

Identificación de MicroARNs Asociados al Diagnóstico y Pronóstico del Colangiocarcinoma

<https://doi.org/10.32635/2176-9745.RBC.2026v72n1.5375ES>

Identificação de MicroRNA Associados ao Diagnóstico e Prognóstico do Colangiocarcinoma

Identification of MicroRNAs Associated with the Diagnosis and Prognosis of Cholangiocarcinoma

Laura Almeida Vidal¹; Jamile Sofia Assis de Brito²; Lycia Lima Godoy³; Maressa de Pádua Neto Albino⁴; Maria Paula Alves Vilas Boas Cardoso⁵; Verônica Aparecida Silva Cintra⁶; Carlos Eduardo da Silva⁷; Sabrina Thalita dos Reis⁸

RESUMEN

Introducción: El colangiocarcinoma (CHOL) es una neoplasia maligna del epitelio biliar y constituye la segunda forma más común de cáncer hepático. Su alta agresividad y diagnóstico tardío dificultan la implementación de terapias eficaces. La falta de biomarcadores pronósticos confiables también impide un manejo clínico adecuado. En este contexto, los microARN (miARN) surgen como reguladores postranscripcionales de la expresión génica, con potencial diagnóstico y pronóstico en diversos tumores. **Objetivo:** Identificar los principales miARNs asociados al diagnóstico y pronóstico del CHOL, con énfasis en la metástasis ganglionar, mediante análisis bioinformático de datos del *The Cancer Genome Atlas* (TCGA). **Método:** Estudio transversal, descriptivo y exploratorio basado en bioinformática. Se analizaron 45 muestras (36 tumorales y 9 normales) extraídas del TCGA. Se utilizaron las plataformas CancerMIRNome, OncomiR y UALCAN para la selección, filtrado y análisis de la expresión diferencial de miARNs en relación con variables clínicas y demográficas. **Resultados:** Se identificaron 245 miARNs con significación estadística, de los cuales nueve presentaron asociación con metástasis ganglionar: let-7c-5p, miR-1258, miR-182-5p, miR-183-5p, miR-194-3p, miR-301a-3p, miR-378a-3p, miR-92b-3p y miR-96-5p. El miR-194-3p se destacó por su asociación con todas las variables clínicas analizadas. No se observó una correlación significativa con la supervivencia global de los pacientes. **Conclusión:** Los miARNs identificados presentan un valor pronóstico potencial en el CHOL, especialmente en la estratificación por metástasis ganglionar. No obstante, se requieren nuevos estudios con validación experimental y análisis funcionales para confirmar su papel en la progresión tumoral del CHOL.

Palabras clave: Neoplasias Hepáticas/diagnóstico; Colangiocarcinoma/diagnóstico; MicroARNs; Pronóstico; Biología Computacional/estadística & datos numéricos.

RESUMO

Introdução: O colangiocarcinoma (CHOL) é uma neoplasia maligna do epitélio biliar, sendo a segunda principal forma de câncer hepático. Sua alta agressividade e diagnóstico tardio dificultam terapias eficazes. A falta de biomarcadores prognósticos confiáveis também impede o manejo clínico adequado. Nesse contexto, os microRNA (miRNA) surgem como reguladores pós-transcricionais da expressão gênica, com potencial diagnóstico e prognóstico em diversos tumores. **Objetivo:** Identificar os principais miRNA associados ao diagnóstico e prognóstico do CHOL, com enfoque especial na metástase linfonodal, por meio da análise bioinformática de dados obtidos do *The Cancer Genome Atlas* (TCGA). **Método:** Estudo transversal, descritivo e exploratório baseado em ferramentas de bioinformática. Foram analisadas 45 amostras (36 tumorais e 9 normais) provenientes do TCGA. Para triagem, filtragem e análise da expressão diferencial dos miRNAs em relação às variáveis clínicas e demográficas, utilizaram-se as plataformas CancerMIRNome, OncomiR e UALCAN. **Resultados:** Identificaram-se 245 miRNA com significância estatística, dos quais 9 demonstraram associação com a presença de metástase linfonodal: let-7c-5p, miR-1258, miR-182-5p, miR-183-5p, miR-194-3p, miR-301a-3p, miR-378a-3p, miR-92b-3p e miR-96-5p. O miR-194-3p destacou-se por sua correlação com todas as variáveis clínicas avaliadas. Não foi observada associação estatisticamente significativa entre os miRNA e a sobrevida global dos pacientes. **Conclusão:** Os miRNA identificados apresentam potencial para serem utilizados como biomarcadores prognósticos no CHOL, especialmente na estratificação dos pacientes com metástase linfonodal. Entretanto, são necessários estudos adicionais com validação experimental e análises funcionais para confirmar o papel desses miRNAs na progressão tumoral do CHOL.

Palavras-chave: Neoplasias Hepáticas/diagnóstico; Colangiocarcinoma/diagnóstico; MicroRNAs; Prognóstico; Biologia Computacional/estatística & dados numéricos.

ABSTRACT

Introduction: Cholangiocarcinoma (CHOL) is a malignant neoplasm of the biliary epithelium and represents the second most usual form of liver cancer. Its high aggressiveness and late diagnosis hinder the implementation of effective therapies. The lack of reliable prognostic biomarkers also impairs proper clinical management. In this context, microRNAs (miRNAs) emerge as post-transcriptional regulators of gene expression, with diagnostic and prognostic potential in various tumors. **Objective:** Identify key miRNAs associated with the diagnosis and prognosis of CHOL, with a particular focus on lymph node metastasis, through bioinformatic analysis of data from The Cancer Genome Atlas (TCGA). **Method:** A cross-sectional, descriptive, and exploratory study based on bioinformatics was conducted. A total of 45 samples (36 tumoral and 9 normal) were analyzed from TCGA. The CancerMIRNome, OncomiR, and UALCAN platforms were used for screening, filtering, and differential expression analysis of miRNAs in relation to clinical and demographic variables. **Results:** Two hundred forty-five miRNAs with statistical significance were identified, of which nine were associated with lymph node metastasis: let-7c-5p, miR-1258, miR-182-5p, miR-183-5p, miR-194-3p, miR-301a-3p, miR-378a-3p, miR-92b-3p, and miR-96-5p. Notably, miR-194-3p was associated with all clinical variables analyzed. No significant correlation was found between miRNA expression and overall survival. **Conclusion:** The identified miRNAs demonstrate potential prognostic value in CHOL, particularly for stratifying patients with lymph node metastasis. Further studies involving experimental validation and functional analyses are necessary to confirm their role in CHOL tumor progression.

Key words: Liver Neoplasms/diagnosis; Cholangiocarcinoma/diagnosis; MicroRNAs; Prognosis; Computational Biology/statistics & numerical data.

