BRUNA LORENCINI DA SILVA

**O EFEITO DE TRITERPENOS QUINONAMETÍDEOS SOBRE
A REGULAÇÃO DE microRNAs ASSOCIADOS COM
PROLIFERAÇÃO E APOPTOSE NO CÂNCER DE CABEÇA E
PESCOÇO**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação Interunidades em
Biotecnologia USP/Instituto Butantan/IPT,
para obtenção do Título de Mestre em
Biotecnologia

São Paulo
2016

BRUNA LORENCINI DA SILVA

**O efeito de triterpenos quinonametídeos sobre a
regulação de microRNAs associados com proliferação
e apoptose no câncer de cabeça e pescoço**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação Interunidades em
Biotecnologia USP/Instituto Butantan/IPT,
para obtenção do Título de Mestre em
Biotecnologia

Área de Concentração: Biotecnologia

Orientador(a): Dra. Patrícia Severino

Versão original

São Paulo
2016

RESUMO

SILVA, B. L. **O efeito de triterpenos quinonametídeos sobre a regulação de microRNAs associados com proliferação e apoptose no câncer de cabeça e pescoço.** 2016. 86 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, 2016.

Um dos tipos de câncer mais frequente no mundo é o carcinoma epidermoide de cabeça e pescoço (CECP), o qual está principalmente associado ao uso abusivo de tabaco e álcool. Apesar dos avanços nos tratamentos cirúrgicos e radioterápicos, mais de 50% dos pacientes com CECP são acometidos por recidiva em 2 anos após tratamento, e a taxa de mortalidade é uma das mais altas dentre os tumores mais incidentes. A dificuldade de resposta eficiente aos tratamentos está relacionada à complexidade molecular deste tumor. A regulação realizada por pequenas moléculas de RNA não codificantes de proteínas, denominadas microRNAs, também contribui para esta complexidade. MicroRNAs regulam uma parte significativa dos genes humanos, dentre os quais genes responsáveis por controlar proliferação e apoptose, caracterizando seu papel na progressão tumoral e resistência a quimioterápicos. O entendimento sobre como moléculas com ação antineoplásica atuam sobre a regulação de microRNAs pode contribuir para a compreensão de resultados terapêuticos. Neste estudo avaliamos a ação de dois triterpenos quinonametídeos, maitenina e 22- β -hidroximaitenina, compostos isolados a partir da planta brasileira *Maytenus ilicifolia*, sobre a regulação de microRNAs associados com proliferação e apoptose em CECP. O efeito destas moléculas foi avaliado frente a linhagens tumorais derivadas de CECP e em queratinócitos orais derivados de cultura primária livres de tumor. Observou-se maior sensibilidade das células derivadas de tumor quando comparadas aos queratinócitos. Por análise utilizando microarranjos de DNA observou-se que a maitenina altera a expressão de 101 microRNAs em SCC25 após 24 horas de tratamento. Dentre estes microRNAs, 15 haviam sido previamente associados com a proliferação celular e apoptose em CECP. O microRNA miR-196b apresentou maior regulação de expressão. Este resultado foi confirmado em duas outras linhagens derivadas de CECP, e observou-se ainda efeito semelhante para a 22- β -hidroximaitenina. Os resultados indicam que os dois triterpenos quinonametídeos avaliados reduzem eficazmente a viabilidade das células do câncer de cabeça e pescoço e a regulação de microRNAs faz parte dos mecanismos envolvidos neste efeito.

Palavras-chave: 22- β -hidroximaitenina. Maitenina. Cavidade oral. Orofaringe. Queratinócitos.

ABSTRACT

SILVA, B. L. **The effect of triterpenoids quinonamethide on the regulation of microRNAs associated with proliferation and apoptosis in head and neck cancer.** 2016. 86 p. Dissertation (Master thesis in Biotechnology) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, 2016.

Head and neck squamous cell carcinoma of head and neck (HNSCC) is one of the most frequent cancer types in the world. It is mainly associated with the abuse of tobacco and alcohol. Despite advances in surgical and radiotherapy treatments, more than 50% of patients with HNSCC are affected by relapse within 2 years after treatment, and the mortality rate is one of the highest among the most incidents tumors. The difficulty of effective response to treatment is related to the molecular complexity of this tumor. The regulation performed by microRNAs small non-coding RNA molecules, also adds to this complexity. MicroRNAs regulate a significant proportion of human genes, among which genes involved in cell growth and apoptosis, characterizing an important role in tumor progression. The comprehension of how anticancer molecules interfere with microRNA expression should contribute to the understanding of treatment outcome. This study evaluated the effect of two quinonamethide triterpenoids, maytenin and 22- β -hidroxymaytenin, compounds isolated from the Brazilian plant *Maytenus ilicifolia*, on the regulation of microRNAs associated with proliferation and apoptosis in HNSCC. The effect of these molecules was evaluated in tumor cell lines derived from HNSCC and oral keratinocytes derived from primary tumor-free culture. A higher sensitivity of tumor-derived cells as compared to keratinocytes was observed. It was found that maitenin regulated the expression of 101 microRNAs, of which 15 had been previously associated with cell proliferation and apoptosis in HNSCC. MicroRNA-196b was the most regulated upon a 24h treatment of SCC25 cell line. This effect was confirmed in two additional HNSCC cell lines and a similar result was observed for 22- β -hidroxymaytenin. Taken together the results show that the two triterpenoids quinonamethide studied here effectively reduced cell viability of HNSCC-derived cell lines and that microRNA regulation is one of the mechanisms involved in this effect.

