

<https://doi.org/10.24060/2076-3093-2024-14-2-116-126>

Профиль экспрессии циркулярных РНК при раке шейки матки и построение регуляторной сети «циркулярные РНК — микроРНК — матричные РНК»

Беглярзаде Сема Арзуман кызы — аспирант, кафедра онкологии, радиологии и радиотерапии, orcid.org/0009-0002-2181-9245

Тамразов Расим Ильхам оглы — д.м.н., профессор, кафедра онкологии, радиотерапии с курсом онкоурологии, orcid.org/0000-0002-6831-6971

Мусаев Эльмар Расим оглы — д.м.н., профессор, член-корр. РАН, кафедра онкологии, orcid.org/0000-0002-1241-3019

Вонг Чунлеи — профессор, отделение нейрохирургии, orcid.org/0000-0002-2661-5922

С.А. Беглярзаде^{1,*}, Р.И. Тамразов², Э.Р. Мусаев³, Чунлеи Вонг⁴

¹ Тюменский государственный медицинский университет, Россия, Тюмень

² Российский университет дружбы народов, Россия, Москва

³ Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Россия, Москва

⁴ Первый аффилированный госпиталь Харбинского медицинского университета, Китай, Харбин

* **Контакты:** Беглярзаде Сема Арзуман кызы, e-mail: semanagiyeva@yandex.ru

Аннотация

Введение. Рак шейки матки (РШМ) остается наиболее распространенным раком у женщин во всем мире, и до сих пор для диагностики и прогнозирования РШМ отсутствуют эффективные и специфические биомаркеры. В последние годы большое внимание привлекло изучение потенциала циркулярных РНК (циркРНК) как новых диагностических, прогностических и терапевтических инструментов. В текущем исследовании мы провели углубленное биоинформатическое исследование по изучению регуляторной сети «циркРНК — микроРНК (миРНК) — матричной РНК (мРНК)», чтобы выявить важные молекулярные процессы и биологические пути, предположительно связанные с РШМ. **Материалы и методы.** В ходе исследования были собраны данные об экспрессии циркРНК (GSE102686), миРНК (GSE30656) и мРНК генов-мишеней (GSE9750), основанные на базе данных «Омнибус экспрессии генов» (англ. Gene Expression Omnibus, или GEO), в образцах плоскоклеточного рака шейки матки и нормального плоского эпителия шейки матки, разделив их на исследуемую и контрольную группы. Для более глубокого понимания функции циркРНК для их генов-мишеней был проведен анализ белок-белкового взаимодействия (PPI), Генной онтологии (GO — Gene Ontology) и анализ Киотской энциклопедии генов и геномов (KEGG). **Результаты.** В отношении РШМ было выявлено в общей сложности 105 дифференциально экспрессируемых циркулярных РНК (ДЭЦ), 144 дифференциально экспрессируемых микроРНК (ДЭМ) и 539 дифференциально экспрессируемых генов-мишеней (ДЭГ). Одновременно анализ функционального обогащения GO и путей KEGG проводился для ДЭГ. Впоследствии благодаря базам данных по поиску циркРНК, миРНК и мРНК генов-мишеней, а также сетевому анализу PPI и функциональному обогащению мы обнаружили 3 ДЭЦ со значительно более высоким уровнем экспрессии (*hsa_circ_0000745*, *hsa_circ_0084927* и *hsa_circ_0002762*), 6 ДЭМ с пониженным уровнем экспрессии (*hsa-miR-145*, *hsa-miR-876-3p*, *hsa-miR-1229*, *hsa-miR-182*, *hsa-miR-520h* и *hsa-miR-1252*) и 9 ключевых генов, таких как *ANGPT2*, *COL11A1*, *MEST*, *KIF20A*, *CLN6*, *FNDC3B*, *USP18*, *DLGAP5* и *CXCL9*, что позволяет предположить их потенциально значительную роль при РШМ. **Заключение.** Понимание регуляторной сети «циркРНК — миРНК — мРНК» имеет большое значение в понимании онкогенеза РШМ, а также обнаружении новых циркРНК как главных регуляторных молекул в данной сети — это новое направление в диагностике и таргетной терапии РШМ.

Ключевые слова: рак шейки матки, циркулярная РНК, микроРНК, матричные РНК, гены-мишени, биоинформатический анализ

Информация о конфликте интересов. Конфликт интересов отсутствует.

Информация о спонсорстве. Данная работа не финансировалась.

Вклад авторов. Все авторы внесли эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Для цитирования: Беглярзаде С.А., Тамразов Р.И., Мусаев Э.Р., Вонг Ч. Профиль экспрессии циркулярных РНК при раке шейки матки и построение регуляторной сети «циркулярные РНК — микроРНК — матричные РНК». Креативная хирургия и онкология. 2024;14(2):116–126. <https://doi.org/10.24060/2076-3093-2024-14-2-116-126>

Поступила в редакцию: 21.03.2024

Поступила после рецензирования и доработки: 29.04.2024

Принята к публикации: 30.04.2024

Circular RNA Expression Profile in Cervical Cancer and Construction of the Circular RNA-MicroRNA-Messenger RNA Regulatory Network

Sema A. Begliarzade^{1*}, Rasim I. Tamrazov², Elmar R. Musaev³, Chunlei Wang⁴

¹ Tyumen State Medical University, Tyumen, Russian Federation

² Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

³ Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

⁴ First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, China

* **Correspondence to:** Sema A. Begliarzade, e-mail: semanagiyeva@yandex.ru

Sema A. Begliarzade — Post-graduate Student, Department of Oncology, Radiology and Radiotherapy, orcid.org/0009-0002-2181-9245

Rasim I. Tamrazov — Dr. Sci. (Med.), Prof., Department of Oncology, Radiotherapy with a course of Oncology, orcid.org/0000-0002-6831-6971

Elmar R. Musaev — Dr. Sci. (Med.), Prof., Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Department of Oncology, orcid.org/0000-0002-1241-3019

Chunlei Wang — Prof., Department of Neurosurgery, orcid.org/0000-0002-2661-5922

Abstract

Introduction. Cervical cancer (CC) remains the most common cancer in women worldwide. However, effective and specific biomarkers for the diagnosis and prognosis of cervical cancer are yet to be found. In recent years, the potential of circular RNAs (circRNAs) as new diagnostic, prognostic and therapeutic tools has received much attention. The current study involved an in-depth bioinformatics research to explore the circRNA-microRNA (miRNA)-messenger RNA (mRNA) regulatory network in order to identify important molecular processes and biological pathways supposedly associated with CC. **Materials and methods.** The study collected data on the expression of circRNA (GSE102686), miRNA (GSE30656) and mRNA of target genes (GSE9750), based on the Gene Expression Omnibus (GEO) database, in squamous cell carcinoma of the cervix samples and normal squamous epithelium of the cervix, dividing them into study and control groups. Protein-protein interaction (PPI), Gene Ontology (GO) analysis, and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) analysis were performed to further understand the function of circRNAs for their target genes. **Results.** A total of 105 differentially expressed circular RNAs (DECs), 144 differentially expressed microRNAs (DEMs), and 539 differentially expressed target genes (DEGs) were identified for cervical cancer. Concurrently, functional enrichment analysis of GO and KEGG pathways was performed for DEGs. Subsequently, searching databases for circRNA, miRNA and mRNA target genes, as well as PPI network analysis and functional enrichment revealed 3 DECs with significantly high expression levels (*hsa_circ_0000745*, *hsa_circ_0084927* and *hsa_circ_0002762*), 6 DEMs with reduced expression levels (*hsa-miR-145*, *hsa-miR-876-3p*, *hsa-miR-1229*, *hsa-miR-182*, *hsa-miR-520h* and *hsa-miR-1252*) and 9 key genes such as *ANGPT2*, *COL11A1*, *MEST*, *KIF20A*, *CLN6*, *FNDC3B*, *USP18*, *DLGAP5* and *CXCL9*, suggesting a potentially significant role in cervical cancer. **Conclusion.** Understanding the circRNA-miRNA-mRNA regulatory network is of great importance for evaluating the oncogenesis of CC, as well as discovering new circRNAs as the main regulatory molecules in this network. This is considered to be a new direction in the diagnosis and targeted therapy of cervical cancer.

Keywords: cervical cancer, circular RNA, microRNA, messenger RNA, target genes, bioinformatic analysis

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Sponsorship data. This work is not funded.

Author contribution. The authors contributed equally to this article.