^{1,2}Faculdade de Medicina Atenas Passos. Passos (MG), Brasil. E-mails: lauraavidal129@gmail.com; jamielassiss8883@gmail.com; lycia.godoy@gmail.com; maressa.padua2@gmail.com; mpvbcardoso@gmail.com; veronicacintrat17@gmail.com; carlos.silva.atenas@gmail.com. Orcid iD: <https://orcid.org/0009-0000-0507-551X>; Orcid iD: <https://orcid.org/0009-0009-0555-6132>; Orcid iD: <https://orcid.org/0009-0005-9092-1421>; Orcid iD: <https://orcid.org/0009-0004-2206-6702>; Orcid iD: <https://orcid.org/0009-0008-4124-9984>; Orcid iD: <https://orcid.org/0009-0009-0351-3008>; Orcid iD: <https://orcid.org/0000-0002-1080-6660>

⁸Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina. São Paulo (SP), Brasil. E-mail: sabrinareis@usp.br. Orcid iD: <https://orcid.org/0000-0002-3564-3597>

Dirección para correspondencia: Carlos Eduardo da Silva. Rua Oscar Cândido Moreira, 1000 – Mirante do Vale. Passos (MG), Brasil. CEP 37900-380. E-mail: carlos.silva.atenas@gmail.com



INTRODUCCIÓN

El colangiocarcinoma (CHOL) es una neoplasia maligna originada del epitelio que reviste los ductos biliares y constituye la segunda principal forma de cáncer hepático, solo por detrás del hepatocarcinoma¹. Aunque raro, su incidencia ha aumentado en las últimas décadas, sobre todo en la forma intrahepática². Este crecimiento es atribuido, en parte, al perfeccionamiento de los métodos diagnósticos y a la mayor exposición a factores de riesgo, como colangitis esclerosante primaria, litiasis hepática, infecciones parasitarias hepáticas (*Clonorchis sinensis*, *Opisthorchis viverrini*) y anomalías congénitas de las vías biliares^{2,3}. La incidencia global del CHOL varía significativamente entre regiones. En los países occidentales, la tasa estandarizada por edad se sitúa entre 0,3 y 3,5 casos por cada 100 000 personas/año, en series de 1990 a 2018, mientras que en regiones endémicas del Asia puede alcanzar hasta 85 casos por cada 100 000 personas/año⁴.

Clínicamente, el CHOL es altamente agresivo y, en general, asintomático en estadios iniciales, lo que dificulta la detección temprana. La mayoría de los diagnósticos ocurre en estadios avanzados, cuando la resección quirúrgica con márgenes libres, principal estrategia curativa, ya no es viable³. Incluso con terapias sistémicas, la supervivencia global permanece limitada^{5,6}. En el colangiocarcinoma intrahepático (iCCA), la tasa en cinco años es de cerca del 9%, pudiendo alcanzar el 40% en casos resecables⁵. Tras la cirugía, no obstante, los índices de recurrencia siguen elevados; en una cohorte de 169 pacientes, la tasa en cinco años fue del 74,1%, con supervivencia libre de recurrencia de solo el 26,1%⁶. La presencia de metástasis ganglionar configura uno de los principales factores pronósticos, asociándose de forma consistente a la menor supervivencia global y mayor riesgo de recurrencia⁷. Estos datos refuerzan la necesidad de nuevos biomarcadores diagnósticos y pronósticos capaces de apoyar estrategias más eficaces e individualizadas.

La estadificación clínica del CHOL, generalmente basada en el sistema TNM modificado de la *American Joint Committee on Cancer*, considera la extensión tumoral (T), el acometimiento ganglionar (N) y la presencia de metástasis a distancia (M), clasificada para los pacientes entre los estadios I y IV⁸. La ausencia de biomarcadores eficaces para detección, estratificación de riesgo y monitoreo terapéutico todavía representa un obstáculo central en el manejo de la enfermedad⁹.

En este escenario, los microARN (miARN) se destacan como reguladores postranscripcionales de la expresión génica, modulando procesos como diferenciación celular, apoptosis, metabolismo y oncogénesis^{10,11}. Estos pequeños ARN no codificantes (17–25 nucleótidos),

cuando son desregulados por mecanismos genéticos o epigenéticos, pueden activar vías tumorales o inhibir genes supresores, actuando como oncomiR o supresores tumorales^{10,12}. Su estabilidad en tejidos y fluidos y la expresión tejido-específica les confieren elevado potencial como biomarcadores diagnósticos y pronósticos¹³. En el contexto del CHOL, estudios previos apuntan que el miR-21 y el miR-25 se encuentran diferencialmente expresos, siendo este último sobreexpresado en células malignas y asociado a la resistencia a la apoptosis por inhibir el receptor de muerte 4 (DR4)^{14,15}. Aunque tales resultados sean prometedores, todavía se necesitan estudios adicionales para validar estos hallazgos y explorar nuevos miARN con potencial clínico.

El avance de herramientas bioinformáticas aplicadas a grandes bases de datos, como el *The Cancer Genome Atlas* (TCGA), permitió la identificación de miARNs diferencialmente expresos en el CHOL, favoreciendo su caracterización molecular y abriendo oportunidades para la medicina de precisión¹⁶. A pesar de estos avances, todavía hay escasez de biomarcadores confiables para detección temprana y estratificación pronóstica del CHOL, limitando intervenciones clínicas eficaces. Frente a este escenario, el presente estudio buscó identificar miARN inéditos con potencial diagnóstico y pronóstico, mediante el análisis integrado de datos de expresión de miARNs e informaciones clínicas del TCGA-CHOL, con énfasis en la asociación con metástasis ganglionar. De esta forma, se buscó contribuir para la comprensión de la biología tumoral y señalar potenciales objetivos para aplicaciones clínicas futuras.

MÉTODO

Estudio transversal, descriptivo y exploratorio, con enfoque bioinformático, basado en datos públicos y anonimizados del repositorio TCGA¹⁷. Fueron analizadas 45 muestras biológicas, provenientes de 36 de tejidos tumorales de pacientes con CHOL y 9 de tejidos normales de control, sin evidencia de neoplasia, también a disposición en el TCGA. Los datos moleculares empleados en esta investigación correspondieron a secuenciación de ARN de miARN (ARN-seq), previamente normalizados como *Reads Per Million* (RPM), lo que posibilita la comparación entre muestras con diferentes profundidades de secuenciación. El mismo conjunto de datos tumorales y normales fue utilizado en todas las plataformas empleadas en este estudio.

El flujo analítico empezó con el tamizaje amplio en el CancerMIRNome (versión 2.0, accedido en julio de 2024)¹⁸, una base que integra datos del TCGA y de miRNome circulante de estudios independientes, permitiendo identificar miARN diferencialmente expresos

y explorar asociaciones con resultados clínicos y sobrevida. En esta etapa, se evaluaron diferencias de expresión entre tejidos tumorales y normales, considerando variables clínicas como estadificación y grado histológico, con umbral de significación de $p < 0,01$, lo que resultó en la identificación de 245 miARN diferencialmente expresos y asociados a variables clínicas relevantes.

