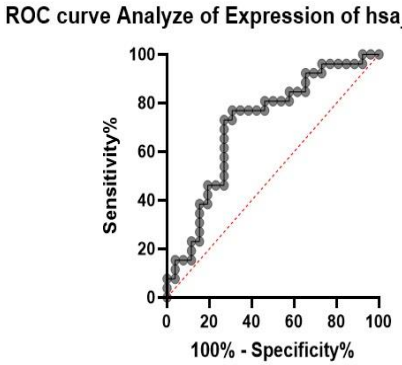
مقایسه‌ی مرحله II با III: P = ۰/۸۵ (غیر معنادار)

تفسیر:

نتایج نشان می‌دهد که تفاوتی از نظر سطح بیان hsa_circ_0065972 بین مراحل مختلف سرطان از نظر آماری معنی‌دار نیست (P > ۰/۰۵). این موضوع نشان می‌دهد که سطح بیان این RNA حلقوی مستقل از مرحله سرطان است و نمی‌توان از آن برای تفکیک مراحل مختلف کارسینوم پستان استفاده کرد.

نمودار ROC و تحلیل AUC

برای ارزیابی توانایی RNA حلقوی hsa_circ_0065972 در تمایز میان بافت‌های سرطانی و سالم مجاور تومور، نمودار ویژگی عملکردی گیرنده (ROC) ترسیم شد (شکل ۲). مساحت زیر منحنی (AUC) برابر با ۰/۷۱ به‌دست آمد که نشان‌دهنده‌ی توانایی متوسط مدل در تمایز میان گروه‌های بیماران مبتلا به کارسینوم پستان (گروه توموری) و گروه شاهد (افراد سالم) است. این مقدار AUC در دامنه‌ی ۰/۷ تا ۰/۸ قرار دارد که معمولاً به عنوان دقت متوسط ارزیابی می‌شود.



شکل ۲ . منحنی ROC و بیان RNA حلقوی hsa_circ_0065972

خطای استاندارد برای AUC برابر با ۰/۰۷۳ بود که برآوردی نسبتاً دقیق از مساحت زیر منحنی ارائه می‌دهد. علاوه بر این، فاصله اطمینان ۹۵٪ برای AUC بین ۰/۵۶ تا ۰/۸۵ قرار دارد، که نشان‌دهنده‌ی این است که با ۹۵٪ اطمینان، مقدار واقعی AUC در این بازه قرار دارد.

مقدار P برابر با ۰/۰۰۸۹ به‌دست آمد که نشان‌دهنده‌ی معنی‌داری آماری تمایز میان دو گروه است. از آنجا که P کمتر از ۰/۰۵ است، این نتایج حاکی از آن هستند که تفاوت‌های مشاهده شده از لحاظ آماری معنی‌دار است.

سطح بیان RNA حلقوی hsa_circ_0065972 در بافت‌های سرطانی (n = ۳۵) نسبت به بافت‌های سالم مجاور تومور (n = ۳۵) افزایش یافته است و این RNA قادر است تفاوت معناداری میان این دو گروه ایجاد کند. همچنین، مقدار AUC برابر با ۰/۷۱۱۵ (۹۵٪ CI: ۰/۵۶۸۰ تا ۰/۸۵۵۱، Std. Error = ۰/۰۷۳۲۴) به‌دست آمد که نشان‌دهنده‌ی دقت تشخیصی این نشانگر زیستی در تمایز بین بافت سرطانی و سالم مجاور تومور است.

در مجموع، نتایج نمودار ROC نشان‌دهنده‌ی قابلیت استفاده RNAحلقوی hsa_circ_0065972 به عنوان یک بیومارکر بالقوه برای شناسایی کارسینوم پستان است. با این حال، جهت تأیید این یافته‌ها و بهبود دقت تشخیص، تحقیقات بیشتر بر روی جمعیت‌های بزرگتر و متنوع‌تر ضروری است.