Keywords: 22- β -hidroxymaytenin. Maytenin. Oral cavity. Oropharynx. Keratinocytes.

INTRODUÇÃO

O câncer é uma doença complexa caracterizada pelo crescimento celular anormal. Durante esse processo as células normais adquirem resistência a sinais que controlam seu crescimento, resultando em distúrbios na proliferação, diferenciação e apoptose celular. Tal processo é associado à desregulação de genes específicos, como oncogenes e supressores tumorais (CAMPISI, 2003).

Dos diversos tipos de tumores existentes, um dos mais frequentes é o carcinoma epidermoide de cabeça e pescoço (CECP), o qual inclui tumores de cavidade oral, laringe e faringe, sendo a sexta neoplasia mais comum no mundo (FERLAY et al., 2015). Dentre os principais fatores de risco estão o uso abusivo de álcool, tabaco e exposição ao papiloma vírus (HPV), este último principalmente para tumores de orofaringe (LEEMANS; BRAAKHUIS; BRAKENHOFF, 2011).

O tratamento padrão para carcinomas de cabeça e pescoço depende da localização do tumor, seu estágio e da idade do paciente, e inclui a cirurgia, terapia de radiação, quimioterapia, ou uma combinação de tratamentos (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2015). As taxas de sobrevida relativa para pacientes com CECP é de 63% em 5 anos, porém menos de um terço dos casos (31%) são diagnosticados na fase inicial, para o qual a sobrevida é de 83% em 5 anos (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2015). Cerca de 50% dos pacientes são acometidos por recidiva geralmente nos dois primeiros anos após tratamento com taxas de resposta entre 10 e 35% e sobrevida média de 6 a 12 meses (SUH et al., 2014). Sabe-se que um grande número de mutações associadas a este carcinoma está vinculado à resposta aos quimioterápicos (OCK et al., 2015), tornando a busca por novas terapias uma necessidade urgente.

A regulação realizada por pequenas moléculas de RNA não codificantes de proteínas, denominadas microRNAs, contribui para a complexidade molecular do CECP. MicroRNAs regulam uma parte significativa dos genes humanos, dentre os quais genes responsáveis por controlar proliferação e apoptose, o que caracteriza seu papel na progressão tumoral. Desta forma, moléculas que atuem na regulação da expressão desses microRNAs, podem ser fontes alternativas de novas terapias. Neste estudo avaliamos a ação de dois triterpenos quinonametídeos, maitenina e 22- β -hidroximaitenina, compostos isolados a partir da planta brasileira *Maytenus*

ilicifolia, sobre a regulação de microRNAs associados com proliferação e apoptose em CECp.

1.1 Carcinoma Epidermoide de Cabeça e Pescoço

O carcinoma de cabeça e pescoço é a sexta neoplasia mais comum no mundo, sendo contabilizados 686.328 novos casos por ano (TORRE et al., 2015). É um termo amplo que abrange carcinomas epiteliais da mucosa que surgem nas vias aerodigestivas (cavidade oral, fossas nasais, seios paranasais, faringe e laringe) (Figura 1) dos quais 90% são epidermóides (BOSE, BROCKTON; DORT, 2013).

Figura 1- Anatomia do carcinoma de cabeça e pescoço; A (Anatomia geral de CECp); B (Anatomia dos seios paranasais); C (Anatomia da cavidade oral); D (Anatomia da laringe). Fonte: Adaptado de (NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, 2015).

Trata-se de uma doença agressiva responsável por 5% de todos os diagnósticos de câncer (SHETH et al., 2015). Dentre os carcinomas epidermóides

75% tem início na cavidade oral (DOUGLAS, 2015), o qual se manifesta a partir de lesões que podem surgir na língua, mucosa bucal, gengiva, lábios, assoalho da boca e palato duro.

No Brasil, no ano de 2014, foram estimados 15.290 novos casos de câncer oral com maior incidência em homens (73.77%). Registros epidemiológicos apontam a região sudeste e a nordeste com a maior incidência de novos casos, ocupando a quinta posição entre as neoplasias mais frequentes em homens, quando os cânceres de pele não melanoma são excluídos. (INCA, 2014). Com relação aos dados mundiais CECP apresenta incidência de aproximadamente 700.000 novos casos (tabela 1 e 2), isso de acordo com o último relatório da IARC (do inglês: *International Agency for Research on Cancer*) denominado de GLOBOCAN 2012 (TORRE et al., 2015). A mortalidade por CECP (55%) é a terceira causa de morte mundial entre os carcinomas mais incidentes, considerado portanto pior do que carcinomas mais frequentes como mama (taxa de mortalidade de 31%), colorretal (51%) e próstata (27%).