A continuación, se utilizó el OncomiR (versión 1.0, accedido en agosto de 2024)¹⁹, herramienta orientada al análisis de expresión de miARN en cáncer con base en los datos del TCGA. El tamizaje inicial fue realizado a través de las plataformas CancerMIRNome y OncomiR. Mediante el CancerMIRNome, se identificaron 245 miARN con significación estadística ($p < 0,01$) correlacionados a variables clínicas y perfil de sobrevida. Posteriormente, el filtrado específico se realizó en el OncomiR, incorporando las variables clínicas previamente evaluadas y adicionales, como sexo, índice de masa corporal, raza de los pacientes y datos de sobrevida global. El OncomiR fue empleado en dos etapas distintas: primero para validar los hallazgos obtenidos en el CancerMIRNome, garantizando la consistencia de la expresión diferencial; después, para análisis estratificados más detallados en el subtipo CHOL. En esta fase, se aplicaron pruebas estadísticas incluyendo ANVA y log-rank multivariado, con ajuste por *False Discovery Rate* (FDR), considerando significativos solo los miARN con p ajustado $< 0,01$. Fueron seleccionados solo los miARN que presentaron diferencia estadísticamente significativa y se sobrepusieron en ambas plataformas, reduciendo el conjunto inicial de 245 a 20 miARN con relevancia estadística y clínica para análisis subsiguientes.

El paso final del flujo analítico fue realizado en el UALCAN (versión 2.0, accedido en septiembre de 2024)²⁰, plataforma que permite análisis estratificados de la expresión génica y de miARN en los datos del TCGA. Los 20 miARN intermediarios fueron evaluados respecto a la robustez de la expresión diferencial y su asociación con múltiples parámetros clínicos y pronósticos, incluyendo tipo de muestra (tejido normal versus tumor primario), estadificación clínica, grado histológico, *status* de metástasis ganglionar, edad, sexo, índice de masa corporal y raza, además del análisis exploratorio de sobrevida global. La diferencia relativa de expresión fue calculada por el log2 fold change (log2FC), adoptándose $|\log_2\text{FC}| > 1$ como criterio de relevancia biológica, asociado a $p < 0,01$. Valores positivos indicaron sobreexpresión tumoral, mientras que valores negativos reflejaron mayor expresión en el tejido normal. Después de esta validación, fueron seleccionados nueve miARN finales, consistentes entre plataformas y con asociación robusta a los parámetros clínicos y pronósticos evaluados, especialmente en relación con la metástasis ganglionar.

Finalmente, se realizó un análisis integrador, en donde los miARN seleccionados fueron confrontados con datos previamente descritos en la literatura, buscando consolidar la interpretación biológica y clínica, sobre todo con relación a la presencia de metástasis ganglionar, reconocida como marcador pronóstico importante en el colangiocarcinoma.

Considerando que la investigación se basó exclusivamente en datos secundarios, públicos, anonimizados y de libre acceso, no hubo necesidad de envío hacia el Comité de Ética en Pesquisa, en conformidad con la Resolución n.º 510/2016²¹ del Consejo Nacional de Salud y la Ley n.º 12.527/2011²².

RESULTADOS

La Figura 1 presenta la composición de la muestra, con la proporción entre tejidos tumorales y normales (A), así como la distribución de los pacientes con CHOL según la estadificación clínica (B), incluyendo los estadios I a IV.

El tamizaje inicial identificó 245 miARN diferencialmente expresos entre tejidos tumorales y normales, seleccionados a partir de las plataformas CancerMIRNome y OncomiR. En los análisis, se emplearon pruebas internas de expresión diferencial y ANVA con corrección por FDR, considerando como *threshold* $p < 0,01$ y, cuando sea aplicable, $|\log_2 \text{Fold Change}| > 1$. Estos miARN presentaron asociación estadísticamente significativa con variables clínicas relevantes.

Tras el filtrado específico para el subtipo CHOL ($p < 0,01$), fueron seleccionados 20 miARN: let-7c-5p, miR-1258, miR-125b-2-3p, miR-129-5p, miR-182-5p, miR-183-5p, miR-194-3p, miR-200b-3p, miR-30c-1-3p, miR-301a-3p, miR-378a-3p, miR-4660, miR-4735, miR-4762, miR-556-3p, miR-6715a, miR-6723, miR-9-3p, miR-92b-3p y miR-96-5p. Para mayor fluidez en la lectura, los miARN son referidos sin el prefijo “hsa”.

El análisis de expresión diferencial, realizado mediante la plataforma UALCAN, reveló perfiles distintos de regulación génica. La Figura 2 presenta un gráfico de barras con los valores de log2 fold change de los miARNs entre tejidos tumorales y normales.

Con base en el análisis de expresión diferencial asociada a la presencia de metástasis ganglionar, fueron identificados nueve miARN con potencial relevancia pronóstica en el CHOL. Para eso, se usaron las plataformas CancerMIRNome, OncomiR y UALCAN, aplicándose ANVA con corrección por FDR (OncomiR) y prueba *t* de Student (UALCAN), considerando como *threshold* $p < 0,01$. Todos los miARN seleccionados presentaron asociación estadísticamente significativa con la presencia o ausencia de metástasis ganglionares ($p < 0,01$); no obstante, no se observó correlación significativa entre sus niveles de expresión y la sobrevida global de los pacientes ($p < 0,05$).

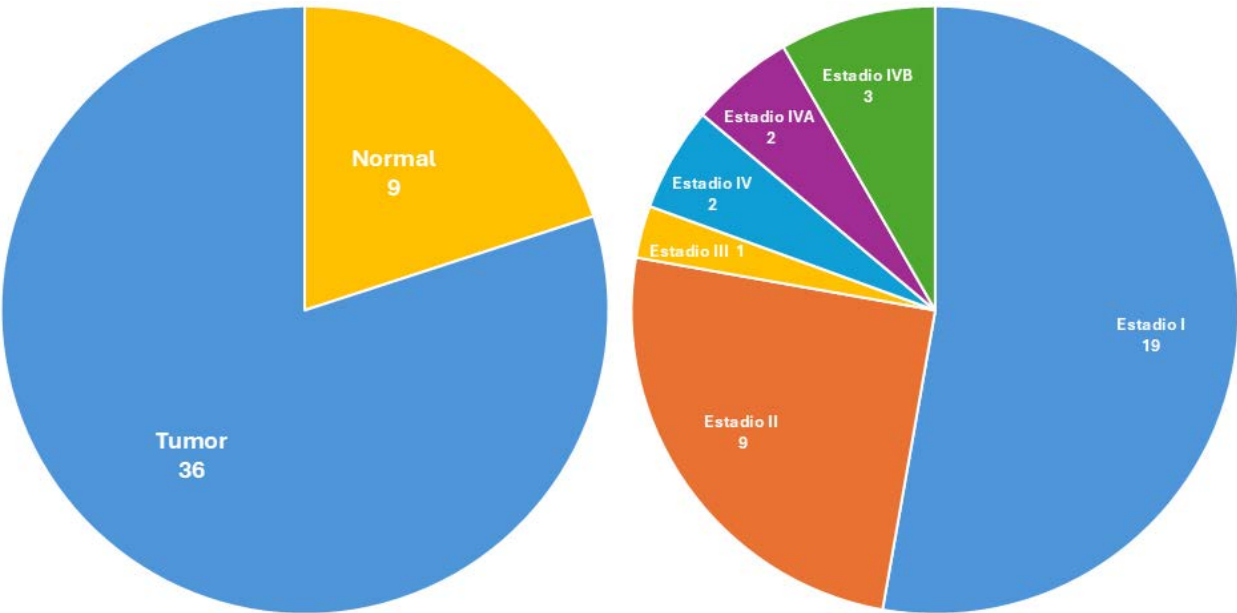


Figura 1. Representación gráfica de la composición de la muestra analizada en este estudio. (A) Proporción entre muestras tumorales y controles normales. (B) Distribución de los pacientes con CHOL según la estadificación clínica
Fuente: Elaborado a partir del portal TCGA¹⁷.