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که بیان RNA حلقوی hsa_circ_0065972در بافت‌های توموری کارسینوم پستان به‌طور معنی‌داری بالاتر از بافت‌های سالم مجاور تومور است. این یافته‌ها با شواهد موجود در تحقیقات پیشین همخوانی دارد که بر نقش کلیدی RNAهای حلقوی در فرایندهای سرطان‌زایی تأکید دارند RNAهای حلقوی به دلیل پایداری بالا و نقش تنظیمی آن‌ها در فرایندهای مهم سلولی مانند تکثیر، متاستاز و مقاومت دارویی، به‌ویژه در سرطان‌ها، شناخته شده‌اند.

در مطالعه‌ی حاضر، افزایش ۱/۴ برابری سطح بیان hsa_circ_0065972در بافت توموری، که از لحاظ آماری معنی‌دار بود، نشان‌دهنده‌ی احتمال نقش این RNA حلقوی در مراحل اولیه کارسینوم پستان است. این یافته‌ها به‌طور بالقوه، hsa_circ_0065972 را به‌عنوان یک بیومارکر معرفی می‌کنند که می‌تواند به عنوان بیومارکر بالقوه برای پایش و تشخیص کارسینوم پستان و پیگیری وضعیت بیماران مؤثر باشد. این موضوع به‌ویژه با توجه به نبود ارتباط معنی‌دار بین بیان این RNA و مشخصات بالینی بیماران مانند سن، BMI، اندازه‌ی تومور و مرحله‌ی بیماری حائز اهمیت است، زیرا نشان

می‌دهد که hsa_circ_0065972 ممکن است به‌عنوان یک بیومارکر مستقل از این عوامل عمل کند (جدول ۲).

در مطالعات مختلف، تغییرات بیان RNAهای حلقوی در کارسینوم پستان گزارش شده است. به‌عنوان مثال، در مطالعه‌ای بر روی RNAهای حلقوی hsa_circ_0005046 و hsa_circ_0001791، تفاوت‌های معنی‌داری در بیان این مولکول‌ها در بافت توموری نسبت به بافت سالم مجاور تومور مشاهده شد (۱۰). همچنین، مطالعه‌ای دیگر نشان داد که hsa_circ_0001982در بافت توموری پستان بیش از بافت سالم مجاور تومور بیان می‌شود (۱۱).

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۸ توسط Yin و همکاران انجام گرفت، افزایش بیان hsa_circ_0001785 و hsa_circ_0108942 در بافت توموری پستان تأیید شد (۱۲). یافته‌های ما نیز با این تحقیقات هم‌راستا بود و نشان‌دهنده‌ی اهمیت hsa_circ_0065972 به‌عنوان یک هدف بالقوه برای تحقیق در زمینه‌ی کارسینوم پستان بود.

یکی از نتایج مهم مطالعه، تحلیل ROC بود که نشان داد RNA حلقوی hsa_circ_0065972 قادر است تفاوت معنی‌داری میان بافت‌های کارسینوم پستان و بافت‌های سالم مجاور تومور ایجاد کند (P = ۰/۷۱). اگرچه مقدار AUC در دامنه ۰/۷ تا ۰/۸ به‌عنوان دقت متوسط ارزیابی می‌شود، این نتایج هنوز به‌عنوان یک قدم مثبت در توسعه‌ی بیومارکرهای جدید برای تشخیص کارسینوم پستان محسوب می‌شود.

مطالعه‌ی حاضر با محدودیت‌هایی همراه بود که ممکن است بر عمق نتایج تأثیر بگذارد. به‌ویژه، تعداد کم نمونه‌ها و نبود داده‌های طولانی‌مدت برای پیگیری وضعیت بیماران از جمله محدودیت‌های اصلی این تحقیق بود. از این‌رو، انجام مطالعات گسترده‌تر با تعداد نمونه‌های بیشتر و ارزیابی عملکرد این RNA حلقوی در مراحل مختلف کارسینوم پستان، به‌ویژه در مراحل پیشرفته و پیگیری طولانی‌مدت بیماران، برای تأیید نتایج و بررسی ارتباط آن با پیش‌آگهی بیماری ضروری است.