For citation: Begliarzade S.A., Tamrazov R.I., Musaev E.R., Wang Ch. Circular RNA expression profile in cervical cancer and construction of the circular RNA-microRNA-messenger RNA regulatory network. *Creative Surgery and Oncology*. 2024;14(2):116–126. <https://doi.org/10.24060/2076-3093-2024-14-2-116-126>

Received: 21.03.2024

Revised: 29.04.2024

Accepted: 30.04.2024

ВВЕДЕНИЕ

Рак шейки матки (РШМ) является третьим по распространенности видом рака среди женщин во всем мире, только в 2020 году было зарегистрировано более 600 000 новых случаев [1]. Плоскоклеточный рак шейки матки составляет более 85 % всех случаев. При этом 5-летняя выживаемость при локализованном РШМ составляет около 91,5 %, а после метастазирования 5-летняя выживаемость снижается практически до 16,5 % [2]. Удовлетворительный прогноз на ранних стадиях РШМ можно объяснить недавними достижениями в традиционных стратегиях лечения. Однако примерно у двух третей пациенток РШМ диагностируется на поздней стадии из-за отсутствия практических диагностических биомаркеров, что делает стандартные стратегии лечения неэффективными [1–3]. Поэтому крайне важно изучить новые методы диагностики и терапии, опираясь на молекулярно-генетические особенности РШМ.

Полногеномные исследования с использованием микрочипов и секвенирования нового поколения (NGS) выявили глобальные эпигеномные изменения, ответственные за онкогенез, и предоставили возможность перевести эти молекулярные изменения в качестве биомаркеров и терапевтических мишеней у пациентов с РШМ. Тем не менее результаты полногеномного исследования потребовали перекрестной проверки, поскольку выявленные молекулы могут быть противоречивыми из-за: 1) гетерогенности опухоли, 2) используемых методик обнаружения, 3) типов и источников образцов и 4) алгоритмов, используемых для анализа данных [4, 5]. Следовательно, повторный анализ больших данных может дать новое представление о регуляторных факторах, молекулярных механизмах и сигнальных путях, которые могут изменяться при РШМ. Предыдущие анализы *in silico* показали, что повторный анализ больших данных из базы данных «Омнибус экспрессии генов» (англ. Gene Expression Omnibus, или GEO) может выявить надежные диагностические и прогностические маркеры, а также терапевтические мишени при онкологических заболеваниях [6–8].

Циркулярные РНК (циркРНК) представляют собой класс некодирующих РНК (нРНК) с кольцевой конформацией, образующихся из пре-матричной РНК (мРНК) путем обратного сплайсинга. В отличие от линейных РНК, циркРНК более стабильны и устойчивы к расщеплению ферментами. Некоторые из циркРНК более распространены, чем их линейные транскрипты. Кроме того, циркРНК присутствуют в различных геномах млекопитающих [9, 10]. Недавние исследования показали, что циркРНК играют все более важную роль в развитии многих заболеваний, и обнаружено, что aberrантная экспрессия циркРНК тесно связана с биогеномом и прогрессированием опухолей [11, 12]. Несмотря на многочисленные функции циркРНК при опухолях человека, еще многое предстоит узнать о функциях и механизмах циркРНК, участвующих в онкогенезе РШМ, чтобы эффективно и безопасно транслировать фундаментальные знания в клиническую практику.

В этом исследовании мы получили образцы профиля экспрессии циркРНК, микроРНК (миРНК) и мРНК из

базы данных GEO для пациентов с РШМ. С помощью языка программирования R были идентифицированы дифференциально экспрессируемые циркулярные РНК (ДЭЦ), дифференциально экспрессируемые микроРНК (ДЭМ) и дифференциально экспрессируемые гены-мишени (ДЭГ). Кроме того, были идентифицированы цели прогнозирования «циркРНК — миРНК» и «миРНК — мРНК». Затем путем их слияния была построена регуляторная сеть «циркРНК — миРНК — мРНК». Популярные методы обогащенного анализа, такие как анализ Белок-белкового взаимодействия (англ. Protein-Protein Interaction, или PPI), Онтология генов (англ. Gene Ontology, или GO) и анализ Киотской энциклопедии генов и геномов (англ. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, или KEGG), использовались для прогнозирования потенциальных сигнальных путей и регуляторных механизмов в онкогенезе РШМ. Это исследование предлагает новые диагностические и терапевтические инструменты, а также предпосылки для будущих исследований, которые могут улучшить наше понимание возможных молекулярных процессов РШМ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**Идентификация дифференциально экспрессируемого профиля циркРНК, миРНК и мРНК генов**

В настоящем исследовании использовали ключевые слова «рак шейки матки или РШМ» (ключевые слова исследования), «циркулярные РНК или циркРНК» (тип исследования), «*Homo Sapiens*» (организм) и «опухолевая ткань» (название атрибута) для извлечения данных из базы данных Национального центра биотехнологической информации по экспрессии генов (англ. National Center for Biotechnology Information, или NCBI) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE102686>; доступ в декабре 2023 г.). Данные дифференциально экспрессируемых циркулярных РНК (ДЭЦ), дифференциально экспрессируемых микроРНК (ДЭМ) и дифференциально экспрессируемых генов-мишеней (ДЭГ) образцов РШМ и нормальных тканей были загружены из базы данных GEO, набора данных GSE102686, GSE30656 и GSE9750, которые основаны на микрочипе V1 GPL19978 Agilent-069978 Arraystar Human CircRNA (Agilent Technologies Inc., MD), GPL6955 Agilent-016436 Human miRNA Microarray 1.0 и GPL96[HG-U133A] Affymetrix Human Genome U133A Array. Эти образцы включали 5 образцов плоскоклеточного рака и 5 образцов нормального эпителия шейки матки из базы данных GSE102686, 10 образцов плоскоклеточного рака и 10 образцов нормального эпителия шейки матки из базы данных GSE30656 и 40 образцов плоскоклеточного рака и 24 образца нормального эпителия шейки матки из базы данных GSE9750 (табл. 1). ДЭЦ, ДЭМ и ДЭГ между РШМ и нормальной тканью проверяли с помощью инструмента GEO2R (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/geo2r/?acc=GSE102686>). Log₂-кратное изменение $|\log_2FC| > 1,0$ и скорректированное значение $p < 0,05$ были определены в качестве отправной точки для выбора ДЭЦ, ДЭМ и ДЭГ.

GSE	Платформа	Образцы	Исследуемая группа, n	Контрольная группа, n	Молекула
GSE102686	GPL19978	Плоскоклеточный рак и образцы плоского эпителия шейки матки	5	5	Циркулярные РНК (циркРНК)
GSE30656	GPL6955	Плоскоклеточный рак и образцы плоского эпителия шейки матки	10	10	МикроРНК (миРНК)
GSE9750	GPL96	Плоскоклеточный рак и образцы плоского эпителия шейки матки	40	24	Матричная РНК (мРНК) гена

Таблица 1. Подробная информация о данных Gene Expression Omnibus (GEO)
Table 1. Gene Expression Omnibus (GEO) data details

Построение сети взаимодействия «циркРНК — миРНК — мРНК»

Мы использовали базу данных circBase (<http://www.circbase.org/>) для анализа полученных ДЭЦ. CircBase — это база данных, связанная с поиском существующих циркРНК, в которой указывается краткая информация о циркРНК, такая как последовательность, ген и расположение в геноме [13]. Затем мы определили сеть взаимодействия «циркРНК — миРНК», используя базу данных circBank (<http://www.circbank.cn/index.html>) и базу данных CircInteractome (<https://circinteractome.nia.nih.gov/index.html>), где в сеть взаимодействия были включены миРНК с наивысшим баллом, контекст + процентиль оценки > 90 (англ. Context + percentile score) [13, 14]. Далее три алгоритма прогнозирования мишеней, такие как TargetScan (https://www.targetscan.org/vert_80/), miRDB (<https://mirdb.org/custom.html>) и RNA22 (<https://cm.jefferson.edu/rna22/>) были использованы для предсказания потенциальной целевой взаимосвязи между выбранными миРНК и областями 3'-нетранслируемой области (3'-НТО, англ. 3'-untranslated region, 3'-UTR) 3'-НТО мРНК генов-мишеней [15]. Высокая степень достоверности присваивается, когда совокупная взвешенная оценка контекста (англ. Cumulative weighted context++ score или «CWCS»), определенная TargetScan, равна -0,4 или ниже. Такие оценки предсказывают, что миРНК подавляет конкретную мишень мРНК гена по меньшей мере на 25 % относительно нормального уровня. Умеренная достоверность присваивается, когда CWCS находится в диапазоне от -0,2 до -0,4. Такие оценки предсказывают, что миРНК подавляет конкретную мишень мРНК на 13–25 % по сравнению с их нормальными уровнями. По опыту многих исследователей, прогнозируемая мРНК как мишень с рейтингом прогнозирования > 80, контекст ++ процентиль оценки (англ. Context ++ percentile score) из базы данных miRDB имеет подтверждающие доказательства о практической взаимосвязи между миРНК и 3'-НТО мРНК генов-мишеней.