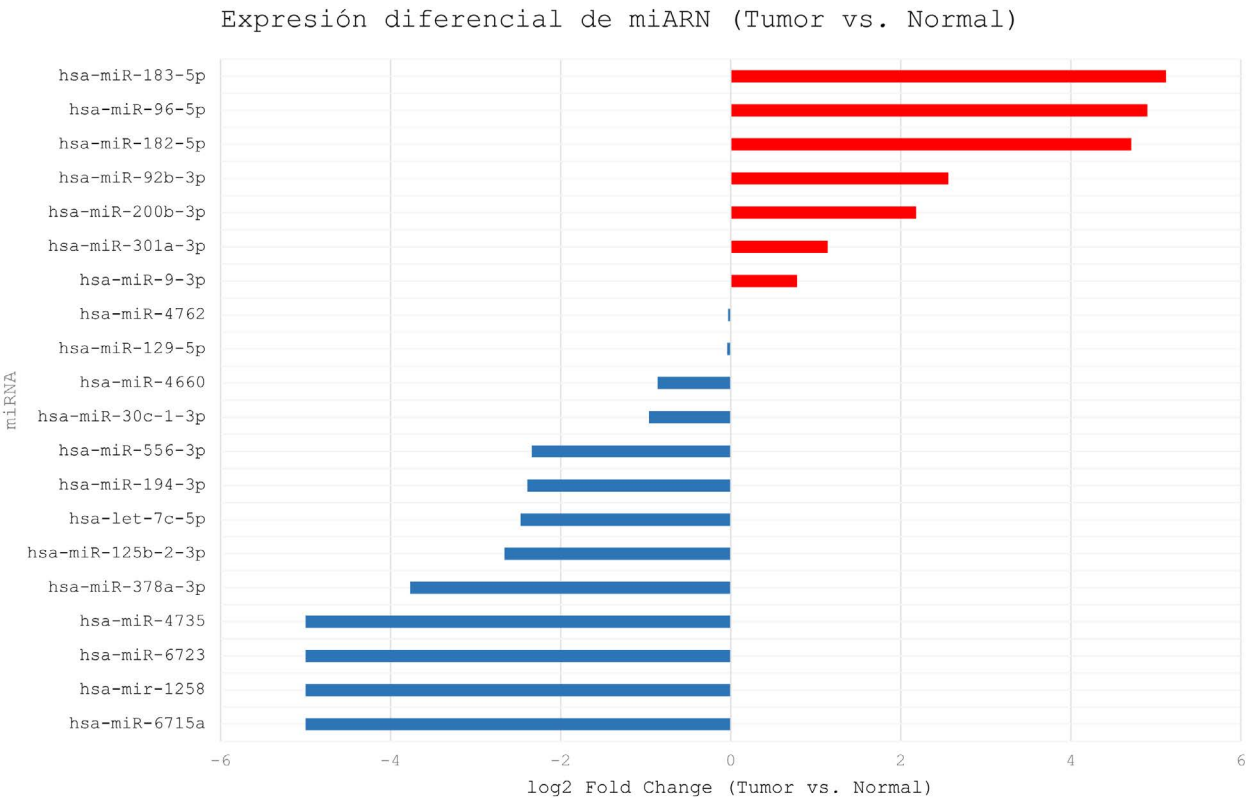


Figura 2. Gráfico de barras del log2 Fold Change (Tumor vs. Normal) para los microARN (miARN) analizados. Valores positivos indican sobreexpresión en tejido tumoral, mientras que valores negativos corresponden a mayor expresión en tejido normal. Fue adoptado como *cutoff* biológicamente relevante $|\log_2FC| > 1$
Fuente: Elaborado a partir de datos de la plataforma UALCAN (TCGA)²⁰.

La Tabla 1 presenta en detalle los nueve miARN identificados, acompañados de los respectivos valores de *p* asociados a las diferentes variables clínicas, demográficas y patológicas. Todos ellos exhibieron expresión diferencial

significativa entre tejidos tumorales y normales ($p < 0,01$) y demostraron correlación con parámetros pronósticos relevantes, incluyendo estadificación clínica, grado histológico y *status* de metástasis ganglionar. Entre los

miARN analizados, se observó sobreexpresión en los tejidos tumorales para los miARN 182-5p, 183-5p, 301a-3p, 92b-3p y 96-5p, mientras que let-7c-5p, 1258, 194-3p y 378a-3p presentaron niveles más elevados en los tejidos normales.

Adicionalmente, la expresión diferencial de los miARN se mantuvo consistente entre diferentes subgrupos poblacionales, abarcando ambos sexos, grupos etarios entre 41 y 100 años, categorías de índice de masa corporal y, en el caso específico del miR-194-3p, también entre individuos de diferentes etnias (caucásicos y asiáticos).

La asociación significativa de los miARN con múltiples grados histológicos y estadios clínicos refuerza la hipótesis de su participación en diferentes fases de la carcinogénesis biliar, desde los estadios iniciales hasta fases más avanzadas de la enfermedad. Entre los biomarcadores evaluados, el miR-194-3p se destacó por presentar significación estadística en todas las variables clínicas y demográficas analizadas, evidenciándose como un candidato prometedor para marcador pronóstico amplio y robusto en el contexto del CHOL.

