

MICRO-RNAs E CÂNCER: ABORDAGENS E PERSPECTIVAS

MICRORNAs AND CANCER: APPROACHES AND PERSPECTIVES

Amanda Coelho Chamorro¹, Eliane Papa Ambrosio-Albuquerque², Valter Augusto Della Rosa³

Resumo

Introdução: Diversos estudos foram realizados a fim de compreender a relação entre o micro-RNA e o câncer na última década. Os micro-RNAs possuem aproximadamente 22 nucleotídeos distribuídos em um filamento único que pode regular a expressão de genes em diversos tipos de células, exercendo papéis fundamentais na diferenciação tecidual, ciclo celular, proliferação e apoptose. **Objetivo:** Esta revisão tem por finalidade compreender o papel dos micro-RNAs no câncer. Alguns estudos vêm destacando a importância dos micro-RNAs, tanto na degradação de RNAs mensageiros, como na repressão da tradução e, constata-se que a desregulação destes microRNAs pode estar relacionada à diversas patologias, particularmente o câncer. Situados em regiões com altas probabilidades de mutações, os microRNAs localizados em sítios frágeis estão mais propensos a sofrerem alterações. Estudos descreveram a respeito da expressão diferencial de microRNAs em diversos tipos de câncer, associando genes que codificam microRNAs com as regiões relacionadas ao câncer ou sítios frágeis. A desregulação de sua expressão pode ativar oncogenes e inativar genes supressores de tumor, contribuindo assim para o desenvolvimento do câncer. Desta forma, pode-se afirmar que os micro-RNAs atuam na gênese do câncer. **Considerações finais:** O avanço da tecnologia da biologia molecular permitiu a utilização dos micro-RNAs como potenciais biomarcadores para o diagnóstico precoce, contribuindo também para o prognóstico e terapêutica do câncer.

Palavras-chave: Patologias. Câncer. Oncogene. Expressão gênica.

Abstract

Introduction: In the last few years, several studies have been performed for a better understanding of the relationship between microRNA and cancer. MicroRNA has approximately 22 nucleotides distributed in a single filament, which regulate gene expression in many cell types, performing key roles in tissue differentiation, cell cycle, proliferation and apoptosis. **Objective:** To understand the key roles of microRNAs in cancer. Recently, some studies have reported the importance of microRNAs in messenger RNA degradation and in translation repression. In addition, it was found that microRNA deregulation may be related to many diseases, particularly cancer. Situated in regions with high probability of mutations, microRNAs located at fragile sites are more likely to change. Several studies have found differential expression of microRNAs in many types of cancers, associating genes that encode microRNAs with cancer-related regions or fragile sites. Expression deregulation of microRNAs can activate oncogenes and inactivate tumor suppressor genes, contributing to the development of cancer. Thus, it can be stated that microRNAs play an important role in cancer genesis. **Conclusion:** Technological advances in the molecular biology allow microRNAs to be potential biomarkers for early diagnosis, also contributing to cancer prognosis and therapy.

Keywords: Pathologies. Cancer. Oncogene. Gene expression.

Introdução

O RNA é uma molécula de fita simples, contendo sequências de bases transcritas a partir de moldes de DNA, com funções específicas. Dentre os tipos de RNA podemos citar: o RNA mensageiro (mRNA), o RNA transportador (tRNA) e o RNA ribossômico (rRNA). Além destes, há outros tipos de RNA que não participam diretamente na síntese de proteínas, como os RNAs não codificantes (ncRNA, non-coding RNA), que apresentam funções específicas. São eles: o *small nuclear* RNA (snRNA), o *small nucleolar* RNAs (snoRNAs), o *small interfering* RNA (siRNA) e; em especial, os micro-RNAs. Os micro-RNAs não têm participação direta na tradução de proteínas, porém, apresentam papel extremamente importante, e significativo, na regulação de genes das células eucariotas¹.