Tabela 1- Incidência e Mortalidade Mundial dos 6 tipos de tumores mais frequentes para ambos os sexos (exceto câncer de mama e próstata) de acordo com a GLOBOCAN, 2012. Fonte: Adaptado de (TORRE et al., 2015; GLOBOCAN, 2012).

Incidência e Mortalidade Mundial		
Câncer	Incidência	Mortalidade
Pulmão	1.824.700	1.589.900
Mama	1.676.600	521.900
Colorretal	1.360.600	693.900
Próstata	1.111.700	307.500
Estômago	951.600	723.100
Cabeça e Pescoço	686.328	375.665

Tabela 2- Incidência e Mortalidade Mundial de CECP para ambos os sexos, separadas por sítios, de acordo com a GLOBOCAN, 2012. Fonte: Adaptado de (TORRE et al., 2015; GLOBOCAN, 2012).

Incidência e Mortalidade Mundial de CECP		
Localidade	Incidência	Mortalidade
Lábio e Cavidade Oral	300.373	145.353
Laringe	156.877	83.376
Orofaringe e Hipofaringe	142.387	96.105
Nasofaringe	86.691	50.831

O carcinoma de cabeça e pescoço tem sido associado a uma variedade de agentes etiológicos, dos quais o consumo excessivo de álcool, tabaco e a exposição ao papiloma vírus humano (HPV), particularmente HPV tipo 16 (HPV16) e HPV tipo 18 (HPV18) se encontram entre os principais fatores de risco. Em 2009, Hashibe et al. revisaram 17 estudos de casos pertencentes ao INHANCE (*International Head and Neck Cancer Epidemiology Consortium*) e identificaram que o tabaco e o consumo de álcool representam 72% dos casos deste carcinoma na Europa, América do Norte e América Latina. Dos quais 4% estão associados apenas ao álcool, 33% ao tabaco e 35% se combinados (HASHIBE et al., 2009). A prevalência de HPV positivos em pacientes com câncer de cabeça e pescoço corresponde a 22% dos casos (DAYYANI et al., 2010) porém se levado em consideração apenas os tumores de orofaringe pode chegar a até 90% (CASTRO et al., 2009; KELLOKOSKI et al., 1992; YOUNG et al., 2015). Outros fatores de risco, como a falta de higiene bucal, má alimentação e hereditariedade, apesar de menos recorrentes, podem também desempenhar um papel na carcinogênese (KUNDU; NESTOR, 2012).

O prognóstico para pacientes com CECP é de difícil avaliação e hoje é avaliado apenas em função do tamanho do tumor, à presença de nódulos linfáticos, metástases e metástase à distância (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2015). No momento do diagnóstico, são utilizados sistemas de classificação a fim de definir o estágio e o grau de disseminação do tumor. Este sistema varia de fase 0,

classificado como tumor *in situ* (o câncer presente apenas na camada de origem) até fase IV (doença avançada) (NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, 2015).

Na fase I ocorre a formação do tumor que não deve ultrapassar 2 centímetros de extensão. Já no estágio II, o tumor se encontra entre 2 a 4 centímetros e não atingiu os gânglios linfáticos. Na fase III, o tumor se espalhou para um linfonodo ou é maior do que 4 centímetros. Quando o câncer se encontra avançado é denominado de fase IV podendo ser dividido em estágios IVa (o câncer se espalhou para tecidos próximos e/ou se encontra entre 4 e 6 centímetros), IVb (o tumor é maior do que 6 centímetros e se espalhou para um ou mais nódulos linfáticos) e IVc (o câncer se espalhou para partes distantes do corpo) (NIH, 2015). A figura 2 ilustra o tamanho dos tumores nos estágios de desenvolvimento descritos acima.

Figura 2- Tamanho dos tumores comparado com os tamanhos de ervilha, amendoim, noz e limão.

Fonte: Adaptado de (NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, 2015).

Aproximadamente um terço dos pacientes diagnosticados no estágio inicial da doença é submetido a tratamento cirúrgico e/ou radioterápico com sobrevivência de 70-90% dependendo do local do tumor primário (ZHANG et al., 2015a). Todavia a maioria dos pacientes é diagnosticada quando já se encontram em estágios avançados da doença. Nestes casos, o tratamento envolve cirurgia complexa seguida de radioterapia ou quimioterapia.

A cirurgia pode ser por ampla excisão local (remoção do tumor e do tecido saudável em torno) seguida ou não por esvaziamento cervical (remoção dos gânglios linfáticos e outros tecidos do pescoço, necessário quando o câncer se espalhou para áreas adjacentes) (NIH, 2015).