نتایج این مطالعه، به‌ویژه شواهد مربوط به افزایش بیان hsa_circ_0065972در بافت توموری پستان و توانایی آن در تفاوت میان بافت‌های سالم مجاور تومور و سرطانی، اهمیت این RNA حلقوی را به‌عنوان یک بیومارکر بالقوه برای مطالعات بیشتر روی کارسینوم پستان نشان می‌دهد. همچنین، تحلیل‌ها حاکی از آن است که hsa_circ_0065972 ممکن است به‌عنوان یک بیومارکر مستقل از ویژگی‌های بالینی بیماران عمل کند. این یافته‌ها می‌توانند زمینه‌ساز تحقیقات آینده در زمینه‌ی توسعه‌ی بیومارکرهای جدید و درمان‌های هدفمند برای کارسینوم پستان باشند.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که بیان RNA حلقوی hsa_circ_0065972 در بافت‌های سرطانی پستان نسبت به بافت‌های سالم مجاور تومور افزایش یافته است. این افزایش بیان، همراه با نتایج نمودار ROC و مقدار AUC معنی‌دار، حاکی از پتانسیل این RNA حلقوی به عنوان یک بیومارکر برای کارسینوم پستان است. با این حال، عدم وجود ارتباط معنی‌دار بین بیان این RNA و ویژگی‌های بالینی و پاتولوژیک بیماران نشان می‌دهد که hsa_circ_0065972 می‌تواند به عنوان یک بیومارکر مستقل در نظر گرفته شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پژوهشی است که در قالب پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد در رشته ژنتیک انسانی با شماره ٦١٨٦ در دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد انجام شده است. نویسنده با قدردانی ویژه از اساتید محترم راهنما و مشاور، از تلاش‌ها و راهنمایی‌های دلسوزانه ایشان سپاسگزار است. همچنین از دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد به خاطر حمایت‌ها و فراهم کردن امکانات لازم برای انجام این تحقیق تشکر می‌شود.

قدردانی ویژه‌ای از کلینیک آناهید و آزمایشگاه پورسینا حکیم اصفهان به خاطر همکاری و مساعدت‌های ارزشمندشان در انجام این پژوهش به عمل می‌آید. همچنین از تمام همکارانی که با دانش و همکاری خود در پیشبرد این تحقیق سهمی داشتند، نهایت قدردانی به عمل می‌آید.

References

1. Barrios CH. Global challenges in breast cancer detection and treatment. Breast 2022; 62(Suppl 1): S3-S6.
2. Wilkinson L, Gathani T. Understanding breast cancer as a global health concern. Br J Radiol 2021; 95(1130): 20211033.
3. Wang J, Wu S-G. Breast cancer: an overview of current therapeutic strategies, challenge, and perspectives. Breast Cancer (Dove Med Press) 2023; 15: 721-30.
4. Sanaat Z, Dolatkhah R. Epidemiologic profile of breast cancer in Iran: A systematic review and meta-analysisClin Epidemiol Glob Health 2024; 26: 101537.
5. Beňačka R, Szabóová D, Guľašová Z, Hertelyová Z. Non-Coding RNAs in Breast Cancer: Diagnostic and Therapeutic Implications. Int J Mol Sci 2024; 26(1): 127.
6. Li Z, Chen Z, Hu G, Jiang Y. Roles of circular RNA in breast cancer: present and future. Am J Transl Res 2019; 11(7): 3945-54.
7. National Center for Biotechnology Information. Gene