Os microRNAs possuem em média entre 17 a 25

nucleotídeos distribuídos em um filamento único. Provenientes de regiões não-codificantes (íntrons), os micro-RNAs tem papel na regulação gênica, sendo fundamental para a diferenciação tecidual, ciclo celular, proliferação e apoptose. Há inúmeras evidências de que eles são essenciais na regulação, desenvolvimento e homeostase celular, tendo controle de diversos processos metabólicos e também do mRNA²⁻⁴.

Além destes processos celulares vitais, os micro-RNAs participam em outras atividades celulares, como a secreção de insulina, resposta imune, síntese de neurotransmissores, replicação viral e metabolismo lipídico entre outros^{3,5}.

Recentemente constatou-se que a desregulação na expressão dos microRNAs está relacionada à diversas patologias em humanos, como doenças neurodegenerativas, problemas cardíacos, e em vários tipos de câncer⁶.

¹ Especialista em Biotecnologia, Departamento de Biotecnologia, Biologia Celular e Genética, Universidade Estadual de Maringá - UEM.

² Doutora em Genética, Professora Colaboradora do Departamento de Biotecnologia, Biologia Celular e Genética, Universidade Estadual de Maringá - UEM.

³ Doutor em Genética, Professor Associado do Departamento de Biotecnologia, Biologia Celular e Genética, Universidade Estadual de Maringá - UEM. Contato: Valter Augusto Della Rosa. E-mail: vadrosa@uem.br

O conhecimento sobre os micro-RNAs tem servido de base para elucidação da etiopatogenia de diversas doenças. Além disso, tem propiciado aplicações para diagnóstico, prognóstico e terapia do câncer⁷.

Biogênese dos micro-RNAs

Os microRNAs são filamentos únicos provenientes da transcrição de genes presentes no DNA, usualmente transcritos à partir de íntrons ou regiões não-codificantes pela RNA polimerase II, produzindo então o microRNA primário (pri-miRNA) que apresenta uma extremidade *cap* na porção 5' e uma cauda poli (A) na porção 3'. No núcleo, o pri-miRNA é clivado pela RNase III, (enzima *Drosha*) e seu cofator *DGCR8* (*DiGeorge syndrome critical region gene 8*), produzindo um ou mais precursores de microRNAs chamados de pre-miRNA. O pre-miRNA geralmente apresenta de 70 a 90 nucleotídeos em sua cadeia e uma estrutura secundária não pareada que forma uma alça (*hairpin*), que confere formato similar a um grampo^{1,3}.

O pre-miRNA é reconhecido pela proteína exportina-5 que o transporta para o citoplasma onde uma segunda RNase III (*Dicer*), faz a clivagem que elimina a alça, surgindo então uma cadeia de fita dupla de miRNA, contendo uma fita de miRNA maduro e sua fita complementar, possuindo cerca de 22 pares de nucleotídeos⁸.

Uma das fitas do microRNA é reconhecida por um complexo proteico chamado de *RNA RISC* (*induced silencing complex*). As fitas são separadas e o microRNA maduro é incorporado ao RISC enquanto a

mRNA com pareamento imperfeito, que resulta na inibição da tradução do mRNA alvo^{3,7}.

Regulação dos micro-RNAs

Os microRNAs são pequenos RNAs não-codificantes que regulam a expressão gênica por inibição da tradução de proteínas ou pela desestabilização da fita de RNA mensageiro⁹.

Esses microRNAs se ligam à região 3'-UTR (*untranslated region*) do RNA mensageiro alvo por pareamento perfeito ou parcial e, geralmente regulam negativamente a expressão deste. Em humanos, também foi descoberto pelo menos um microRNA que regula positivamente a expressão de um gene. Aparentemente, um único microRNA pode ainda regular diversos genes¹⁰.

Segundo Liu *et al.*,⁴ uma fita de mRNA pode conter vários sítios de ligação para um único micro-RNA, ou ainda, conter um sítio de ligação para vários microRNAs, estabelecendo um complexo sistema de regulação entre microRNAs e mRNAs.