Анализ обогащения путей GO и KEGG

Потенциальные функции ДЭЦ были дополнительно исследованы путем изучения мРНК генов-мишеней в регуляторной сети. Обогащение целевых мРНК по путям GO и KEGG анализировали и визуализировали с использованием программного обеспечения База данных для аннотации, визуализации и интегрированного обнаружения (англ. The Database for Annotation, Visualization

and Integrated Discovery, или DAVID). GO в основном используется для анализа функций мРНК, обогащенного клеточным компонентом (КК), молекулярной функцией (МФ) и биологическим процессом (БП). KEGG использовалась для анализа функций мРНК генов-мишеней, участвующих в нескольких сигнальных путях.

Статистический анализ

Статистический анализ проводили с использованием программного обеспечения IBM SPSS (версия 16.0) и Graphpad Prism (версия 8.0). Для сравнения различных групп использовался независимый *t*-критерий или критерий хи-квадрат. Вероятность $p < 0,05$ (*) или $p < 0,001$ (**) считалась статистически значимой.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ данных ДЭЦ, ДЭМ и ДЭГ

В настоящем исследовании мы проанализировали наборы данных GSE102686, GSE30656 и GSE9750 из базы данных GEO с помощью инструмента GEO2R и обнаружили ДЭЦ при сравнении 5 образцов плоскоклеточного рака и 5 образцов нормального плоского эпителия шейки матки, ДЭМ при сравнении 10 образцов плоскоклеточного рака и 10 образцов нормального плоского эпителия шейки матки и ДЭГ при сравнении 40 образцов плоскоклеточного рака и 24 образцов нормального плоского эпителия шейки матки. Всего было обнаружено 105 ДЭЦ, 144 ДЭМ и 539 ДЭГ ($p < 0,05$ и $p < 0,001$). Среди 105 ДЭЦ 49 циркРНК имели повышенный уровень экспрессии и 56 циркРНК имели пониженный уровень экспрессии, среди 144 ДЭМ 27 миРНК имели повышенный уровень экспрессии и 117 миРНК имели пониженный уровень экспрессии, среди 539 ДЭГ 266 мРНК генов имели повышенный уровень экспрессии и 273 мРНК генов имели пониженный уровень экспрессии. Тепловые карты (heat maps) и Volcano plot диаграммы ДЭЦ, ДЭМ и ДЭГ в трех вышеуказанных наборах данных показаны на рисунках 1–3. Интерпретация изменения уровня экспрессии ДЭЦ, ДЭМ и ДЭГ основана на значениях $\log_2FC > 1,0$ (повышенный уровень экспрессии) и $\log_2FC < -1,0$ (пониженный уровень экспрессии).

Идентификация кандидатных циркРНК

На основании установленных данных были выбраны 5 циркРНК с наиболее высоким уровнем экспрессии и 5 циркРНК с наиболее низким уровнем экспрессии. Этими 10 циркРНК были hsa_circ_0000745, hsa_circ_0084927,

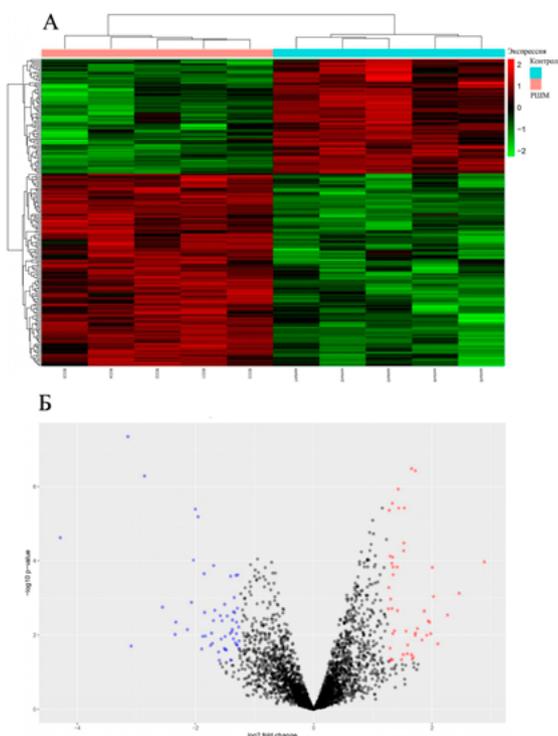


Рисунок 1. Профиль экспрессии и кластерный анализ циркулярных РНК (циркРНК) в образцах плоскоклеточного рака шейки матки (РШМ) и образцах нормального эпителия шейки матки (контрольная группа) из базы данных GSE102686. А — тепловая карта иллюстрирует значения экспрессии дифференциально экспрессируемых циркулярных РНК (ДЭЦ). Цветовая схема назначает розовый цвет образцам РШМ, а бирюзовый цвет — контрольной группе, эффективно отображая отличительные закономерности экспрессии между двумя группами, где красный цвет — это высокий уровень экспрессии, зеленый цвет — низкий уровень экспрессии циркРНК; Б — volcano plot диаграмма демонстрирует ДЭЦ, подчеркивая взаимосвязь между статистической значимостью и кратностью изменения. Красные точки указывают на увеличение уровня экспрессии, синие точки — снижение уровня экспрессии, а серые точки — отсутствие значимой дифференциальной экспрессии. Это визуальное представление кратко передает масштабы и значимость изменений экспрессии анализируемых циркРНК

Figure 1. Expression profile and cluster analysis of circular RNAs (circRNA) in cervical squamous cell carcinoma (cervical cancer) samples and cervical normal epithelium samples (control group) from the GSE102686 database. A — heat map illustrates the expression values of differentially expressed circular RNAs (DECs). The color scheme assigns pink to cervical cancer samples and turquoise to the control group, illustrating the distinctive expression patterns between the two groups, with red representing high-level expression and green representing low-level circRNA expression; B — volcano plot diagram demonstrates DECs, highlighting the relationship between statistical significance and fold change. Red dots indicate an increase in expression level, blue dots denote a decrease in expression level, and gray dots designate no significant differential expression. This visual representation summarizes the magnitude and significance of the expression changes of the circRNAs analyzed

hsa_circ_0002762, hsa_circ_0075341, hsa_circ_0081672, hsa_circ_0031027, hsa_circ_0065898, hsa_circ_0046290, hsa_circ_0070190 и hsa_circ_0027821. Информация о кандидатных циркРНК приведена в таблице 2.

РРi и идентификация взаимодействий циркРНК-миРНК

Используя базу данных CircInteractome и circBank и учитывая параметры «контекст + процентиль оцен-

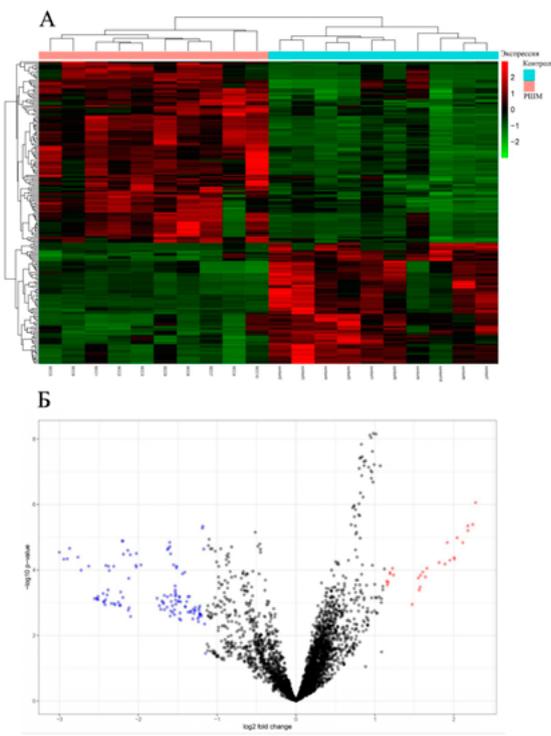


Рисунок 2. Профиль экспрессии и кластерный анализ микроРНК (миРНК) в образцах плоскоклеточного рака шейки матки (РШМ) и образцах нормального эпителия шейки матки (контрольная группа) из базы данных GSE30656. А — тепловая карта иллюстрирует значения экспрессии дифференциально экспрессируемых микроРНК (ДЭМ). Цветовая схема назначает розовый цвет образцам РШМ, а бирюзовый цвет — контрольной группе, эффективно отображая отличительные закономерности экспрессии между двумя группами, где красный цвет — это высокий уровень экспрессии, зеленый цвет — низкий уровень экспрессии миРНК; Б — volcano plot диаграмма демонстрирует ДЭМ, подчеркивая взаимосвязь между статистической значимостью и кратностью изменения. Красные точки указывают на увеличение уровня экспрессии, синие точки — снижение уровня экспрессии, а серые точки — отсутствие значимой дифференциальной экспрессии. Это визуальное представление кратко передает масштабы и значимость изменений экспрессии анализируемых миРНК