6159 [Internet]. [cited 2025 Jan 14]. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/6159
8. National Institute on Aging. CircSearch for gene symbol RPL29 [Internet]. [cited 2025 Jan 14]. Available from: https://circinteractome.nia.nih.gov/api/v2/circsearch?circular_rna_query=&gene_symbol_query=rpl29&submit=circRNA+Search
9. Erbes T, Hirschfeld M, Rücker G, Jaeger M, Boas J, Iborra S, et al. Feasibility of urinary microRNA detection in breast cancer patients and its potential as an innovative non-invasive biomarker. BMC Cancer 2015; 15: 193.
10. Ameli-Mojarad M, Ameli-Mojarad M, Nourbakhsh M, Nazemalhosseini-Mojarad E. Circular RNA hsa_circ_0005046 and hsa_circ_0001791 May Become Diagnostic Biomarkers for Breast Cancer Early Detection. J Oncol 2021; 2021: 2303946.
11. Tang Y-Y, Zhao P, Zou T-N, Duan J-J, Zhi R, Yang S-Y, et al. Circular RNA hsa_circ_0001982 Promotes Breast Cancer Cell Carcinogenesis Through Decreasing miR-143. DNA Cell Biol 2017; 36(11): 901-8.
12. Yin W-B, Yan M-G, Fang X, Guo J-J, Xiong W, Zhang R-P. Circulating circular RNA hsa_circ_0001785 acts as a diagnostic biomarker for breast cancer detection. Clin Chim Acta 2018; 487: 363-8.

DOI: *10.48305/jims.v43.i812.0411*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 43, No. 812, 4th Week, Jun 2025**

Received: 07.11.2024 Accepted: 01.07.2025 Published: 19.06.2025

Circular RNA hsa_circ_0065972 Expression in Breast Cancer Patients

Ali Heidarpour[1], Mohammadreza Saberiyan[2,3], Maryam Tabatabaeian[4], Elham Amjadi[5], Reza Mirfakhraei[6], Mohammad Moazeni[7], Hadi Raeisi Shahraki[8], Hossein Teimori[9]

Original Article

Abstract

Background: Breast cancer is one of the most common types of cancer worldwide and is also recognized as the most prevalent cancer in Iran. Circular RNAs (circRNAs) play a significant role in regulating gene expression. These RNAs are involved in biological processes such as cell proliferation, metastasis, and tumorigenesis. The circular RNA hsa_circ_0065972 has been identified as a circRNA associated with the RPL29 gene in breast cancer. Recent studies have shown that circular RNAs can serve as potential biomarkers for the prognosis and treatment of breast cancer.

Methods: In this study, 35 pairs of cancerous and healthy tissue samples were collected from patients referred to Kashani Hospital in Shahrekord, Anahid Clinic, and Poursina Hakim Laboratory in Isfahan. After RNA extraction, cDNA synthesis and Real-Time PCR reactions were performed. The results were analyzed using Prism software.

Findings: The expression change of hsa_circ_0065972 showed a 1.4 fold increase in tumor tissue compared to healthy tissue. This change in circular RNA hsa_circ_0065972 was statistically significant (P = 0.0009).

Conclusion: The results indicate that the expression level of the circular RNA hsa_circ_0065972 is upregulated in breast cancer tissue. Therefore, this circular RNA holds significant potential to be studied as a biomarker, highlighting the need for further research.

Keywords: Breast neoplasms; Circular RNAs; Ribosomal proteins; Real-time polymerase chain reaction

Citation: Heidarpour A, Saberiyan M, Tabatabaeian M, Amjadi E, Mirfakhraei R, Moazeni M, Raeisi Shahraki H, Teimori H. **Circular RNA hsa_circ_0065972 Expression in Breast Cancer Patients.** J Isfahan Med Sch 2025; 43(812): 411-17.

1- MSc Student, Cellular and Molecular Research Center, Basic Health Sciences Institute, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran.
2- PhD Student, Department of Medical Genetics, School of Medical Science, Hormozgan University of Medical Science, Bandar Abbas, Iran.
3- PhD Student, Cellular and Molecular Research Center, Basic Health Sciences Institute, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran.
4- PhD, Anahid Prevention and Health Promotion Breast Clinic, Esfahan Health Care City, Isfahan, Iran.
5- PhD, Poursina Hakim Digestive Diseases Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
6- Professor, Department of Medical Genetics, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
7- PhD, Cellular and Molecular Research Center, Basic Health Sciences Institute, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran.
8- Assistant Professor, Department of Epidemiology and Biostatistics, Faculty of Health, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran.
9- Professor, Cellular and Molecular Research Center, Basic Health Sciences Institute, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran.
Corresponding Author: Hossein Teimori, Professor, Cellular and Molecular Research Center, Basic Health Sciences Institute, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran; Email: hosseintimm@yahoo.com