Tabla 1. MiARN con expresión diferencial asociada a la metástasis nodal en CHOL

MiARN	Normal vs. Tumor	Estadio	Raza	Género	Edad (años)	IMC	Grado tumoral	Metástasis nodal	Sobrevida
let-7c-5p	$p < 0,01$	$p < 0,01$ (estadios 1, 2 y 4)	$p < 0,01$ (cauc.)	$p < 0,01$ (H=M)	$p < 0,01$ (41-80)	$p < 0,01$ (normal, sobrepeso, obesidad)	$p < 0,01$ (grados 2, 3 y 4)	$p < 0,01$ (NO, N1)	NS
miR-1258	$p < 0,01$	$p < 0,01$ (estadios 1, 2 y 4)	$p < 0,01$ (cauc.)	$p < 0,01$ (H=M)	$p < 0,01$ (41-100)	$p < 0,01$ (normal, sobrepeso, obesidad)	$p < 0,01$ (grados 2 y 3)	$p < 0,01$ (NO, N1)	NS
miR-182-5p	$p < 0,01$	$p < 0,01$ (estadios 1, 2 y 3)	$p < 0,01$ (cauc.)	$p < 0,01$ (H=M)	$p < 0,01$ (41-80)	$p < 0,01$ (normal, sobrepeso, obesidad)	$p < 0,01$ (grados 2 y 3)	$p < 0,01$ (NO, N1)	NS
miR-183-5p	$p < 0,01$	$p < 0,01$	$p < 0,01$ (cauc.)	$p < 0,01$ (H=M)	$p < 0,01$ (41-80)	$p < 0,01$ (normal, sobrepeso)	$p < 0,01$ (grados 2 y 3)	$p < 0,01$ (NO)	NS
miR-194-3p	$p < 0,01$	$p < 0,01$ (estadios 1, 2 y 4)	$p < 0,01$ (cauc., asiát.)	$p < 0,01$ (H=M)	$p < 0,01$ (41-80)	$p < 0,01$ (normal, sobrepeso, obesidad)	$p < 0,01$ (grados 2, 3 y 4)	$p < 0,01$ (NO, N1)	NS
miR-301a-3p	$p < 0,01$	$p < 0,01$ (estadios 1, 2 y 4)	$p < 0,01$ (cauc.)	$p < 0,01$ (H=M)	$p < 0,01$ (41-100)	$p < 0,01$ (normal, sobrepeso, obesidad)	$p < 0,01$ (grados 2, 3 y 4)	$p < 0,01$ (NO, N1)	NS
miR-378a-3p	$p < 0,01$	$p < 0,01$ (estadios 1, 2 y 4)	$p < 0,01$ (cauc.)	$p < 0,01$ (H=M)	$p < 0,01$ (41-80)	$p < 0,01$ (normal, sobrepeso, obesidad)	$p < 0,01$ (grados 2, 3 y 4)	$p < 0,01$ (NO, N1)	NS
miR-92b-3p	$p < 0,01$	$p < 0,01$ (estadios 1, 2 y 4)	$p < 0,01$ (cauc.)	$p < 0,01$ (H=M)	$p < 0,01$ (41-80)	$p < 0,01$ (normal, sobrepeso)	$p < 0,01$ (grados 2 y 3)	$p < 0,01$ (NO, N1)	NS
miR-96-5p	$p < 0,01$	$p < 0,01$ (estadios 1, 2 y 4)	$p < 0,01$ (cauc.)	$p < 0,01$ (H=M)	$p < 0,01$ (41-80)	$p < 0,01$ (normal, sobrepeso, obesidad)	$p < 0,01$ (grados 2 y 3)	$p < 0,01$ (NO, N1)	NS

Fuente: Elaborado a partir de datos de las plataformas CancerMIRNome, OncomiR y UALCAN (TCGA)¹⁷⁻²⁰.

Leyenda: IMC = índice de masa corporal; NS = no significativo; cauc. = caucásico; asiát. = asiático; H = hombres; M = mujeres, significación estadística semejante en ambos sexos.

Nota: Tamaño muestral: Raza: caucásicos (n=31); afro-americanos (n=1); asiáticos (n=3). Sexo: masculino (n=16); femenino (n=19). Edad: 21-40 años (n = 2); 41-60 años (n = 11); 61-80 años (n=20); 81-100 años (n=2).



DISCUSIÓN

La expresión diferencial de miARN es ampliamente reconocida como un mecanismo epigenético central en la regulación de la expresión génica, influenciando procesos celulares esenciales, como proliferación, apoptosis, diferenciación y migración celular¹⁰⁻¹². En este contexto, los miARN se han destacado como reguladores epigenéticos cruciales en diversas neoplasias, incluyendo el CHOL^{23,24}. Estas moléculas actúan predominantemente mediante el silenciamiento postranscripcional de genes objetivo, interfiriendo en la traducción o en la estabilidad del ARN mensajero, modulando directamente la progresión tumoral y el comportamiento biológico de las neoplasias^{10,11}.

Los hallazgos del presente estudio revelan un conjunto de nueve miARN diferencialmente expresos con significación estadística, asociados principalmente a la metástasis ganglionar, un marcador pronóstico de gran relevancia clínica. Entre los nueve explorados, siete (let-7c-5p, miR-182-5p, miR-183-5p, miR-194-3p, miR-378a-3p, miR-92a-3p y miR-96-5p) ya fueron correlacionados con el CHOL y los resultados de este estudio se alinean con los datos ya descritos en literatura²⁵⁻³⁰. Los otros dos miARN abordados en el artículo (miR-1258 y miR-301a-3p) son inéditos, a pesar de su relación con otros tipos de cáncer, principalmente el carcinoma hepatocelular^{31,32}.

En ese sentido, tales miARN pueden estar más directamente implicados en eventos específicos de la progresión tumoral local y de la diseminación linfática, ejerciendo influencia limitada sobre resultados clínicos de largo plazo, como la mortalidad. Entre ellos se destaca el let-7c-5p, miembro de la familia let-7, conocida por su función supresora de oncogenes²⁵. Estudios previos demostraron que la reducción de la expresión de let-7c-5p en tejidos tumorales de CHOL está asociada a mayor agresividad tumoral y a la inhibición de la autorrenovación y del crecimiento tumoral, aunque también pueda promover la invasión y crecimiento en sitios extrahepáticos, sugiriendo un papel dual que depende del contexto celular y de los objetivos moleculares involucrados³³. Esta dualidad puede reflejar la interacción con objetivos distintos, como EZH2 y el eje DVL3/ β -catenina, resaltando la complejidad de su aplicación terapéutica³³.

El miR-1258 ha sido caracterizado como supresor tumoral, inhibiendo la traducción de la proteína RTA, reguladora de la reactivación de virus de herpes oncogénicos, como el asociado al sarcoma de Kaposi³⁴. En cánceres del tracto gastrointestinal, niveles reducidos de miR-1258 fueron asociados a mayor estadio tumoral, compromiso linfovascular y progresión patológica³⁴, confiriéndole valor pronóstico y potencial terapéutico.

El miR-182-5p también se destaca como biomarcador terapéutico y diagnóstico, asociado a mutaciones en genes críticos como BRCA1, BCR-ABL1 y HPGD^{35,36}. El miARN exosomal mir-182-5p presente en la bilis de pacientes con colangiocarcinoma se presentó sobreexpresado, promoviendo progresión tumoral mediante la inhibición del gen HPGD y el consiguiente aumento de PGE2, evidenciando su potencial como biomarcador y objetivo terapéutico²⁶.

El miR-183 regula vías críticas del ciclo celular, apoptosis y diferenciación^{37,38}. En carcinomas hepáticos, pulmonares, prostáticos y colorrectales, niveles elevados de miR-183 fueron asociados a hipermetilación del ADN, mayor poder invasivo y peor pronóstico^{37,38}, sugiriendo su utilidad como biomarcador y objetivo terapéutico.

En este estudio, el miR-194-3p se destacó por su asociación con todas las variables clínicas y demográficas analizadas. Reconocido como supresor tumoral en diversas neoplasias, regula la transición epitelio-mesenquimal (EMT), la expresión de FoxM1, PD-L1/PD-L2 y otros genes protumorales³⁹⁻⁴⁴. Específicamente en el CHOL, el miR-194-3p inhibe el crecimiento tumoral al regular negativamente la secuencia de transformación de células epiteliales 2 (ECT2) y bloquear la vía Rho, configurándose como un potencial objetivo terapéutico²⁷. La reintroducción de este miARN demostró capacidad de inhibir proliferación, migración, evasión inmune y EMT en diferentes modelos, indicando su potencial prometedor para estrategias terapéuticas, inclusive en tumores quimiorresistentes³⁹⁻⁴².