Figure 2. Expression profile and cluster analysis of microRNAs (miRNA) in cervical squamous cell carcinoma (cervical cancer) samples and cervical normal epithelium samples (control group) from the GSE30656 database. A — heat map illustrates the expression values of differentially expressed microRNAs (DEMs). The color scheme assigns pink to cervical cancer samples and turquoise to the control group, illustrating the distinctive expression patterns between the two groups, with red representing high-level expression and green representing low-level miRNA expression; B — volcano plot diagram demonstrates DEMs, highlighting the relationship between statistical significance and fold change. Red dots indicate an increase in expression level, blue dots denote a decrease in expression level, and gray dots designate no significant differential expression. This visual representation summarizes the magnitude and significance of the expression changes of the miRNAs analyzed

ки ≥ 90 », мы идентифицировали 99 целевых миРНК для этих 10 циркРНК. Используя эти 99 предсказанных миРНК из баз данных для выбора миРНК мишеней, с пересечением с 144 ДЭМ, полученными из набора данных GSE30656, мы, наконец, получили 22 целевые миРНК с низким уровнем экспрессии, включая также те миРНК, которые имеют перекрестные связи из базы данных CircInteractome и circBank с кандидатными циркРНК: hsa-miR-145, hsa-miR-494, hsa-miR-876-3p,

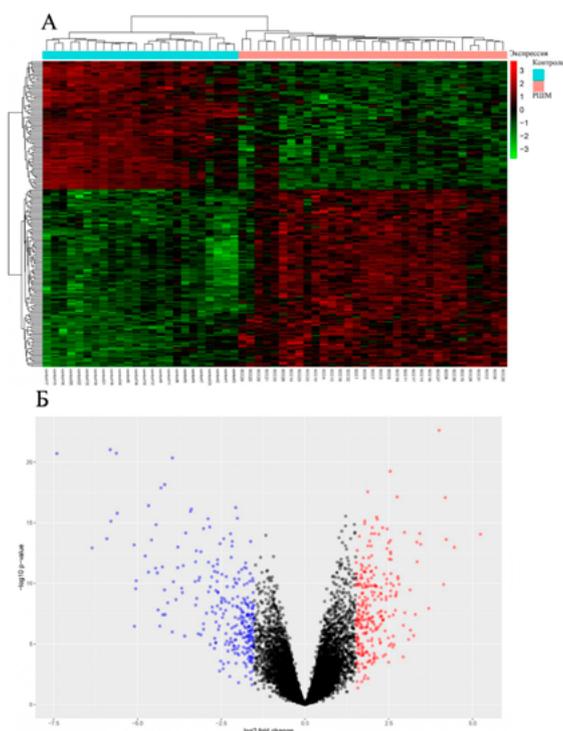


Рисунок 3. Профиль экспрессии и кластерный анализ генов-мишеней в образцах плоскоклеточного рака шейки матки (РШМ) и образцах нормального эпителия шейки матки (контрольная группа) из базы данных GSE9750. А — тепловая карта иллюстрирует значения экспрессии дифференциально экспрессируемых генов-мишеней (ДЭГ). Цветовая схема назначает розовый цвет образцам РШМ, а бирюзовый цвет — контрольной группе, эффективно отображая отличительные закономерности экспрессии между двумя группами, где красный цвет — это высокий уровень экспрессии, зеленый цвет — низкий уровень экспрессии генов-мишеней; Б — volcano plot диаграмма демонстрирует ДЭГ, подчеркивая взаимосвязь между статистической значимостью и кратностью изменения. Красные точки указывают на увеличение уровня экспрессии, синие точки — снижение уровня экспрессии, а серые точки — отсутствие значимой дифференциальной экспрессии. Это визуальное представление кратко передает масштабы и значимость изменений экспрессии анализируемых генов-мишеней

Figure 3. Expression profile and cluster analysis of target genes in cervical squamous cell carcinoma (cervical cancer) samples and cervical normal epithelium samples (control group) from the GSE9750 database. A — heat map illustrates the expression values of differentially expressed target genes (DEGs). The color scheme assigns pink to cervical cancer samples and turquoise to the control group, illustrating the distinctive expression patterns between the two groups, with red representing high-level expression and green representing low-level expression of target genes; B — volcano plot diagram demonstrates DEGs, highlighting the relationship between statistical significance and fold change. Red dots indicate an increase in expression level, blue dots denote a decrease in expression level, and gray dots designate no significant differential expression. This visual representation summarizes the magnitude and significance of the expression changes of the target genes analyzed

hsa-miR-182, hsa-miR-520g, hsa-miR-520h, hsa-miR-874, hsa-miR-1252, hsa-miR-579, hsa-miR-1256, hsa-miR-766, hsa-miR-146b-3p, hsa-miR-576-3p, hsa-miR-758, hsa-miR-513a-5p, hsa-miR-1229, hsa-miR-224, hsa-miR-338-5p, hsa-miR-567, hsa-miR-623, hsa-miR-370 и hsa-miR-638. 7 миРНК (hsa-miR-145, hsa-miR-494, hsa-miR-182, hsa-miR-224, hsa-miR-623, hsa-miR-370 и hsa-miR-638) из данных 22 миРНК имели совпадение циркРНК — миРНК взаимодействия как из базы данных CircInteractome и circBank, так и из набора данных GSE30656.

Идентификация взаимодействий миРНК — мРНК

Далее три алгоритма прогнозирования целей, такие как TargetScan (https://www.targetscan.org/vert_80/), miRDB (<https://mirdb.org/custom.html>) и RNA22 (<https://cm.jefferson.edu/rna22/>), были использованы для предсказания потенциальной целевой взаимосвязи между

найденными миРНК и 3'-НТО областями мРНК генов-мишеней. Используя информацию из этих баз данных о взаимодействиях предсказанных 22 миРНК с 3'-НТО областями мРНК генов-мишеней, с пересечением с 539 ДЭГ, полученными из набора данных GSE9750, мы получили 68 целевых генов с различным уровнем экспрессии: MPZL2, NAV3, ANGPT2, COL11A1, MEST, MXD1, TRPS1, KIF20A FNDC3B, BNIP3, EGR3, HBE-GF, MAGEL2, CRISP3, DSG2, ZFP36, ENDOU, RRAGD, USP18, GJA1, RAPGEFL1, PKP1, IGF1, LPAR6, DKK2, GLTP, DLGAP5, CXCL9, PPP1R3C, CRABP2, RAB25, FUT8, STX11, KLK12, SERPINB13, CHL1, GREB1, DSG3, KAT2B, ARHGEF26, SNX10, PTGER3, SFRP1, PLK2, GOLM1, FN1, GPX3, CLN6, FOSB, SLC24A3, SERPINB2, PLOD2, MREG, ABCA8, CENPF, ID4, MECOM, SIX1, RRM2, PELI1, ELL2, SLC16A6, MEIS2, KLF4, NEK2, TM-PRSS11E, KRT14 и EVPL.

Название	Синоним	Тип	Локус	log2FC	Экспрессия
hsa_circ_0000745	hsa_circRNA_101996	Экзогенная	chr17	2,888156	Повышена
hsa_circ_0084927	hsa_circRNA_104651	Экзогенная	chr8	2,460979	Повышена
hsa_circ_0002762	hsa_circRNA_101119	Экзогенная	chr12	2,263959	Повышена
hsa_circ_0075341	hsa_circRNA_104034	Экзогенная	chr5	2,100263	Повышена
hsa_circ_0081672	hsa_circRNA_104443	Экзогенная	chr7	2,026888	Повышена
hsa_circ_0031027	hsa_circRNA_101308	Экзогенная	chr13	-4,28537	Понижена
hsa_circ_0065898	hsa_circRNA_103384	Экзогенная	chr3	-3,14143	Понижена
hsa_circ_0046290	hsa_circRNA_102233	Экзогенная	chr17	-3,08777	Понижена
hsa_circ_0070190	hsa_circRNA_103677	Экзогенная	chr4	-2,86064	Понижена
hsa_circ_0027821	hsa_circRNA_101120	Экзогенная	chr12	-2,55786	Понижена

Таблица 2. Кандидатные циркулярные РНК (циркРНК) при раке шейки матки (РШМ)
Table 2. Candidate circular RNAs (circRNA) in cervical cancer (CC)

PPI и построение регуляторной сети «циркРНК — миРНК — мРНК»

Мы объединили пары «циркРНК — миРНК» и «миРНК — мРНК», чтобы реконструировать регуляторную сеть «циркРНК — миРНК — мРНК» при РШМ. Регуляторная сеть «циркРНК — миРНК — мРНК», или сеть PPI, была визуализирована с использовани-