RNAs mensageiros que possuem vários sítios de ligação para microRNAs são mais suscetíveis à supressão da tradução do que aqueles que possuem apenas um sítio de ligação para microRNA. Alguns estudos sugerem que microRNAs regulam a síntese proteica sem afetar os níveis de mRNA, enquanto outros relatam a existência de microRNAs que induzem a degradação de mRNA¹¹.

Mapeamento de micro-RNAs

Com o grande montante de informações descritas sobre os micro-RNAs, surgiu a necessidade de centralizar os registros em bancos de dados. Milhares de microRNAs já foram descobertos e estão sendo registrados no miRbase, um depósito *online* contendo todas as informações sobre os micro-RNAs publicadas⁴.

Apesar de existirem vários bancos de dados virtuais que disponibilizam informações sobre os microRNAs, o miRbase é o principal repositório de dados. Ele é mantido pela *Faculty of Life Sciences (University of Manchester)*, com apoio do *Wellcome Trust Sanger Institute*. A construção de bancos de dados é essencial para o mapeamento dos micro-RNAs, e estudo de suas origens¹².

O miRbase foi criado em 2002 com o objetivo de registrar os novos micro-RNAs descobertos; facilitando assim o acesso ao público e permitindo buscas por meio de sequências e palavras-chave¹³. Este banco de dados disponibiliza uma biblioteca *online* de microRNAs descobertos e publicados, contendo informações sobre o gene, a sequência e sua nomenclatura. Até o momento, o banco de dados registrou 28.645 micro-RNAs provenientes de 223 espécies. A última divulgação foi feita em junho de 2014 e os registros podem ser acessados no sítio www.mirbase.org.

A velocidade das descrições de novos micro-RNAs é bem rápida, por exemplo, em julho de 2003 haviam sido descritos apenas 506 micro-RNAs de 6 espécies¹².

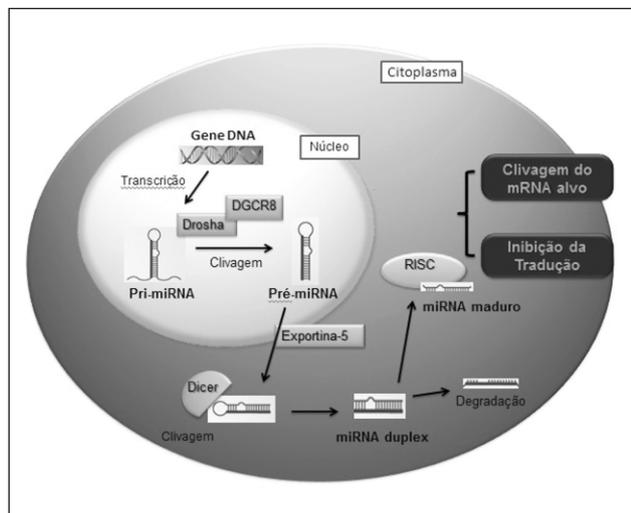


Figura 1 - Modelo de biogênese dos micro-RNAs.

outra fita sofre degradação (Figura 1)^{5,9}.

O microRNA associado ao RISC é guiado até o mRNA e pode induzir o silenciamento através de duas formas, que podem ocorrer por pareamento perfeito ou imperfeito entre eles. O pareamento perfeito ocorre comumente em plantas e induz a clivagem do mRNA. Em humanos geralmente ocorre o pareamento imperfeito entre o microRNA e o mRNA que induz apenas a inibição da síntese proteica. O microRNA frequentemente se liga à região 3'-UTR do

Micrornas e o câncer

Inicialmente, os microRNAs foram descritos em *Caenorhabditis elegans* por Victor Ambros e Gary Ruvkun's em 1993. Porém, o papel dos microRNAs em cânceres humanos não tinha perspectivas até 2002, quando os Drs. George Callin e Carlo Croce clonaram os miR-15a/16-1 a partir de uma região de recorrente deleção em pacientes com Leucemia Linfocítica Crônica (LLC). A expressão destes dois microRNAs estava diminuída em 70% de todos os casos de LLC analisados, e estes agiam como supressores tumorais ao regular proteínas antiapoptóticas, como a *BCL-2* e *MCL-1*. Posteriormente, outros grupos descreveram perfis diferenciais de expressão dos microRNAs em diferentes tipos de câncer¹⁵.