El miR-301a, a su vez, actúa predominantemente como oncomiR, inhibiendo supresores tumorales como *RUNX3*, comprometiendo la función de células NK y favoreciendo la proliferación tumoral⁴⁵⁻⁴⁷. A pesar de sus efectos contextuales sobre pronóstico, en este estudio no fue observada alguna correlación significativa entre su expresión y la sobrevida de los pacientes.

El miR-378a-3p se mostró asociado a la supresión tumoral, inhibiendo *RAB31* y la vía *Hedgehog*, reduciendo proliferación, migración y la formación de células madre tumorales^{48,49}. Su desempeño como biomarcador diagnóstico y pronóstico ha sido promisor en cánceres como el de próstata.

El miR-92b-3p presentó perfil de oncomiR, estando asociado a peor pronóstico en hepatocarcinoma, cáncer de mama y otras neoplasias, modulando objetivos como CPEB3, ACADL y Smad7^{50,51}. De la misma forma, el miR-96-5p, integrante del clúster miR-183, exhibió sobreexpresión tumoral en diversos tipos de cáncer, reprimiendo genes supresores como FOXO3a y PDCD4, y promoviendo proliferación y sobrevivencia celular⁵²⁻⁵⁷. Específicamente en el CHOL, estudios recientes

demuestran que el miR-96 ejerce función oncogénica, favoreciendo progresión tumoral y metástasis mediante la inhibición del gen MTSS1, sugiriendo su potencial como biomarcador pronóstico u objetivo terapéutico, después de validación externa³⁰.

Colectivamente, los resultados refuerzan la relevancia de un enfoque integrador que combine análisis bioinformáticos y validación experimental para dilucidar el papel funcional de estos miARN. Los nueve miARN diferencialmente expresos parecen actuar en procesos como EMT, remodelación de la matriz extracelular, evasión inmune y proliferación, mecanismos centrales en la diseminación linfática del CHOL. Así, sustentan la hipótesis de que estos miARN modulan la agresividad tumoral, presentando potencial para estratificación pronóstica de pacientes con CHOL. Aunque no se hayan correlacionado con la sobrevida global, demostraron fuerte asociación con metástasis ganglionar, uno de los principales determinantes de pronóstico y elegibilidad para resección quirúrgica. De esta forma, aun sin impacto directo sobre la mortalidad, estos miARN pueden estar más directamente implicados en eventos específicos de la progresión tumoral local y de la diseminación linfática, auxiliando en la estratificación preoperatoria y en la toma de decisiones terapéuticas.

Entre las limitaciones del estudio, se destaca la ausencia de validación experimental *in vitro* o *in vivo*, restringiendo el traslado inmediato de los hallazgos hacia la práctica clínica. Se trata de un análisis exclusivamente bioinformático, con carácter exploratorio y sin validación externa. Por otro lado, la estabilidad transdemográfica sugiere que los miARN analizados presentan robustez biológica y clínica, viéndose poco influidos por características individuales, lo que refuerza su potencial como marcadores pronósticos. Además, los datos derivados exclusivamente del TCGA están sujetos a sesgo muestral y a vacíos en informaciones clínicas detalladas. Futuras investigaciones deben contemplar la manipulación de miARN, como el miR-194-3p y el miR-1258 en modelos celulares y murinos, así como la validación en cohortes independientes, para confirmar su aplicabilidad como biomarcadores no invasivos u objetivos terapéuticos.

CONCLUSIÓN

Este estudio identificó nueve miARNs diferencialmente expresos asociados a la presencia de metástasis ganglionar en el CHOL, destacándose el miR-194-3p por su amplia correlación con variables clínicas y demográficas. Aunque no se hayan observado asociaciones significativas con la sobrevida global, los miARN identificados demuestran

potencial valor diagnóstico y pronóstico, sobre todo para la estratificación tumoral y la comprensión de los mecanismos moleculares subyacentes a la progresión local de la enfermedad. Estudios adicionales, con validación experimental y análisis funcional, son necesarios para consolidar su utilidad como biomarcadores y potenciales objetivos terapéuticos en el manejo del CHOL, considerándose el carácter exploratorio del presente análisis.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Ruan César Aparecido Pimenta por la valiosa clase sobre “Introducción a la Bioinformática para Investigaciones Biomédicas con Uso de Plataformas Online”, dictada en la Liga Académica de Oncología de la Facultad Atenas Passos, la cual contribuyó para la profundización de los conocimientos aplicados en este estudio sobre miARN en el diagnóstico y pronóstico del colangiocarcinoma.

APORTES

Todos los autores contribuyeron en la concepción y en la planificación del estudio; en la obtención, análisis e interpretación de los datos; en la redacción y revisión crítica; y aprobaron la versión final a publicarse.

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERESES

Nada a declarar.

DECLARACIÓN DISPONIBILIDAD DE DATOS

Todos los contenidos subyacentes al texto del artículo están dentro del manuscrito.

FUENTES DE FINANCIAMIENTO

No hay.

REFERENCIAS

1. Massarweh NN, El-Serag HB. Epidemiology of hepatocellular carcinoma and intrahepatic cholangiocarcinoma. *Cancer Control*. 2017;24(3):1073274817729245. doi: <https://doi.org/10.1177/1073274817729245>
2. Gomes RV. Expressão do receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) como fator prognóstico no colangiocarcinoma [dissertação na Internet]. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais; 2016 [acesso 2025 jan 15]. 64 p. Disponível em: <http://hdl.handle.net/1843/BUBD-AMNLLH>