ем программы Cytoscape (версия 3.10.1). Известно, что циркРНК играют роль в экспрессии генов, поскольку они могут частично ингибировать активность микроРНК. Они связываются с микроРНК, как губка, и действуют как конкурирующая эндогенная РНК, регулируя функцию целевой микроРНК, тем самым косвенно воздействуя на уровни мРНК. Поэтому, учитывая вышеизложенные результаты, мы пришли к окончательному выбору целевых циркРНК и их миРНК с мРНК генов-мишенями. В частности, были выбраны 3 циркРНК из 10 кандидатных (hsa_circ_0000745, hsa_circ_0084927 и hsa_circ_0002762) с повышенным уровнем экспрессии, 6 миРНК из 22 кандидатных (hsa-miR-145, hsa-miR-876-3p, hsa-miR-1229, hsa-miR-182, hsa-miR-520h и hsa-miR-1252) с пониженным уровнем экспрессии и 9 генов из 68 кандидатных (ANGPT2, COL11A1, MEST, KIF20A, CLN6, FNDC3B, USP18, DLGAP5 и CXCL9) с повышенным уровнем экспрессии. Предварительная и окончательная регуляторные сети «циркРНК — миРНК — мРНК» представлена на рисунках 4 и 5. Эти взаимодействия между циркРНК, миРНК и мРНК генов могут дать новое понимание механизма, лежащего в основе онкогенеза РШМ и внеклеточных коммуникаций через передачу циркулирующих РНК молекул в составе ВВ.

Анализ обогащения функций GO и KEGG

Для обнаружения потенциальных функций hsa_circ_0000745, hsa_circ_0084927 и hsa_circ_0002762 использовали 9 ключевые генов, включая анализ обогащения GO и анализ пути KEGG. При анализе GO, включая БП, КК и МФ, мы получили 30 результатов для 9 ДЭГ (при БП были 8 ДЭГ из 9). При анализе пути KEGG мы получили 12 результатов для 4 ДЭГ. В таблице 3 показана полная информация каждого обнаруженного кластера GO и для путей KEGG. Количество — это количество генов, соответствующих базе данных путей, а % — процент совпадений генов среди общего числа генов в базе данных путей. Кратное обогащение (англ. Fold enrichment) определяется как процент генов в общем списке, принадлежащих к сигнальному пути, разделенный на соответствующий процент в фоновом режиме. Кратное обогащение показывает, насколько сильно представлены гены определенного сигнального пути. Популяционное попадание (англ. Pop Hits) показывает, сколько генов имеет название функции в интересующем в списке генов, а общее количество популяций (англ. Pop Total) показывает, сколько генов в общей популяции имеют это название функции в фоновом геноме (все гены интересующего вида в базе данных DAVID). Значения p были проанализированы с использованием точного показателя Фишера. Данные считались значимыми, если $p < 0,05$ или $p < 0,001$. Результаты GO анализа показали, что изменения БП 8 ДЭГ были значительно обогащены визуальном восприятии, преобразованием сигнала, негативной регуляцией сигнального пути, опосредованного интерфероном I типа, организацией митотического веретена, развитием мезодермы, транспортом белка, негативной регуляцией ангиогенеза, метаболическим процессом

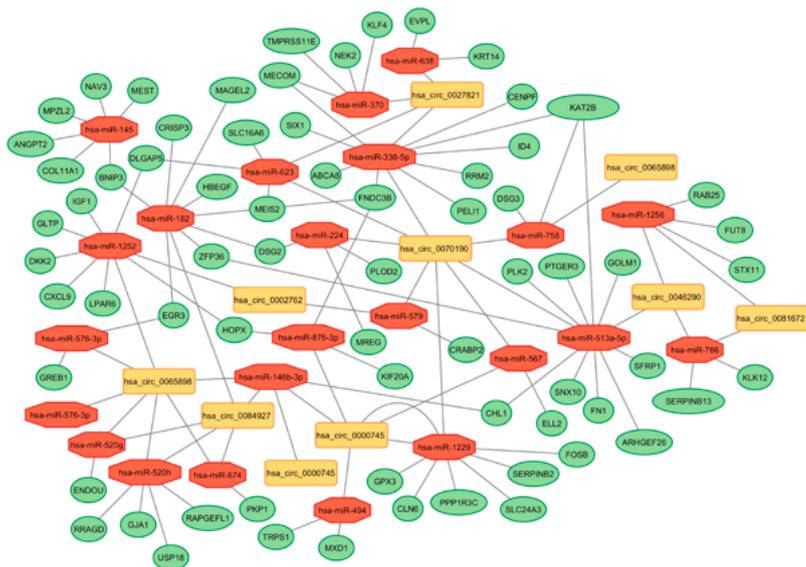


Рисунок 4. Анализ предварительной регуляторной сети взаимодействия циркулярных РНК (циркРНК) — микроРНК (миРНК) — матричной РНК (мРНК) генов-мишеней при раке шейки матки (РШМ). Эта визуализация дает представление о сложной сети взаимодействий между идентифицированными циркРНК, миРНК и генами-мишенями, обеспечивая всесторонний обзор их регуляторных взаимоотношений в контексте онкогенеза РШМ. Желтый цвет — циркРНК; красный цвет — миРНК; зеленый цвет — гены-мишени

Figure 4. Analysis of the preliminary circRNA-miRNA-mRNA regulatory network of target genes in cervical cancer (CC). This imaging provides insight into the complex network of interactions between the identified circRNAs, miRNAs, and target genes, providing a comprehensive overview of their regulatory relationships in the context of CC oncogenesis. Yellow — circRNA; red — miRNA; green — target genes

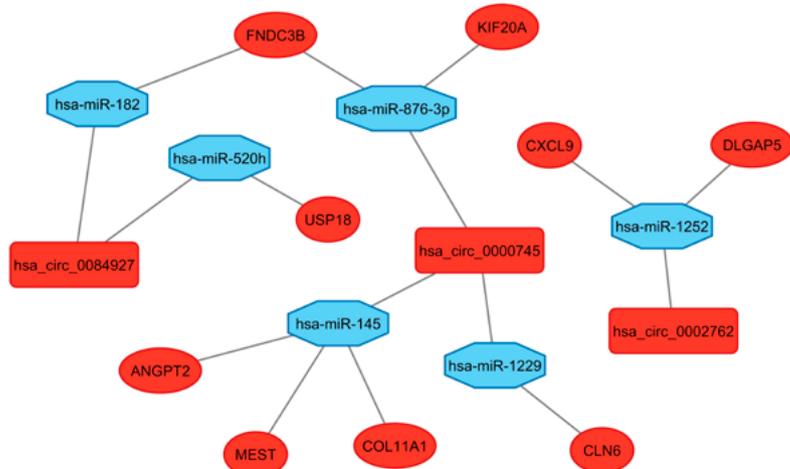


Рисунок 5. Анализ окончательной регуляторной сети взаимодействия циркулярных РНК (циркРНК) — микроРНК (миРНК) — матричной РНК (мРНК) генов-мишеней при раке шейки матки (РШМ). Красный цвет — повышенный уровень экспрессии, синий цвет — пониженный уровень экспрессии

Figure 5. Analysis of the final circRNA-miRNA-mRNA regulatory network of target genes in cervical cancer (CC). Red — increased expression level, blue — decreased expression level

Гены	Количество	KEGG ID	Термины	%	Pop Hits	Pop Total	Кратное обогащение	Значение p
CXCL9	1	hsa04060	Взаимодействие цитокинов и цитокиновых рецепторов	11,1	297	8644	7,27	0,03
CXCL9	1	hsa04061	Взаимодействие вирусного белка с цитокином и цитокиновым рецептором	11,1	100	8644	21,61	0,03
CXCL9	1	hsa04062	Сигнальный путь хемокинов	11,1	192	8644	11,25	0,024
CXCL9	1	hsa04620	Сигнальный путь Toll-подобного рецептора	11,1	108	8644	20,0	0,011
COL11A1	1	hsa04974	Переваривание и абсорбция белков	11,1	103	8644	20,98	0,038
ANGPT2	1	hsa04014	Сигнальный путь Ras	11,1	236	8644	9,156	0,01
ANGPT2	1	hsa04151	Сигнальный путь PI3K-Akt	11,1	359	8644	6,019	< 0,001
ANGPT2	1	hsa04015	Сигнальный путь Rap1	11,1	210	8644	10,29	0,049
ANGPT2	1	hsa05167	Герпесвирусная инфекция, ассоциированная с саркомой Капоши	11,1	194	8644	11,13	0,05
ANGPT2	1	hsa04066	Сигнальный путь HIF-1	11,1	109	8644	19,8	< 0,001
ANGPT2	1	hsa04010	Сигнальный путь MAPK	11,1	301	8644	7,17	0,012
KIF20A	1	hsa04814	Моторные белки	11,1	193	8644	11,19	0,041