A desregulação da função dos microRNAs pode levar a inúmeras doenças humanas. Diversos estudos já correlacionaram diferentes microRNAs com diversos tipos de câncer, entre eles, o câncer de mama, o de pulmão, o de próstata, o de cólon e o de ovário. Outras doenças também podem estar relacionadas ao aumento ou diminuição da expressão dos micro-RNAs, sendo crucial a identificação e o conhecimento da função regulatória destes, para a compreensão de seu papel no desenvolvimento de cada doença⁴.

Um dos primeiros estudos relevantes sobre a relação dos microRNAs e desenvolvimento de câncer foi a descoberta dos miR-15a e miR-16-1 que inibem a expressão do oncogene *BCL-2*, um gene antiapoptótico. Estes, são exemplos de micro-RNAs que estão presentes no cromossomo 13q14, uma região que geralmente sofre deleção em casos de Leucemia Linfóide Crônica (LLC). Essa deleção provoca uma redução na expressão destes dois micro-RNAs, levando ao aumento da expressão do *BCL-2* e consequente desenvolvimento da doença³.

Várias pesquisas já constataram expressão diferencial dos micro-RNAs ao comparar células tumorais e células normais. Em alguns tipos de câncer, micro-RNAs específicos apresentam níveis de expressão diferenciados nas diferentes fases da doença, desde a carcinogênese até invasão e metástase. Os micro-RNAs podem agir tanto em oncogenes quanto genes supressores de tumor (GST). Durante o desenvolvimento do câncer, a expressão anormal da quantidade de microRNAs pode inativar os GSTs ou ativar oncogenes, levando a formação tumoral em ambos os casos. Os microRNAs diretamente envolvidos no câncer são chamados de oncomiRs^{16,7}.

A alteração nesses micro-RNAs pode contribuir com a carcinogênese basicamente de duas maneiras, uma em que há redução da expressão do oncomiR que regula um oncogene e outra quando a expressão de um oncomiR que controla um GST está elevada^{10,17}. Por afetar diretamente a expressão e regulação de genes, em células não neoplásicas os micro-RNAs ajudam a manter o equilíbrio entre a expressão de oncogenes e genes supressores de tumor¹⁷.

A expressão dos micro-RNAs depende das características do tipo de câncer, do estágio e de várias outras condições clínicas. No geral, observa-se redução significativa da expressão de microRNAs no câncer, porém, há diversos microRNAs que podem estar

altamente expressos e também passam a apresentar atividade oncogênica. Deve-se levar em conta que cada tecido apresenta um padrão diferente de proteínas e de micro-RNA. A expressão de um determinado microRNA pode estar elevada em certo tipo de câncer e diminuída em outro tipo³.

Cerca de metade dos micro-RNAs em humanos estão localizados em regiões frágeis do genoma, os chamados sítios frágeis, que estão associados ao câncer. São regiões de quebras cromossômicas, ampliações e perda de heterozigossidade. Sítios frágeis são considerados variações genômicas normais sem consequência à saúde do indivíduo, entretanto, pontos de quebra frequentes e sítios frágeis coincidem no câncer¹⁷.

Calin *et al.*,¹⁹ salientaram em seus estudos, a relação entre os microRNAs e sua localização em sítios frágeis com o desenvolvimento do câncer. Por serem regiões propensas a falhas e quebras, os sítios frágeis são locais altamente recombinantes, podendo sofrer deleções e translocações que provocam mutações e, estão frequentemente ligados ao surgimento do câncer. Os micro-RNAs localizados nessas regiões estão mais propensos a sofrer alterações que os microRNAs localizados em sítios não-frágeis.

Dos microRNAs conhecidos e registrados no miRbase, cerca de 34% estão situados em sítios frágeis do genoma. As mutações que ocorrem nesses micro-RNAs causam, principalmente, a diminuição da sua expressão, o que leva a ativação de oncogenes²⁰.