A radioterapia consiste no uso da radiação, principalmente raios-X, para matar as células cancerosas. Na terapia de radiação hiperfracionada, a radiação é dividida em pequenas doses, mais de uma vez ao dia. Existe ainda a hipertermia terapêutica, tratamento em que o corpo é submetido a aquecimento a fim de danificar e matar as células cancerígenas ou torná-las mais sensíveis aos efeitos da radiação e de fármacos anticâncer (NIH, 2015).

A quimioterapia é um tratamento que consiste no uso de fármacos que bloqueiam o crescimento celular, seja matando-as ou impedindo a divisão celular. Compreende a quimioterapia sistêmica (via oral ou injetada) onde os medicamentos atingem a corrente sanguínea e atuam nas células cancerosas por todo o corpo, e a quimioterapia regional, quando os medicamentos afetam principalmente as células tumorais naquelas áreas (NIH, 2015).

Os tratamentos hoje disponíveis incorrem em grande perda na qualidade de vida dos pacientes, que frequentemente passam a apresentar dificuldades na deglutição, fala e respiração, além de sério comprometimento estético (RATHOD et al., 2015). O impacto na qualidade de vida desses pacientes torna o CECP um fator de risco de suicídio importante entre os sobreviventes de câncer (KAM et al., 2015; OSAZUWA-PETERS et al., 2016).

Apesar de avanços consideráveis nos tratamentos quimioterápicos, radioterápicos e cirúrgicos durante as últimas décadas, a taxa de morbidade de CECP não foi significativamente reduzida (DENARO et al., 2012). Uma das explicações para este resultado é certamente a complexidade molecular deste tumor, que dificulta a resposta aos tratamentos. Múltiplos eventos genéticos estão presentes neste tipo de carcinoma e promovem a desregulação de cascatas de sinalização que incluem EGFR, Ras, NFkB, Stat, Wnt/B-catenina, TGF- β , PI3k/AKT/mTOR, PTEN e Notch. De uma forma geral, estas alterações genéticas estão relacionadas à regulação do ciclo celular, crescimento, motilidade celular, apoptose e angiogênese (SUH et al., 2014). A compreensão de mecanismos moleculares envolvidos na progressão da doença pode levar ao desenvolvimento de terapias mais específicas, as chamadas terapias-alvo.

1.2 Agentes Quimioterápicos e terapias-alvo disponíveis para o CECP

As terapias atuais disponíveis para o tratamento do câncer de cabeça e pescoço se remetem a quimioterapias convencionais, principalmente compostos a base de platina, taxanos e fluorouracil (5-FU). Os medicamentos mais ativos são o metotrexato, cisplatina, fluorouracil, bleomicina, paclitaxel e docetaxel (NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, 2015). A quimioterapia geralmente é administrada como uma combinação de fármacos de docetaxel, cisplatina e 5-FU, conhecida como TPF (taxotere, platinol e fluorouracil) e apresenta melhores resultados quando comparada aos fármacos individuais (NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, 2015). Muitas vezes, esses agentes quimioterápicos refletem em melhorias clínicas significativas em CECP (HIGGINS et al., 2015).

Uma vez que estes fármacos não agem apenas sobre o tumor observa-se também um aumento significativo da toxicidade no tecido normal (HIGGINS et al., 2015). Neste cenário surgiram as terapias alvo-molecular visando agir de forma mais específica no tecido tumoral ou ainda apresentar efeito diferenciado de acordo com as características moleculares do tumor. Agentes sob investigação para utilização em CECP incluem anticorpos monoclonais para EGFR (receptor do fator de crescimento epidérmico) como cetuximab, panitumumab, zalutumumab, nimotuzumab; inibidores de tirosina quinase para EGFR (gefitinib, erlotinib, lapatinib, afatanib, dacomitinib) e inibidores do receptor do fator de crescimento endotelial vascular, VEGFR (bevacizumab, sorafenibe, sunitinib, vandetanib) (DORSEY; AGULNIK, 2013).

O principal alvo são os receptores de tirosina quinase, predominantemente para o EGFR. O EGFR é considerado um marcador precoce da carcinogênese e se encontra sobre-expresso em até 90% dos casos de CECP (MADOZ-GURPIDE et al., 2015). A ativação da via mediada por EGFR é responsável por regular a progressão do ciclo celular e morte celular, o que o torna um alvo atrativo para a terapia do câncer (CUNEO et al., 2015). Entretanto, apenas o cetuximab foi recentemente aprovado para o tratamento de CECP (BOECKX et al., 2013) e o resultado da administração concomitante de cetuximab e quimioterápicos tradicionais nem sempre demonstra benefício significativo para os pacientes (HIGGINS et al., 2015). Com eventos adversos sérios, custo elevado e ausência de superioridade

consistente na sobrevida global, a relação custo-eficácia do cetuximab para o tratamento do CECP tem sido seriamente questionada (EKBLAD et al., 2015) e a CONITEC (Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologia no SUS) optou por unanimidade não incorporar cetuximab no tratamento do câncer de cabeça e pescoço recidivante/metastático no Brasil (CONITEC, 2015).