Таблица 3. Анализ Киотской энциклопедии генов и геномов (KEGG)
Table 3. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) analysis

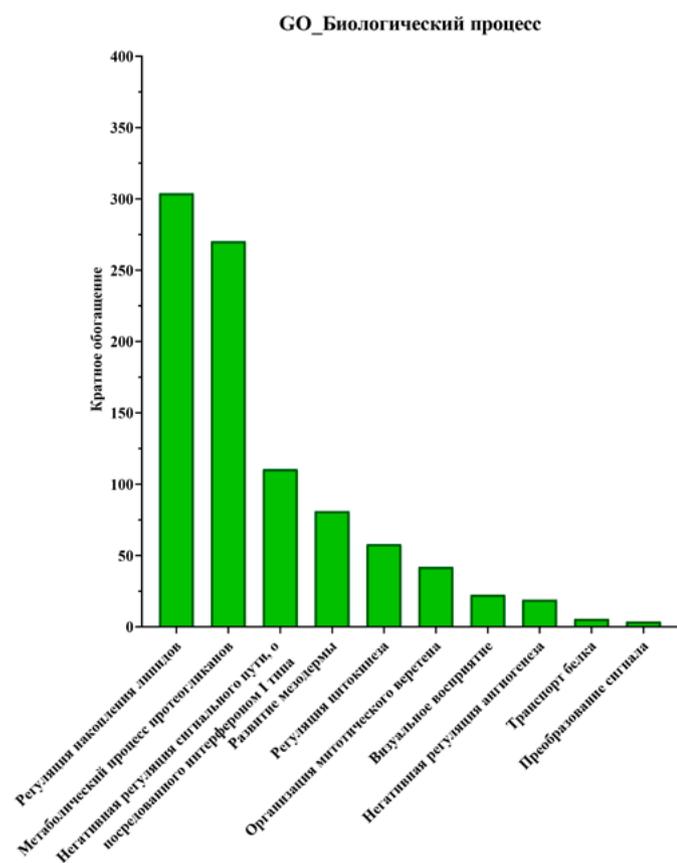


Рисунок 6. Анализ Онтологии генов (GO) для 8 дифференциально экспрессируемых генов-мишеней (ДЭГ) из 9, обогащенных клеточным компонентом биологическим процессом (БП)
Figure 6. Gene Ontology (GO) analysis for 8 differentially expressed target genes (DEGs) of 9, enriched in biological process

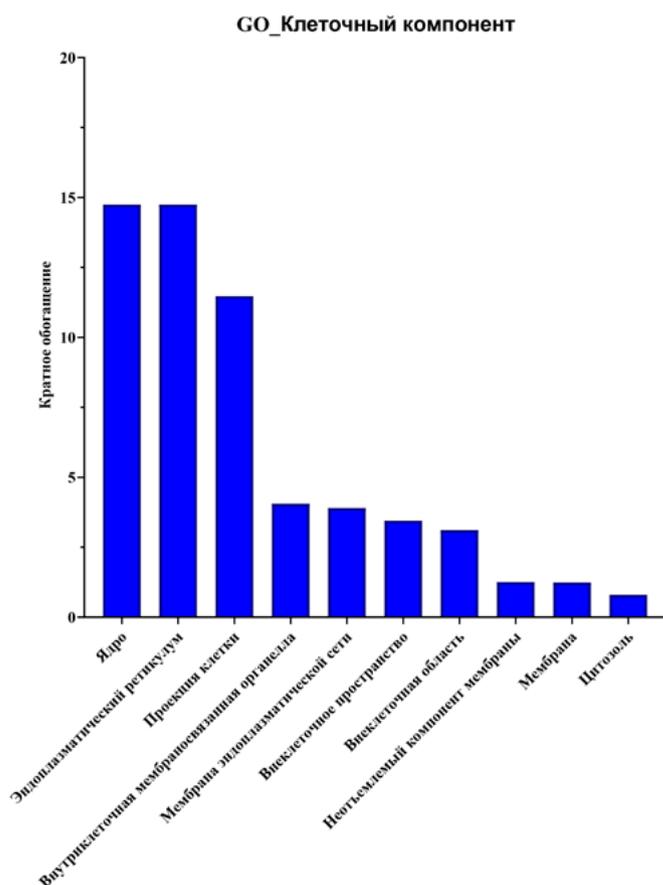


Рисунок 7. Анализ Онтологии генов (GO) для 9 дифференциально экспрессируемых генов-мишеней (ДЭГ) из 9, обогащенных клеточным компонентом (КК)
Figure 7. Gene Ontology (GO) analysis for 9 differentially expressed target genes (DEGs) of 9, enriched in cellular component

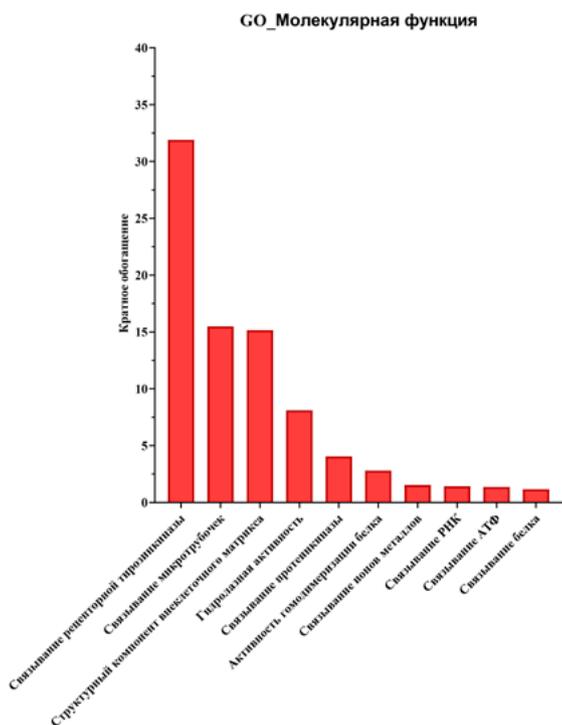


Рисунок 8. Анализ Онтологии генов (GO) для 9 дифференциально экспрессируемых генов-мишеней (ДЭГ) из 9, обогащенных молекулярной функцией (МФ)
Figure 8. Gene Ontology (GO) analysis for 9 differentially expressed target genes (DEGs) of 9, enriched in molecular function

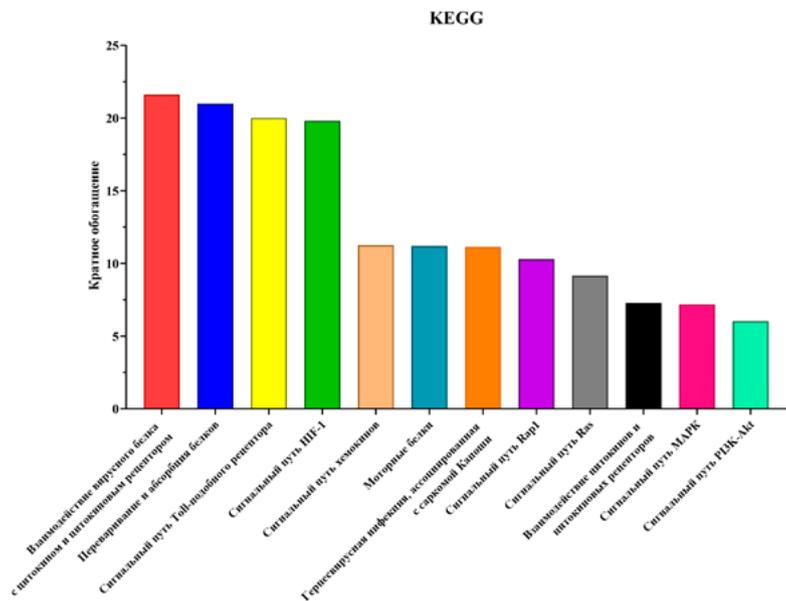


Рисунок 9. Анализ путей Киотской энциклопедии генов и геномов (KEGG) для 4 дифференциально экспрессируемых генов-мишеней (ДЭГ) из 9, обогащенных 12 ключевыми сигнальными путями
Figure 9. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway analysis for 4 differentially expressed target genes (DEGs) out of 9, enriched in 12 key signalling pathways

протеогликанов, регуляцией цитокинеза и регуляцией накопления липидов (рис. 6).
 Изменения КК 9 ДЭГ касались преимущественно ядра, внеклеточного пространства, внеклеточной области,

неотъемлемого компонента мембраны, эндоплазматического ретикулума, внутриклеточной мембрано-связанной органеллы, мембраны эндоплазматической сети, мембран, цитозоли и проекции клетки (рис. 7).
 Изменения МФ в основном касались связывания белка, микротрубочек, ионов металлов, РНК, АТФ, протеинкиназ, рецепторной тирозинкиназы, а также гидролазной активности, структурных компонентов внеклеточного матрикса и активности гомодимеризации белка (рис. 8).