3. Banales JM, Cardinale V, Carpino G, et al. Cholangiocarcinoma: current knowledge and future perspectives consensus statement from the European Network for the Study of Cholangiocarcinoma (ENS-CCA). *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2016;13(5):261-80. doi: <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2016.51>
4. Qurashi M, Vithayathil M, Khan SA. Epidemiology of cholangiocarcinoma. *Eur J Surg Oncol*. 2025;51(2):107064. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2023.107064>
5. Tsung C, Quinn PL, Ejaz A. Management of intrahepatic cholangiocarcinoma: a narrative review. *Cancers (Basel)*. 2024;16(4):739. doi: <https://doi.org/10.3390/cancers16040739>
6. Maki H, Kawaguchi Y, Nagata R, et al. Conditional recurrence analysis of intrahepatic cholangiocarcinoma: Changes in recurrence rate and survival after recurrence resection by disease-free interval. *Hepatol Res*. 2023;53(12):1224-34. doi: <https://doi.org/10.1111/hepr.13951>
7. Brindley PJ, Bachini M, Ilyas SI, et al. Cholangiocarcinoma. *Nat Rev Dis Primers*. 2021;7(1):65. doi: <https://doi.org/10.1038/s41572-021-00300-2>
8. Zhang XF, Xue F, Dong DD, et al. Proposed modification of the eighth edition of the AJCC staging system for intrahepatic cholangiocarcinoma. *HPB (Oxford)*. 2021;23(5):581591. doi: <https://doi.org/10.1016/j.hpb.2020.08.016>
9. Magri Júnior JE. Características anatomoclínicas e análise da sobrevida na neoplasia intraductal papilífera dos ductos biliares (IPNB) [dissertação na Internet]. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais; 2020 [acesso 2025 jan 15]. 45 p. Disponível em: <http://hdl.handle.net/1843/46582>
10. Saliminejad K, Khorram Khorshid HR, Soleymani Fard S, et al. An overview of microRNAs: biology, functions, therapeutics, and analysis methods. *J Cell Physiol*. 2019;234(5):5451-65. doi: <https://doi.org/10.1002/jcp.27486>
11. Jorge AL, Pereira ER, Oliveira CS, et al. MicroRNAs: understanding their role in gene expression and cancer. *Einstein (São Paulo)*. 2021;19:eRB5996. doi: https://doi.org/10.31744/einstein_journal/2021RB5996
12. Hill M, Tran N. miRNA interplay: mechanisms and consequences in cancer. *Dis Model Mech*. 2021;14(4):dmm047662. doi: <https://doi.org/10.1242/dmm.047662>
13. Di Cosimo S, Appierto V, Pizzamiglio S, et al. Early modulation of circulating microRNAs levels in HER2-positive breast cancer patients treated with trastuzumab-based neoadjuvant therapy. *Int J Mol Sci*. 2020;21(4):1386. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms21041386>
14. Bautista-Sánchez D, Arriaga-Canon C, Pedroza-Torres A, et al. The promising role of miR-21 as a cancer biomarker and its importance in RNA-based therapeutics. *Mol Ther Nucleic Acids*. 2020;20:409-20. doi: <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2020.03.003>
15. Hussen BM, Hidayat HJ, Salihi A, et al. MicroRNA: a signature for cancer progression. *Biomed Pharmacother*. 2021;138:111528. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111528>
16. Liu X, Zhao H, Liu J, et al. Identification of tumor-suppressive miRNAs that target LAT1 expression in cholangiocarcinoma cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2024;713:1-8. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2024.03.045>
17. The Cancer Genome Atlas Program (TCGA) [Internet]. Bethesda: NIH; 2006 [acesso 2025 set 1]. Disponível em: <https://www.cancer.gov/ccg/research/genome-sequencing/tcga>
18. Li R, Qu H, Wang S, et al. CancerMIRNome: an interactive analysis and visualization database for miRNome profiles of human cancer. *Nucleic Acids Res*. 2022;50(D1):D1139-46. doi: <https://doi.org/10.1093/nar/gkab784>
19. OncomiR: WashU pan-cancer miRNome atlas [Internet]. St. Louis (MO): WashU; 2018 [acesso 2025 jul 1]. Disponível em: <https://www.oncomir.org>
20. UALCAN: TCGA miRNA analysis portal [Internet]. Birmingham: University of Alabama at Birmingham, Department of Pathology; 2017 [acesso 2025 jul 1]. Disponível em: <https://ualcan.path.uab.edu>
21. Conselho Nacional de Saúde (BR). Resolução nº 510, de 7 de abril de 2016. Dispõe sobre as normas aplicáveis a pesquisas em Ciências Humanas e Sociais cujos procedimentos metodológicos envolvam a utilização de dados diretamente obtidos com os participantes ou de informações identificáveis ou que possam acarretar riscos maiores do que os existentes na vida cotidiana, na forma definida nesta Resolução [Internet]. Diário Oficial da União, Brasília, DF. 2016 maio 24 [acesso 2025 abr 7]; Seção 1:44. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/cns/2016/res0510_07_04_2016.html
22. Presidência da República (BR). Lei nº 12.527, de 18 de novembro de 2011. Regula o acesso a informações previsto na Constituição Federal. Diário Oficial da União [Internet], Brasília, DF. 2011 nov 18 [acesso 2025 abr 7]; Edição 221-A; Seção 1:1-4. Disponível em: <https://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=18/11/2011&jornal=1000&pagina=1&totalArquivos=12>

23. Alkhazaali-Ali Z, Sahab-Negah S, Boroumand AR, et al. MicroRNA (miRNA) as a biomarker for diagnosis, prognosis, and therapeutics molecules in neurodegenerative disease. *Biomed Pharmacother*. 2024;177:116899. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2024.116899>
24. He B, Zhao Z, Cai Q, et al. miRNA-based biomarkers, therapies, and resistance in cancer. *Int J Biol Sci*. 2020;16(14):2628-47. doi: <https://doi.org/10.7150/ijbs.47203>
25. Xie Y, Zhang H, Guo XJ, et al. Let-7c inhibits cholangiocarcinoma growth but promotes tumor cell invasion and growth at extrahepatic sites. *Cell Death Dis*. 2018;9(2):249. doi: <https://doi.org/10.1038/s41419-018-0286-6>
26. Shu L, Li X, Liu Z, et al. Bile exosomal miR-182/183-5p increases cholangiocarcinoma stemness and progression by targeting HPGD and increasing PGE2 generation. *Hepatology*. 2024;79(2):307-22. doi: <https://doi.org/10.1097/HEP.0000000000000437>
27. Gao J, Dai C, Yu X, et al. Upregulated microRNA-194 impairs stemness of cholangiocarcinoma cells through the Rho pathway via inhibition of ECT2. *J Cell Biochem*. 2020;121(10):4239-50. doi: <https://doi.org/10.1002/jcb.29648>
28. Zhou Z, Ma J. miR-378 serves as a prognostic biomarker in cholangiocarcinoma and promotes tumor proliferation, migration, and invasion. *Cancer Biomark*. 2019;24(2):173-81. doi: <https://doi.org/10.3233/CBM-181980>
29. Han HS, Kim MJ, Han JH, et al. Bile-derived circulating extracellular miR-30d-5p and miR-92a-3p as potential biomarkers for cholangiocarcinoma. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. 2020;19(1):41-50. doi: <https://doi.org/10.1016/j.hbpd.2019.10.009>
30. Yin X, Chai Z, Sun X, et al. Overexpression of microRNA-96 is associated with poor prognosis and promotes proliferation, migration and invasion in cholangiocarcinoma cells via MTSS1. *Exp Ther Med*. 2020;19(4):2757-65. doi: <https://doi.org/10.3892/etm.2020.8502>
31. Lin W, Lin J, Li J, et al. Kindlin-2-miR-1258-TCF4 feedback loop promotes hepatocellular carcinoma invasion and metastasis. *J Gastroenterol*. 2022;57(5):372-86. doi: <https://doi.org/10.1007/s00535-022-01866-8>
32. Peng X, Yang R, Wang C, et al. The YTHDF3-DT/miR-301a-3p /INHBA axis attenuates autophagy-dependent ferroptosis in lung adenocarcinoma. *Cancer Lett*. 2025;613:217503. doi: <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2025.217503>
33. Xie Y, Zhang H, Guo XJ, et al. Let-7c inhibits cholangiocarcinoma growth but promotes tumor cell invasion and growth at extrahepatic sites. *Cell Death Dis*. 2018;9:249. doi: <https://doi.org/10.1038/s41419-018-0286-6>
34. Shi J, Chen P, Sun J, et al. MicroRNA-1258: an invasion and metastasis regulator that targets heparanase in gastric cancer. *Oncol Lett*. 2017;13(5):3739-3745. doi: <https://doi.org/10.3892/ol.2017.5886> Erratum in: *Oncol Lett*. 2021;22(6):842. doi: <https://doi.org/10.3892/ol.2021.13103>
35. Yacob AM, Muhamad NA, Chang KM, et al. Hsa-miR-181a-5p, hsa-miR-182-5p, and hsa-miR-26a-5p as potential biomarkers for BCR-ABL1 among adult chronic myeloid leukemia treated with tyrosine kinase inhibitors at the molecular response. *BMC Cancer*. 2022;22(1):332. doi: <https://doi.org/10.1186/s12885-022-09396-5>
36. Elias K, Smyczynska U, Stawiski K, et al. Identification of BRCA1/2 mutation female carriers using circulating microRNA profiles. *Nat Commun*. 2023;14(1):3350. doi: <https://doi.org/10.1038/s41467-023-38925-4>
37. Oliveira-Rizzo C, Ottati MC, Fort RS, et al. Hsa-miR-183-5p Modulates Cell Adhesion by Repression of ITGB1 Expression in Prostate Cancer. *Noncoding RNA*. 2022;8(1):11. doi: <https://doi.org/10.3390/ncrna8010011>
38. Li M, Xu DM, Lin SB, et al. Transcriptional expressions of hsa-mir-183 predicted target genes as independent indicators for prognosis in bladder urothelial carcinoma. *Aging (Albany NY)*. 2022;14(9):3782-800. doi: <https://doi.org/10.18632/aging.204040>
39. Zhu X, Li D, Yu F, et al. miR-194 inhibits the proliferation, invasion, migration, and enhances the chemosensitivity of non-small cell lung cancer cells by targeting forkhead box A1 protein. *Oncotarget*. 2016;7(11):13139-52. doi: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.7545>
40. Fan F, Chen K, Lu X, et al. Dual targeting of PD-L1 and PD-L2 by PCED1B-AS1 via sponging hsa-miR-194-5p induces immunosuppression in hepatocellular carcinoma. *Hepatol Int*. 2021;15(2):444-58. doi: <https://doi.org/10.1007/s12072-020-10101-6>
41. Cui Z, Wang J, Chen G, et al. The upregulation of CLGN in hepatocellular carcinoma is potentially regulated by hsa-miR-194-3p and associated with patient progression. *Front Oncol*. 2023;12:1081510. doi: <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.1081510>
42. Vajen B, Greiwe L, Schäffer V, et al. MicroRNA-192-5p inhibits migration of triple negative breast cancer cells and directly regulates Rho GTPase activating protein 19. *Genes Chromosomes Cancer*. 2021;60(11):733-42. doi: <https://doi.org/10.1002/gcc.22982>