Portanto, opções adicionais de tratamento que contribuam na melhora do quadro clínico dos pacientes e que também estejam associadas a baixo perfil de toxicidade se tornam iminentes.

1.3 Produtos naturais isolados de plantas, e seus derivados, utilizados no tratamento do câncer

Os produtos naturais bioativos à base de plantas representam uma fonte valiosa de agentes terapêuticos utilizados desde os primórdios da humanidade. Porém sua aplicação como composto isolado de uso medicinal teve início apenas no século 19. Estima-se que até 70% dos fármacos aprovados nos últimos anos, ao longo da década de 1940 até 2014, são de forma direta ou indireta a partir de produtos naturais, incluindo plantas, organismos marinhos, microrganismos e mais de 3.000 espécies de plantas são utilizadas para o tratamento do câncer (DESAI et al., 2008; NEWMAN; CRAGG, 2016). Medicamentos à base de plantas como vimblastina (Velban®), vincristina (Oncovin®), paclitaxel (Taxol®), camptotecina, podofilotoxina e os análogos, etoposídeo (Etopophos®) e teniposídeo (Vumon®) movimentam um mercado anual em torno de 50 bilhões de dólares (PINTO et al., 2002).

O paclitaxel (Taxol) é um importante fármaco antineoplásico produzido de forma semi-sintética. Originalmente isolada a partir da casca de *Taxus brevifolia* (Teixo ocidental) em 1962 (HOWAT et al., 2014) teve aprovação pela *Food and Drug Administration* (FDA) para o tratamento do câncer metastático do ovário apenas em 1992 (FRIDLENDER; KAPULNIK; KOLTAI, 2015). Atualmente é aprovado para o tratamento do câncer de mama e pulmão, porém utilizado como tratamento em outros carcinomas como exemplo o câncer de cabeça e pescoço. A principal atuação desse fármaco é através da desmontagem dos microtúbulos e consequentemente inibição do fuso mitótico (FRIDLENDER; KAPULNIK; KOLTAI,

2015). O paclitaxel é um fármaco bem sucedido com um valor de mercado anual superior a US\$1 bilhão (HOWAT et al., 2014).

Vimblastina e vincristina são fármacos anticancerígenos de origem vegetal hoje produzidas de forma sintética que atuam inibindo a formação dos microtúbulos (ISHIKAWA et al., 2009). Originalmente isolados das folhas de *Catharanthus roseus* (Vinca), foram aprovados como agentes anticancerígenos pela FDA em 1963 e 1965 respectivamente. Vincristina é aplicada como terapia de combinação para o tratamento de leucemias agudas e linfomas. Enquanto vimblastina é utilizada em combinação para o tratamento de câncer de bexiga e de mama (ISHIKAWA et al., 2009). Ambos são considerados compostos lucrativos do ponto de vista econômico com valores de mercado estimados em US\$ 6.000 e US\$ 12.000/g, respectivamente (PEIXOTO NETO; CAETANO, 2005).

O sucesso desses compostos é interessante para o mercado de biofármacos e servem de incentivo para a descoberta de novas moléculas derivadas de plantas.

Atualmente uma classe de compostos tem se destacado por sua ação em diversos tipos de tumores. São os triterpenos, metabólitos secundários pertencentes à classe dos terpenos, caracterizados pela estrutura de base formada por moléculas de isoprenos de 30 carbonos (PETRONELLI et al., 2009). Os triterpenos exibem uma vasta gama de atividades biológicas, tais como anti-inflamatório, antioxidante, antifúngico, antimicrobiano e ação antitumoral (PAZ et al., 2013).

A atividade anti-cancerígena deste grupo está atrelada à capacidade destes metabólitos secundários de induzir apoptose, inibir a proliferação celular, suprimir a angiogênese e causar disfunção na mitocôndria (YAN et al., 2014).

Entre os triterpenos com atividade antineoplásica encontram-se os triterpenos quinonametídeos, os quais são produzidos exclusivamente por espécies da família Celastraceae. O Brasil possui 132 espécies nativas de Celastraceae, sendo a *Maytenus ilicifolia* (Schrad.) uma das espécies mas abundantes (COPPEDE et al., 2014). Popularmente conhecida como espinheira-santa, é uma árvore perenifólia, com distribuição subtropical, no Brasil ocorre em São Paulo, Mato Grosso do Sul, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, e também no Uruguai, Paraguai e Argentina (NIERO et al., 2011).

A atuação dos triterpenos quinonametídeos no tratamento do câncer tem sido avaliada principalmente quanto às atividades anti-proliferativas e pró-apoptóticas. As duas moléculas mais estudadas são o celastrol e a pristimerina.