Анализ пути KEGG показал, что 4 ДЭГ в основном были обогащены взаимодействием цитокинов и цитокиновых рецепторов, взаимодействием вирусного белка с цитокином и цитокиновым рецептором, сигнальными путями хемокинов, Toll-подобного рецептора, перевариванием и абсорбцией белков, сигнальными путями Ras, PI3K-Akt, Rap1, герпесвирусной инфекцией, ассоциированной с саркомой Капоши, сигнальными путями HIF-1, MAPK и моторными белками (рис. 9).
 В сигнальных путях, связанных с опухолью, анализ KEGG показал, что ANGPT2 и CXCL9 включены в большинство сигнальных путей, в том числе в хорошо изученные сигнальные пути, участвующие в онкогенезе РШМ, сигнальные пути Ras, PI3K-Akt, Rap1, HIF-1, MAPK, Toll-подобного рецептора и воспалительного процесса.

ОБСУЖДЕНИЕ

РШМ — распространенная гинекологическая опухоль. По уровню заболеваемости и смертности среди женских злокачественных опухолей занимает четвертое место в мире, уступая только раку молочной железы (РМЖ), колоректальному раку и раку легких. РШМ является одним из видов рака, который можно предотвратить с помощью скрининга [1–3]. Благодаря широкой популярности скрининга заболеваемость РШМ снижается с каждым годом. Однако, поскольку ранний РШМ не имеет симптомов, многие пациентки на момент постановки диагноза уже находятся на средней и поздних стадиях заболевания. При этом методы лечения пациентов на средней и поздних стадиях ограничены, а терапевтический эффект лучевой и химиотерапии не является удовлетворительным [16]. Поэтому есть необходимость в поиске новых молекулярных биомаркеров и терапевтических мишеней. Широкое применение баз данных биоинформатики способствовало открытию новых диагностических и терапевтических инструментов при онкологических заболеваниях, в том числе РШМ [17].

Достижения в области аналитических методов и биоинформатики открывают широкий спектр для проведения практических фундаментальных исследований. Биоинформатический анализ теперь можно проводить на любом биологическом образце (ткани или биологические жидкости). Каждый тип образца представляет собой потенциальный источник диагностических и прогностических биомаркеров и потенциальных терапевтических мишеней. Результаты, полученные нами в данном исследовании с использованием баз данных GEO, позволили идентифицировать новые циркулирующие

и их регуляторные сети «циркРНК — миРНК — мРНК», которые могут участвовать в развитии и прогрессировании РШМ. В настоящем исследовании мы получили исходный набор данных микрочипирования РШМ GSE102686 и идентифицировали 105 ДЭЦ, где 49 циркРНК имели повышенный уровень экспрессии и 56 циркРНК — пониженный уровень экспрессии. Впоследствии были определены 3 ключевые циркРНК: hsa_circ_0000745, hsa_circ_0084927 и hsa_circ_0002762. В предыдущем исследовании было обнаружено, что уровень экспрессии hsa_circ_0000745 в тканях рака желудка был связан с дифференцировкой опухоли [18]. Более того, авторы определили его потенциальную диагностическую ценность. Zhang и др. в совокупности указали, что ингибирование экспрессии hsa_circ_0000745 может подавлять рост опухоли и способствовать апоптозу клеток РМЖ, резистентных к лучевой терапии, по крайней мере частично, через регуляторную сеть miR-1236-3p-CBX8, подтверждая, что hsa_circ_0000745 может быть терапевтической мишенью для разработки таргетного препарата при РМЖ [19]. Кроме того, Jiao и др., продемонстрировали, что снижение экспрессии hsa_circ_0000745 ингибирует пролиферацию, миграцию и инвазию клеток РШМ за счет повышения экспрессии белка E-кадгерина *in vitro* [20]. На основании данных NGS и предварительной экспериментальной проверки исследование Chen и др., показало, что hsa_circ_0084927 значительно сверхэкспрессируется в тканях и клеточных линиях аденокарциномы толстой кишки [21]. Было выявлено, что hsa_circ_0084927 может способствовать пролиферации, миграции и инвазии опухолевых клеток. Кроме того, эффективно была сконструирована регуляторная has_circ_0084927/miR-106b-5p/VEGFA. Данная регуляторная сеть указывает на то, что hsa_circ_0084927 может влиять на прогноз посредством регуляции клеточного цикла, апоптоза и других сигнальных путей. Также Shi и др., показали, что hsa_circ_0084927 активируется при РШМ [22]. Высокая экспрессия hsa_circ_0084927 была связана со степенью злокачественности по классификации, утвержденной Международной федерацией акушеров и гинекологов (International Federation of Gynecology and Obstetrics, или FIGO), метастазами в лимфатические узлы и инвазией опухоли, что означает, что hsa_circ_0084927 может быть новым молекулярным биомаркером при РШМ. Снижение уровня экспрессии hsa_circ_0084927 уменьшало рост опухоли *in vivo* и вызывало остановку клеточного цикла, апоптоз, подавляло образование колоний, пролиферацию, инвазию и опухолевых миграцию клеток *in vitro*. В другой работе было продемонстрировано, что hsa_circ_0002762 был высоко экспрессирован в тканях и клетках РШМ [23]. Инактивация hsa_circ_0002762 уменьшала пролиферацию, миграцию и инвазию опухолевых клеток. Инактивация hsa_circ_0002762 подавляла пролиферацию, миграцию и инвазию клеток РШМ путем активации опухолевого супрессора miR-122-5p. Более того, ASF1B был геном-мишенью miR-122-5p. Дополнительно эксперименты на животных подтвердили противоопухолевый эффект инактивации hsa_circ_0002762.

Данные исследования показывают, что циркРНК представляет собой тип высокоэффективной конкурирующей эндогенной РНК (англ. competing endogenous RNAs, или ceRNAs). Они могут ингибировать связывание миРНК с 3'-НТО мРНК генов-мишеней и регулировать уровень экспрессии генов-мишеней, оказывая эффект «секвестрации» миРНК [9]. Чтобы определить, действуют ли вышеуказанные 3 циркРНК как ceRNAs при РШМ, с помощью базы данных GSE30656 и GSE9750, circBase, circBank, CircInteractome, TargetScan, miRDB и RNA22 были предсказаны ключевые миРНК и ключевые гены-мишени. Кроме того, благодаря сетевому анализу PPI и функциональному обогащению GO и анализу путей KEGG было идентифицировано 10 пар «циркРНК — миРНК — мРНК» (hsa_circ_0000745-hsa-miR-145-ANGPT2, hsa_circ_0000745-hsa-miR-145-COL11A1, hsa_circ_0000745-hsa-miR-145-MEST, hsa_circ_0000745-hsa-miR-876-3p-KIF20A, hsa_circ_0000745-hsa-miR-876-3p-FNDC3B, hsa_circ_0000745-hsa-miR-1229-CLN6, hsa_circ_0084927-hsa-miR-182-FNDC3B, hsa_circ_0084927-hsa-miR-520h-USP18, hsa_circ_0002762-hsa-miR-1252-DLGAP5 и hsa_circ_0002762-hsa-miR-1252-CXCL9). Было обнаружено, что hsa_circ_0000745, hsa_circ_0084927 и hsa_circ_0002762 активируются в тканях и клетках РШМ и в базе данных GSE102686, и эти результаты согласуются с предыдущими результатами. Примечательно, что гены-мишени регулируют ряд сигнальных путей, которые учувствуют в прогрессировании РШМ, а именно сигнальные пути Ras, PI3K-Akt, Rap1, HIF-1, MAPK, Toll-подобного рецептора и сигнальные пути воспалительного процесса, и эти пути требуют дальнейшего изучения [24–32].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данном исследовании мы продемонстрировали профиль экспрессии циркРНК в тканях РШМ и идентифицировали 3 ключевых циркРНК, дифференциально экспрессируемых между тканями РШМ и нормальным эпителием шейки матки. Мы также идентифицировали 6 ключевых миРНК и 9 мРНК генов-мишеней с дифференциальной экспрессией из общедоступной базы данных GEO. Затем была построена регуляторная сеть «циркРНК — миРНК — мРНК». Результаты этого исследования обеспечивают возможный молекулярный механизм онкогенеза РШМ. Дальнейшие и дополнительные экспериментальные исследования, раскрывающие функции этих циркРНК, которые участвуют в инвазии и метастазировании РШМ, откроют новую перспективу для диагностики, прогнозирования и лечения данной патологии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