A associação entre os micro-RNAs e sítios frágeis sugere que a expressão do microRNA pode ser alterada nos estágios iniciais da carcinogênese, causando instabilidade genômica e iniciando o processo carcinogênico²¹.

Além disso, mutações também podem ocorrer nas enzimas *Drosha* e *Dicer*, causando deficiência na maturação dos micro-RNAs e consequente transformação celular e carcinogênese⁷.

Alguns estudos sugerem ainda, o papel dos micro-RNAs no apoptose, que é um mecanismo celular de defesa contra mutações que protege a célula da transformação maligna e consequente tumorigênese. Este mecanismo é controlado pela expressão de genes que estabelecem o equilíbrio entre a proliferação e morte celular. Devido às mutações e deleções, alguns microRNAs podem afetar este equilíbrio quando se encontram com expressão diminuída. Esta diminuição pode levar ao aumento da expressão de genes anti-apoptóticos que contribuem na persistência de células tumorais que normalmente deveriam estar sendo retiradas do organismo pelo processo de apoptose³.

Em certos tipos de câncer a ação oncogênica dos microRNAs está relacionada com sua expressão aumentada, isso se deve quando o mecanismo de ação deste microRNA é baseado na regulação negativa de um gene supressor tumoral. Alguns exemplos podem ser citados como a alta expressão de miR-221 em glioblastomas, miR-372 e miR-373 em neoplasias do testículo e miR-221, miR-222 e miR-146 em tumores de tireóide³.

Alguns estudos identificaram, ainda, micro-RNAs responsáveis pelos processos de invasão e

migração de células tumorais, o que caracteriza tumores malignos. Estudos também detectaram alta expressão do miR-21 em câncer, este microRNA promove a mobilidade e invasão de células tumorais ao se ligar e bloquear genes supressores de tumor conhecidos por inibir a invasão celular³.

Outros estudos abordam a importância dos micro-RNAs tanto para a carcinogênese como para a progressão e metástase em câncer de mama. Por serem bons indutores e promotores de carcinogênese, os hormônios podem ter sua expressão desregulada em casos de câncer de mama hormônio-dependente e, algumas pesquisas já correlacionaram microRNAs específicos com a expressão de receptores de hormônios esteróides²².

Alterações na regulação de alguns micro-RNAs têm sido descritas quando comparados tecidos tumorais a tecidos normais, em câncer de mama, por exemplo, foram encontrados os micro-RNAs miR-21, miR-29b-2 e miR-27a/b com expressão aumentada e os miR-125b, miR-145, miR-10b, miR-155 e miR-17-5p em níveis diminuídos. Em outros estudos recentes, foi demonstrado alta expressão do miR-24 no soro de pacientes com câncer de mama, indicando a possibilidade de uso como marcador^{24,24}.

Em um estudo feito por Tsunoda *et al.*,²⁵ constatou-se que a inibição do apoptose está relacionada com a expressão aumentada do miR-221 e miR-222 em pacientes com câncer colorretal. Outros microRNAs como, miR-23a, miR-125b, miR-191 e miR-200c, são regulados positivamente pelo *KRAS* oncogênico enquanto os microRNAs let-7b e let-7i são regulados negativamente. Observou-se que a desregulação da expressão de microRNAs pelo *KRAS* oncogênico, tem forte relação com o desenvolvimento do câncer colorretal (Quadro 1).

Quadro 1 - Demonstração do nível de expressão de alguns dos principais micro-RNAs envolvidos em alguns tipos de câncer.

Micro-RNA	Expressão	Tipo de câncer
Let-7	Diminuída	Câncer de mama Câncer de próstata
miR-17-5p	Diminuída	Câncer de mama
miR-21	Aumentada	Câncer de mama Câncer colorretal Câncer cervical Câncer pulmonar
miR-27 ^a	Aumentada	Câncer de mama
miR-27b	Diminuída	Câncer de mama
miR-125b	Diminuída	Câncer de mama
miR-145	Diminuída	Câncer de mama Câncer de próstata Câncer colorretal
miR-200c	Aumentada	Câncer de cólon
miR-221	Aumentada	Glioblastoma Carcinoma de tireóide Câncer pancreático
miR-222	Aumentada	Glioblastoma Carcinoma de tireóide

Fonte: adaptado de Lee; Dutta, 2009.