O efeito do celastrol foi avaliado em linhagens celulares de câncer de cabeça e pescoço, câncer de próstata, hepatocelular, mama, células de pulmão, pâncreas e leucemia e modelos animais em osteossarcoma, colorretal e glioma (FAN et al., 2014; FRIBLEY et al. 2015; JI et al., 2015; LI et al., 2015; LI et al., 2015c; LIN et al., 2015; SHRIVASTAVA et al., 2015; WANG et al., 2010a; YADAV et al., 2010; ZHOU; HUANG, 2009). A pristimerina foi estudada em células de câncer de colorretal, pâncreas, ovário e câncer de mama e modelos animais de glioma e próstata (DEEB et al., 2015; GAO et al., 2014a; HUANG et al., 2015; LEE et al., 2013; YOUSEF et al., 2016; ZHAO et al., 2016). Estudos em CECP são raros e pouco conclusivos (KANNAIYAN et al., 2011).

Apesar de celastrol e pristimerina serem produzidos por *Maytenus ilicifolia*, outros dois triterpenos quinonametídeos, maitenina (tingenona) e 22- β -hidroximaitenina (22- β -hidroxitingenona), são isolados em quantidades superiores e ainda são pouco estudados quanto a sua atividade citotóxica em câncer (COPPEDE et al., 2014).

Um estudo clínico envolvendo a maitenina foi realizado em 1971, no Instituto de Antibióticos de Pernambuco. Neste estudo, 25 pacientes portadores de neoplasias em estados avançados foram tratados com 150 μ g/kg/dia de maitenina por via intravenosa durante 10 dias sucessivos. Os melhores resultados foram apresentados por 4 pacientes com carcinoma epidermoide oral havendo uma redução de 40 a 60% no tamanho das lesões (SANTANA; ASFORA; COTIAS, 1971). Em outro estudo clínico a maitenina foi purificada e utilizada em associação com outras substâncias anticancerígenas de origem natural (MELO et al., 1974). Os pacientes com carcinoma de células basais avançado apresentaram redução superior a 50% no tamanho das lesões. A maitenina apresentou baixa toxicidade com prolongado efeito residual, uma vez que as lesões continuaram a regredir por vários dias, mesmo após a suspensão do triterpeno. Apesar desse efeito ainda não existem outros estudos envolvendo o uso de maitenina no tratamento de cânceres.

Em um estudo recente com triterpenos quinonametídeos, 9 compostos foram identificados como potentes agentes antiproliferativos ($IC_{50} < 10\mu M$) contra células

tumorais. Dentre estes, 22- β -hidroximaitenina foi reconhecida como um novo fármaco antitumoral no tratamento do câncer de colo de útero por inibir a atividade de ChoKa descrito como oncogene. Relatou-se que o tratamento com 22- β -hidroxitingenona inibiu o crescimento do tumor em 75%. Esse estudo foi realizado em camundongos xenotransplantados com células de adenocarcinoma de colo de útero humano. (ESTÉVEZ-BRAUN et al., 2015).

1.4 MicroRNAs

Os microRNAs constituem uma classe de pequenos RNAs endógenos não codificantes de aproximadamente 22 nucleotídeos de comprimento que atuam principalmente no silenciamento gênico pós transcricional. Participam como reguladores da expressão gênica interagindo com a região 3' UTR do mRNA (BARTEL, 2009) que codificam para proteínas envolvidas na manutenção de processos fisiológicos normais, sendo conservados ao longo da evolução (LENKALA et al., 2014). Inicialmente descoberto em 1993 em *Caenorhabditis elegans* quando Rosalind Lee et al. identificaram um pequeno RNA que modulava a proteína-lin 14, responsável pelo tempo de desenvolvimento deste nematelminto (LEE; FEINBAUM; AMBROS, 1993). Em seguida, diversos microRNAs foram identificados em diferentes espécies o que comprova seu papel como componente essencial na regulação da expressão gênica (LAGOS-QUINTANA et al., 2001). Atualmente, recursos de bioinformática estão disponíveis e podem ser explorados para definir a associação entre o microRNA e seu alvo. O banco de dados de sequências de microRNAs (miRBase) tem registrados 2588 microRNAs maduros em humanos (www.mirbase.org) em 20 de outubro de 2016.

O mecanismo pelo qual o microRNA regula ou reprime o mRNA depende da complementariedade entre ambos. Desta forma, caso a complementariedade venha a ser perfeita, a molécula de mRNA é degradada através um mecanismo semelhante ao descrito para siRNAs (do inglês *small interfering RNA*) (ZENG et al., 2003). Porém se essa interação ocorrer de forma parcial haverá o bloqueio da tradução da sequência codificadora alvo (FILIPOWICZ; BHATTACHARYYA; SONENBERG, 2008).

A maioria dos genes que codificam microRNAs são transcritos pela RNA polimerase II no núcleo em microRNAs primários (pri-microRNAs). Posteriormente estas moléculas são clivadas pela RNase III DROSHA e seu cofator essencial, a proteína de ligação DGCR8 (DiGeorge Syndrome Critical Region 8 protein). A DROSHA contém 2 domínios de RNase III (RNase IIIa e RNase IIIb) responsáveis pela clivagem em pontos específicos na base do *loop* para liberar o precursor do microRNA (pre-microRNAs) em uma estrutura na forma de hairpin de aproximadamente 60-70 nucleotídeos (LIN; GREGORY, 2015). Por fim essa estrutura é exportada do núcleo para o citoplasma pela exportina 5 e processada pela DICER para produzir o “microRNA duplex” de aproximadamente 22 nucleotídeos de comprimento. As proteínas catalíticas Argonautas direcionam uma das fitas ao complexo RISC (do inglês *RNA-Induced Silencing Complex*) para promover o silenciamento gênico pós-transcricional (Figura 3) (LIN; GREGORY, 2015).