- 1 Podwika S.E., Duska L.R. Top advances of the year: Cervical cancer. *Cancer*. 2023;129(5):657–63. DOI: 10.1002/cncr.34617
- 2 Robinson E.F., Darby J.P., Moulder J.K. Cervical cancer screening: missed opportunities in a one-track model. *Int J Gynecol Cancer*. 2023;33(4):646. DOI: 10.1136/ijgc-2023-004311
- 3 Sokale I.O., Thrift A.P., Montealegre J., Adekanmbi V., Chido-Amajuoyi O.G., Amuta A., et al. Geographic variation in late-stage cervical cancer diagnosis. *JAMA Netw Open*. 2023;6(11):e2343152. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2023.43152

- 4 Martínez-Rodríguez F, Limones-González J.E., Mendoza-Almanza B., Esparza-Ibarra E.L., Gallegos-Flores P.I., Ayala-Luján J.L., et al. Understanding cervical cancer through proteomics. *Cells*. 2021;10(8):1854. DOI: 10.3390/cells10081854
- 5 Elias M.H., Das S., Abdul Hamid N. Candidate genes and pathways in cervical cancer: a systematic review and integrated bioinformatic analysis. *Cancers (Basel)*. 2023;15(3):853. DOI: 10.3390/cancers15030853
- 6 Wu B., Xi S. Bioinformatics analysis of differentially expressed genes and pathways in the development of cervical cancer. *BMC Cancer*. 2021;21(1):733. DOI: 10.1186/s12885-021-08412-4
- 7 Han Y.H., Ma D.Y., Lee S.J., Mao Y.Y., Sun S.Y., Jin M.H., et al. Bioinformatics analysis of novel targets for treating cervical cancer by immunotherapy based on immune escape. *Cancer Genomics Proteomics*. 2023;20(4):383–97. DOI: 10.21873/cgp.20390
- 8 Zhu G., Xiong Z., Chen W., Zhu Z., Wang W. Identification of key biomarkers and related immune cell infiltration in cervical cancer tissue based on bioinformatics analysis. *Sci Rep*. 2023;13(1):10121. DOI: 10.1038/s41598-023-37346-z
- 9 Beilerli A., Gareev I., Beylerli O., Yang G., Pavlov V., Aliev G., et al. Circular RNAs as biomarkers and therapeutic targets in cancer. *Semin Cancer Biol*. 2022;32:242–52. DOI: 10.1016/j.semcancer.2020.12.026
- 10 Sufianov A., Begliarzade S., Beilerli A., Liang Y., Ilyasova T., Beylerli O. Circular RNAs as biomarkers for lung cancer. *Noncoding RNA Res*. 2022;8(1):83–8. DOI: 10.1016/j.ncrna.2022.11.002
- 11 Beilerli A., Begliarzade S., Sufianov A., Ilyasova T., Liang Y., Beylerli O. Circulating oIRS-7 as a potential non-invasive biomarker for epithelial ovarian cancer: An investigative study. *Noncoding RNA Res*. 2022;7(3):197–204. DOI: 10.1016/j.ncrna.2022.07.004
- 12 Begliarzade S., Sufianov A., Ilyasova T., Shumadalova A., Sufianov R., Beylerli O., Yan Z. Circular RNA in cervical cancer: Fundamental mechanism and clinical potential. *Noncoding RNA Res*. 2023 Nov 18;9(1):116–124. DOI: 10.1016/j.ncrna.2023.11.009.
- 13 Zhang P., Chen M. Circular RNA Databases. *Methods Mol Biol*. 2021;2362:109–18. DOI: 10.1007/978-1-0716-1645-1_7
- 14 Panda A.C., Dudekula D.B., Abdelmohsen K., Gorospe M. Analysis of circular RNAs using the web tool circinteractome. *Methods Mol Biol*. 2018;1724:43–56. DOI: 10.1007/978-1-4939-7562-4_4
- 15 Luna Buitrago D., Lovering R.C., Caporali A. Insights into online microRNA bioinformatics tools. *Noncoding RNA*. 2023;9(2):18. DOI: 10.3390/ncrna9020018
- 16 Soares L.C., de Souza R.J., Oliveira M.A.P. Reviewing FIGO 2018 cervical cancer staging. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2023;102(12):1757–8. DOI: 10.1111/aogs.14667
- 17 Li K., Du Y., Li L., Wei D.Q. Bioinformatics approaches for anti-cancer drug discovery. *Curr Drug Targets*. 2020;21(1):3–17. DOI: 10.2174/1389450120666190923162203
- 18 Huang M., He Y.R., Liang L.C., Huang Q., Zhu Z.Q. Circular RNA hsa_circ_0000745 may serve as a diagnostic marker for gastric cancer. *World J Gastroenterol*. 2017;23(34):6330–8. DOI: 10.3748/wjg.v23.i34.6330
- 19 Zhang C., Wang J., Wang H., Li J. Interference of the circular RNA sperm antigen with calponin homology and coiled-coil domains 1 suppresses growth and promotes apoptosis of breast cancer cells partially through targeting miR-1236-3p/Chromobox 8 pathway. *Clin Breast Cancer*. 2024;24(3):e138–51.e2. DOI: 10.1016/j.clbc.2023.11.009
- 20 Jiao J., Zhang T., Jiao X., Huang T., Zhao L., Ma D., et al. hsa_circ_0000745 promotes cervical cancer by increasing cell proliferation, migration, and invasion. *J Cell Physiol*. 2020;235(2):1287–95. DOI: 10.1002/jcp.29045
- 21 Chen Y., Ling C., Xu Y., Liu J., Tang W. Evaluation of diagnostic and prognostic value of hsa_circ_0084927 and analysis of associated ceRNA network in colorectal cancer. *Int J Gen Med*. 2022;15:4357–77. DOI: 10.2147/IJGM.S355043
- 22 Shi P., Zhang X., Lou C., Xue Y., Guo R., Chen S. Hsa_circ_0084927 regulates cervical cancer advancement via regulation of the miR-634/TPD52 Axis. *Cancer Manag Res*. 2020;12:9435–48. DOI: 10.2147/CMAR.S272478
- 23 Qiu F., Ou D., Tan H., Gao Y., Zi D. The circCDK17/miR-122-5p/ASF1B axis regulates the progression of cervical cancer. *Histol Histopathol*. 2023;38(3):359–71. DOI: 10.14670/HH-18-527
- 24 Bai H., Song M., Jiao R., Li W., Zhao J., Xiao M., et al. DUSP7 inhibits cervical cancer progression by inactivating the RAS pathway. *J Cell Mol Med*. 2021;25(19):9306–18. DOI: 10.1111/jcmm.16865
- 25 Bhattacharjee R., Das S.S., Biswal S.S., Nath A., Das D., Basu A., et al. Mechanistic role of HPV-associated early proteins in cervical cancer: Molecular pathways and targeted therapeutic strategies. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2022;174:103675. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2022.103675
- 26 Yang D., Fan L., Song Z., Fang S., Huang M., Chen P. The KMT1A/TIMP3/PI3K/AKT circuit regulates tumor growth in cervical cancer. *Reprod Biol*. 2022;22(3):100644. DOI: 10.1016/j.repbio.2022.100644
- 27 Lee J.W., Lee J., Moon E.Y. HeLa human cervical cancer cell migration is inhibited by treatment with dibutyryl-cAMP. *Anticancer Res*. 2014;34(7):3447–55.
- 28 Mokoala K.M.G., Lawal I.O., Maserumule L.C., Bida M., Maes A., Ndlovu H., et al. Correlation between [68Ga]Ga-FAPI-46 PET Imaging and HIF-1 α Immunohistochemical Analysis in Cervical Cancer: Proof-of-Concept. *Cancers (Basel)*. 2023;15(15):3953. DOI: 10.3390/cancers15153953
- 29 Fan Y., Wang Y., Liu F., Wang H., Li Q. SEC61G promotes cervical cancer proliferation by activating MAPK signaling pathway. *Dis Markers*. 2022;2022:7016079. DOI: 10.1155/2022/7016079
- 30 Chandrasekar S.A., Palaniyandi T., Parthasarathy U., Surendran H., Viswanathan S., Wahab M.R.A., et al. Implications of Toll-like receptors (TLRs) and their signaling mechanisms in human cancers. *Pathol Res Pract*. 2023;248:154673. DOI: 10.1016/j.prp.2023.154673
- 31 Kang M., Qiu J., Wei H., Li J. A bibliometric analysis of global research trends of inflammation in cervical cancer: A review. *Medicine (Baltimore)*. 2023;102(49):e36598. DOI: 10.1097/MD.00000000000036598
- 32 Zheng Y., Liu J., Beeraka N.M., Manogaran P., Vikram P.R.H., Yin L.D., et al. Inflammation and stem cell stochasticity of HPV-induced cervical cancer: epigenetics based biomarkers through microbiome and metabolome for personalized medicine: a systematic review. *Curr Med Chem*. 2023 Nov 24. DOI: 10.2174/0109298673257429231108072717