Perspectivas do uso dos micro-RNAs como ferramenta na prática clínica

Tem-se observado um grande avanço nas pesquisas e no desenvolvimento das técnicas de biologia molecular, permitindo que os micro-RNAs sejam utilizados como ótimas ferramentas para o diagnóstico, prognóstico e terapêutica do câncer. Desde que foram descobertos, os microRNAs apresentam grandes perspectivas como biomarcadores para o diagnóstico e prognóstico do câncer. Por serem fundamentais na identidade de muitas células e apresentarem características tecido-específicas, os microRNAs são de grande valor para o diagnóstico do câncer⁷.

Gao *et al.*,¹⁶ constataram que a expressão dos micro-RNAs é tecido-específico, podendo ser facilmente correlacionada com o tipo de câncer. A detecção destes microRNAs pode ser feita a partir do sangue e de outros fluidos corporais como a urina, sendo candidatos ideais como biomarcadores para o diagnóstico precoce do câncer. Os pesquisadores utilizaram a saliva, por ser um material não invasivo e conveniente para coleta, a fim de detectar e quantificar a expressão do microRNAs em pacientes com câncer pancreático.

A maior parte dos estudos utiliza o soro e plasma sanguíneo para detecção dos níveis de microRNAs, porém, vários estudos salientam que microRNAs específicos de alguns cânceres podem ser detectados na urina, saliva, suco pancreático e fluido cístico. A presença dos microRNAs nestes fluidos corporais são essenciais como biomarcadores e representam uma forma não-invasiva para o diagnóstico²⁶.

Muitas pesquisas ainda estão sendo desenvolvidas para estabelecer a segurança no uso de microRNAs como medida terapêutica. Em um estudo feito por Esquela-Kerscher *et al.*,²⁷ foi demonstrado que a reposição dos micro-RNAs que apresentavam expressão diminuída pode ser efetiva para melhorar o prognóstico em pacientes com câncer de pulmão.

Outra ferramenta para uso de microRNAs na terapia, seria o uso de antagomiRs, que são fitas de RNA complementares ao microRNA que tem um efeito bloqueador, limitando a atividade patogênica destes²⁶.

Além das evidências sugerindo os microRNAs como candidatos alvo de terapia gênica em vários tipos de câncer, eles também têm sido utilizados como biomarcadores para predição prognóstica. Segundo Liu *et al.*, (2014), estudos clínicos avaliam a eficácia do tratamento com Gefitinib em carcinomas de nasofaringe. É um fármaco alvo-específico utilizado na inibição da proliferação celular e apoptose. Testes clínicos em linhagens celulares demonstraram sensibilidade diferenciada ao fármaco, influenciado pela regulação do miR-125a-5p, um potencial candidato na predição do efeito do tratamento com Gefitinib em pacientes com câncer de nasofaringe.

Diversas pesquisas propuseram o uso dos micro-RNAs em conjunto com a terapia tradicional e constataram a habilidade de mediar a resposta terapêutica. Porém, as práticas clínicas ainda esbarram em muitos desafios e mais estudos precisam ser desenvolvidos. Existem limitações no uso dos micro-RNAs circulantes para diagnóstico precoce de câncer ou como

biomarcadores, por apresentarem alterações inconsistentes em alguns tipos de câncer²⁹.

Ainda de acordo com Oom *et al.*,²⁹ o uso de microRNAs na terapia requer cautela, pois pode apresentar toxicidade, podendo ser letal ao paciente e os estudos devem investigar a segurança e a eficácia destes nas aplicações clínicas.