Figura 3- Biogênese do microRNA. Fonte: Adaptado de (TAKAHASHI et al., 2014).

A interação entre microRNAs e seus alvos constitui um sistema complexo onde um único microRNA pode interagir e regular diversos alvos e, por outro lado, diversos microRNAs podem controlar um mesmo alvo. Os microRNAs regulam uma grande fração de genes codificadores de proteínas, e estima-se que cerca de 30% dos genes humanos identificados possam ser alvos de microRNAs (LEWIS; BURGE; BARTEL, 2005), como genes responsáveis por controlar o crescimento celular, diferenciação e a apoptose, o que caracteriza seu papel no desenvolvimento e progressão tumoral (KLOOSTERMAN; PLASTERK, 2006).

Expressões aberrantes de microRNAs foram identificados em diversos tumores e apresentam perfil dependente do tipo de célula e tecido específico (BEUVINK et al., 2007).

1.5 MicroRNAs em câncer

Os microRNAs estão envolvidos em vários processos biológicos e patológicos, dentre eles o câncer. Aproximadamente 30% dos genes que codificam microRNAs estão localizados em sítios frágeis ou em regiões que são deletadas, amplificadas ou translocadas em câncer (CALIN et al., 2004). Os mecanismos responsáveis pelas alterações na expressão dos microRNAs no câncer são diversos. Em sua maioria estão associadas a alterações epigenéticas ou modificações na sequência de DNA, como amplificações, deleções, translocações e mutações pontuais (COWLAND; HOTHER; GRONBAEK, 2007). Essas variações genômicas alteram a transcrição do gene que codifica o microRNA, o que conduz a regulação também alterada de seus mRNAs alvos, podendo promover a iniciação e a progressão do tumor (ZHANG et al., 2006).

Sendo assim, microRNAs podem atuar como oncogenes ou supressores de tumor, como exemplificado na tabela 3. MicroRNAs supressores de tumor podem prevenir o desenvolvimento do tumor por inibir negativamente oncogenes e apresentam expressão reduzida em tumores malignos, enquanto que microRNAs cuja expressão é aumentada em tumores podem ser considerados como oncogenes, os denominados “oncomiR” (BARTEL, 2009).

Tabela 3- Expressão de microRNAs em diferentes tumores.

microRNAs	Menor expressão no tumor comparado com o normal	Maior expressão no tumor comparado com o normal	Referência
let-7	câncer de próstata, hepatocarcinoma, colo de útero, câncer esofágico, ovário, câncer gástrico, mama e CECp	câncer pancreático	AYUB; KAUL; AYUB, 2015; HUANG et al., 2014; ORANG; BARZEGARI, 2014; TANG et al., 2014; XIE et al., 2014; NOHATA et al., 2013; ANDORFER et al., 2011; DAHIYA; MORIN, 2010; WANG et al., 2010
miR-15/16	câncer de próstata, hepatocarcinoma	câncer pancreático	AYUB; KAUL; AYUB, 2015; TANG et al., 2014; XIE et al., 2014
miR-21	câncer de ovário	câncer de próstata, hepatocarcinoma, colo de útero, câncer esofágico, gástrico, mama e CECp	AYUB; KAUL; AYUB, 2015; ORANG; BARZEGARI, 2014; HUANG et al., 2014; XIE et al., 2014; NOHATA et al., 2013; ANDORFER et al., 2011; DAHIYA; MORIN, 2010; WANG et al., 2010
miR-31	câncer de próstata	câncer de colo de	AYUB; KAUL; AYUB, 2015;

		útero, esofágico, CECP	ORANG; BARZEGARI, 2014; HUANG et al., 2014; NOHATA et al., 2013
miR-222	câncer de ovário	câncer de próstata, hepatocarcinoma, colo de útero, câncer esofágico	AYUB; KAUL; AYUB, 2015; HUANG et al., 2014; ORANG; BARZEGARI, 2014; XIE et al., 2014; DAHIYA; MORIN, 2010;

Inúmeros estudos já avaliaram o papel dos microRNAs em carcinomas epidermoides de cabeça e pescoço, conforme exemplificado na tabela 4.

Tabela 4- Expressão de microRNAs em tumores de cabeça e pescoço.