43. Wang Y, Huang L, Shan N, et al. Establishing a three-miRNA signature as a prognostic model for colorectal cancer through bioinformatics analysis. *Aging (Albany NY)*. 2021;13(15):19894-907. doi: <https://doi.org/10.18632/aging.203400>
44. Su L, Zhang J, Zhang X, et al. Identification of cell cycle as the critical pathway modulated by exosome-derived microRNAs in gallbladder carcinoma. *Med Oncol*. 2021;38(12):141. doi: <https://doi.org/10.1007/s12032-021-01594-8>
45. Zhang J, Yang Y, Wei Y, et al. Hsa-miR-301a-3p inhibited the killing effect of natural killer cells on non-small cell lung cancer cells by regulating RUNX3. *Cancer Biomark*. 2023;37(4):249-59. doi: <https://doi.org/10.3233/cbm-220469>
46. Öztumur Islakoğlu Y, Noyan S, Gür Dedeoğlu B. Hsa-miR-301a- and SOX10-dependent miRNA-TF-mRNA regulatory circuits in breast cancer. *Turk J Biol*. 2018;42(2):103-12. doi: <https://doi.org/10.3906/biy-1708-17>
47. Pliakou E, Lampropoulou DI, Dovrolis N, et al. Circulating miRNA expression profiles and machine learning models in association with response to irinotecan-based treatment in metastatic colorectal cancer. *Int J Mol Sci*. 2022;24(1):46. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms24010046>
48. Xu X, Li Y, Liu G, et al. MiR-378a-3p acts as a tumor suppressor in gastric cancer via directly targeting RAB31 and inhibiting the Hedgehog pathway proteins GLI1/2. *Cancer Biol Med*. 2022;19(12):1662-82. doi: <https://doi.org/10.20892/j.issn.2095-3941.2022.0337>
49. Zhang Y, Ding N, Xie S, et al. Identification of important extracellular vesicle RNA molecules related to sperm motility and prostate cancer. *Extracell Vesicles Circ Nucleic Acids*. 2021;2(2):104-26. doi: <https://doi.org/10.20517/evcna.2021.02>
50. Deng R, Cui X, Dong Y, et al. Construction of circRNA-Based ceRNA network to reveal the role of circRNAs in the progression and prognosis of hepatocellular carcinoma. *Front Genet*. 2021;12:626764. doi: <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.626764>
51. Manzanarez-Ozuna E, Flores DL, Gutiérrez-López E, et al. Model based on GA and DNN for prediction of mRNA-Smad7 expression regulated by miRNAs in breast cancer. *Theor Biol Med Model*. 2018;15(1):24. doi: <https://doi.org/10.1186/s12976-018-0095-8>
52. Hong Y, Liang H, Uzair-ur-Rehman, et al. miR-96 promotes cell proliferation, migration and invasion by targeting PTPN9 in breast cancer. *Sci Rep*. 2016;6:37421. doi: <https://doi.org/10.1038/srep37421>
53. Mendes DCC, Calvano Filho CMC, Garcia N, et al. Could FOXO3a, miR-96-5p, and miR-182-5p be useful for Brazilian women with luminal a and triple-negative breast cancers prognosis and target therapy? *Clinics (Sao Paulo)*. 2023;78:e100155. doi: <https://doi.org/10.1016/j.clinsp.2022.100155>
54. Kandhavelu J, Subramanian K, Khan A, et al. Computational analysis of miRNA and their gene targets significantly involved in colorectal cancer progression. *Microna*. 2019;8(1):68-75. doi: <https://doi.org/10.2174/2211536607666180803100246>
55. Gujrati H, Ha S, Wang BD. Deregulated microRNAs involved in prostate cancer aggressiveness and treatment resistance mechanisms. *Cancers (Basel)*. 2023;15(12):3140. doi: <https://doi.org/10.3390/cancers15123140>
56. Ma Y, Liang AJ, Fan YP, et al. Dysregulation and functional roles of miR-183-96-182 cluster in cancer cell proliferation, invasion and metastasis. *Oncotarget*. 2016;7(27):42805-25. doi: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.8715>
57. Zheng Y, Sukocheva O, Tse E, et al. MicroRNA-183 cluster: a promising biomarker and therapeutic target in gastrointestinal malignancies. *Am J Cancer Res [Internet]*. 2023 [acesso 2025 nov 17];13(12):6147-75. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38187051/>

Recebido em 23/7/2025
Aprovado em 5/10/2025