Em adição, a observação da habilidade dos microRNAs em determinar a eficácia de drogas no tratamento de doenças específicas, abriu espaço para o campo da farmacogenômica microRNA específica. O princípio da farmacogenômica é baseado em como as diferenças genômicas individuais podem afetar a eficácia de diversas drogas, as variações nos perfis de micro-RNAs influenciam diretamente a expressão gênica e, conseqüentemente, o efeito dos fármacos. Um exemplo que ilustra esta interação é sobre o miR-125b na eficácia do tratamento com calcitriol (forma ativa da vitamina D) em linhagens celulares de carcinoma de mama. O calcitriol se liga ao receptor da vitamina D (VDR) e induz a formação do complexo do fator de transcrição ativo. A expressão diminuída do VDR é regulada pelo miR-125b e, quando isso ocorre, cai a eficácia do calcitriol, resultando em aumento da proliferação celular³⁰. Os autores da pesquisa desenvolveram um banco de dados para alojar toda a informação referente a estes microRNAs: VerSe (*Pharmaco-miR Verified Sets*), que contém os dados publicados em

literatura disponível em: www.pharmaco-mir.org.

Diante do exposto, concluímos que o estudo dos micro-RNAs merece destaque no cenário científico atual. Por participarem da regulação da expressão gênica, sabe-se que a expressão dos microRNAs afeta o ciclo celular, a modulação de oncogenes e GST, participando na patogênese dos tumores.

Várias pesquisas têm sido realizadas a fim de melhor elucidar os perfis de modulação dos microRNAs que envolvem variações de expressão gênica e proteica, sendo estes perfis, significantes para compreender a função dos microRNAs nas doenças, principalmente no câncer. A aplicabilidade na eficácia de fármacos vem de encontro com os ideais da medicina individualizada, cada vez mais presente na prática clínica, em decorrência dos avanços da medicina genômica. Há grandes perspectivas na área da saúde, embora as aplicações práticas dos microRNAs necessitam ainda de mais testes e pesquisas para determinar a segurança e eficácia na terapêutica, é um caminho que tem tudo para se desenvolver em um futuro não muito distante.

Conflito de interesse

Os autores declaram não possuírem conflitos de interesse políticos, financeiros ou éticos relacionados a este artigo.

Referências

- Higa GS, de Sousa E, Walter LT, Kinjo ER, Resende RR, Kihara AH. MicroRNAs in Neuronal Communication. *Mol Neurobiol*, 2014; 49(3): 1309-1326.
- Björner S, Fitzpatrick PA, Li Y, Allred C, Howell A, Ringberg A, *et al.* Epithelial and stromal microRNA signatures of columnar cell hyperplasia linking let-7c to precancerous and cancerous breast cancer cell proliferation. *Plos one*, 2014; 9(8): e105099.
- Lee YS, Dutta A. MicroRNAs in cancer. *Annu Rev Pathol*, 2009; 4(Database issue): 199-227.
- Liu B, Li J, Cairns MJ. Identifying miRNAs, targets and functions. *Brief Bioinform*, 2012; 15(1): 1-19.
- Leclercq M, Diallo AB, Blanchette M. Computational prediction of the localization of microRNAs within their pre-miRNA. *Nucleic Acids Research*, 2013; 41(15): 7200-7211.
- Hoefig KP, Thorns C, Roehle A, Kaehler C, Wesche KO, Repsilber D, *et al.* Unlocking pathology archives for microRNA-profiling. *Anticancer Res*, 2008; 28(1A): 119-124.
- Medina PP, Slack FJ. microRNAs and cancer. *Cell Cycle*, 2008; 7(16): 2485-2492.
- Lee Y, Kim M, Han J, Yeom KH, Lee S, Baek SH, *et al.* MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II. *The EMBO Journal*, 2004; 23(20): 4051-4060.
- Pesta M, Klecka J, Kulda V, Topolcan O, Hora M, Eret V, *et al.* Importance of miR-20a expression in prostate cancer tissue. *Anticancer Res*, 2010; 30(9): 3579-3584.
- Ozen M, Creighton CJ, Ozdemir M, Ittman M. Widespread deregulation of microRNA expression in human prostate cancer. *Oncogene*, 2008; 27(12): 1788-1793.
- Doench JG, Petersen CP, Sharp PA. siRNAs can function as miRNAs. *Genes Dev*, 2003; 17(4): 438-442.
- Griffiths-Jones S, Saini HK, Dongen SV, Enright AJ. miRbase: tools for microRNA genomics. *Nucleic Acids Research*, 2008; 36(1): 154-158.
- Kozomara A, Griffiths-Jones S. miRbase: annotating high confidence microRNAs using deep sequencing data. *Nucleic Acids Res*, 2014; 42(Database issue): 68-73.
- Griffiths-Jones S. The microRNA registry. *Nucleic Acids Res*, 2004; 32(1): 109-111.
- Vincent K, Pichler M, Lee GW, Ling H. MicroRNAs, genomic instability and cancer. *Int J Mol Sci*, 2014; 15(8): 14475-14491.
- Gao S, Chen LY, Wang P, Liu LM, Chen Z. MicroRNA expression in salivary supernatant of patients with pancreatic cancer and its relationship with ZHENG. *BioMed Resc Intl*, 2014; (2014): 1-8.
- Bushati N, Cohen SM. MicroRNA functions. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2007; 23: 175-205.
- Connolly E, Melegari M, Landgraf P, Tchaikovskaya T, Tennant BC, Slagle BL, *et al.* Elevated expression of the miR-17-92 polycistron and miR-21 in hepadnavirus-associated hepatocellular carcinoma contributes to the malignant phenotype. *Am J Pathol*, 2008; 173(3): 856-864.
- Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, Hyslop T, Noch E, Yendamuri S, *et al.* Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004; 101(9): 2999-3004.
- Mathelier A, Carbone A. Large scale chromosomal mapping of human microRNA structural clusters. *Nucleic Acids Res*, 2013; 41(8): 4392-4408.

21. Landau DA, Slack FJ. MicroRNAs in mutagenesis, genomic instability and DNA repair. *Semin Oncol*, 2011; 38(6): 743-751.
22. Nakano K, Miki Y, Hata S, Ebata A, Takagi K, Mcnamara KM, *et al.* Identification of androgen-responsive microRNAs and androgen-related genes in breast cancer. *Anticancer Res*, 2013; 33(11): 4811-4820.
23. Li D, Chen L, Hu Z, Li H, Li J, Wei C, *et al.* Alterations of microRNAs are associated with impaired growth of MCF-7 breast cancer cells induced by inhibition of casein kinase 2. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014; 7(7): 4008-4015.
24. Yin JY, Deng ZQ, Liu FQ, Qian J, Lin J, Tang Q, *et al.* Association between miR-24 and miR-378 in formalin-fixed paraffin-embedded tissues of breast cancer. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014; 7(7): 4261-4267.
25. Tsunoda T, Takashima Y, Yoshida Y, Doi K, Tanaka Y, Fujimoto T, *et al.* Oncogenic KRAS regulates miR-200c and miR-221/222 in a 3D-specific manner in colorectal cancer cells. *Anticancer Res*, 2011; 31(7): 2453-2460.
26. Wang J, Zhang KY, Liu SM, Sen S. Tumor-associated circulating microRNAs as biomarkers of cancer. *Molecules*, 2014; 19(2): 1912-1938.
27. Esquela-Kerscher A, Trang P, Wiggins JF, Patrawala L, Cheng A, Ford L, *et al.* The let-7 microRNA reduces tumor growth in mouse models of lung cancer. *Cell cycle*, 2008; 7(6): 759-764.
28. Liu Y, Li Z, Wu L, Wang Z, Wang X, Yu Y, *et al.* MiRNA-125a-5p: a regulator and predictor of gefitinib's effect on nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Cell Int*, 2014; 14(24): 1-10.
29. Oom AL, Humphries BA, Yang C. MicroRNAs: novel players in cancer diagnosis and therapies. *BioMed Res Int*, 2014; (2014): 1-13.
30. Rukov JL, Wilentzik R, Jaffe I, Vinther J, Shomron N. PharmacomiR: linking microRNAs and drug effects. *Brief Bioinform*, 2013; 15(4): 648-659.