Expressão de microRNAs em tumores de cabeça e pescoço							
miRNA	Expressão em tumores	Câncer	Referência	miRNA	Expressão em tumores	Câncer	Referência
miRNA-1	menor	CECP	NOHATA et al., 2011; WU et al., 2011	miRNA-144	maior	carcinoma de nasofaringe	ZHANG et al., 2013 ^a
miRNA-9	menor	carcinoma oral	YU et al., 2014	miRNA-146a	menor	CECP	LERNER et al., 2016,
miRNA-10b	menor	câncer de laringe; carcinoma oral	ZHANG et al., 2015b; SEVERINO et al., 2013	miRNA-148a-3p	menor	câncer de laringe	WU et al., 2016
miRNA-18a	maior	carcinoma de nasofaringe	LUO et al., 2013	miRNA-155	menor	CECP e carcinoma oral	ZENG et al., 2016, LERNER et al., 2016
miRNA-18b	maior	carcinoma de nasofaringe	YU et al., 2013a	miRNA-184	maior	carcinoma de células escamosas da língua	WONG et al., 2008
miRNA-19a	maior	câncer de laringe	WU et al., 2014a	miRNA-188	menor	carcinoma oral	WANG; LIU, 2015
miRNA-21	maior	CECP	SUN et al., 2014	miRNA-195	menor	carcinoma de células escamosas de língua	JIA et al., 2013
miRNA-22	menor	câncer de língua	QIU et al., 2016	miRNA-196a	maior	CECP	DARDA et al., 2015; SUH et al., 2014 ^a
miRNA-24	menor	carcinoma oral, câncer de laringe	SUN et al., 2016; XU et al., 2015; GUO et al., 2012	miRNA-196b	maior	carcinoma oral	LIU et al., 2013
miRNA-26a	menor	câncer de língua	JIA et al., 2014	miRNA-205	menor	câncer de laringe; carcinoma oral	TIAN et al., 2014; KIM et al., 2014a
miRNA-31*	maior	carcinoma oral	CHANG et al., 2013	miRNA-206	menor	câncer de laringe	YU et al., 2015

miRNA-34a	menor	câncer de laringe; CECp	LI; MA; SUN, 2014; KUMAR et al., 2012; SHEN et al., 2012	miRNA-221	maior	câncer de laringe; carcinoma oral	SUN et al., 2015; YANG et al., 2011
miRNA-93	maior	câncer de laringe, CECp	XIAO et al., 2015; LI et al., 2015b	miRNA-222	maior	carcinoma oral	JIANG et al., 2014; YANG et al., 2011
miRNA-99a	menor	carcinoma oral	YAN et al., 2012	miRNA-223	menor	carcinoma de nasofaringe	YANG et al., 2015
miRNA-100	menor	carcinoma oral	HENSON et al., 2009	miRNA-329	menor	carcinoma oral	SHIAH et al., 2014
miRNA-106b	maior	câncer de laringe	CAI; WANG; BAO, 2011	miRNA-375	menor	carcinoma oral	SHI et al., 2015
miRNA-107	menor	CECP	DATTA et al., 2012	miRNA-410	menor	carcinoma oral	SHIAH et al., 2014
miRNA-124	menor	carcinoma oral	ZHANG et al., 2015d	miRNA-423-3p	maior	câncer de laringe	GUAN et al., 2014
miRNA-125b	menor	carcinoma oral	HENSON et al., 2009	miRNA-451	menor	CECP	WANG et al., 2015a
miRNA-126	menor	carcinoma de língua	HAN et al., 2016	miRNA-483-3p	menor	carcinoma oral	BERTERO et al., 2013
miRNA-128	menor	CECP	HAUSER et al., 2015	miRNA-497	menor	carcinoma de nasofaringe	WANG et al., 2015c
miRNA-129-5p	menor	câncer de laringe	SHEN; HUANG; LI, 2015	miRNA-506	menor	carcinoma oral	DENG; LIU, 2015
miRNA-135	maior	CECP	ZHANG et al., 2013	miRNA-512-5p	menor	CECP	LI et al., 2015
miRNA-143	menor	carcinoma oral	NI et al., 2015	let-7b	menor	carcinoma oral	GAO et al., 2014

Estudos recentes relatam que triterpenos quinonametídeos, em especial o celastrol, podem alterar a expressão de miRNAs (Tabela 5). Recentemente, Cao et al. identificaram que o celastrol regula o miR-223 no câncer de mama e próstata, através de NFκ-B e mTOR, ambos relacionados a sobrevivência. A inibição de miR-223 aumentou a capacidade anti-proliferativa de celastrol (CAO et al., 2015). Foi demonstrado que celastrol induz a autofagia em câncer de próstata (GUO et al., 2016). Tal fato é desempenhado pela regulação negativa do miRNA-17 sobre seu alvo, o ATG7, gene relacionado ao processo autofágico (GUO et al., 2016).

Em células de câncer gástrico, o miR-21, encontrava-se super-expresso, e o uso de celastrol diminuiu a expressão deste, com consequente efeito sobre a expressão de AKT e NF- κ B, aumentando a apoptose (SHA et al., 2014). Já em carcinoma hepatocelular foi demonstrado que miR-224 é fundamental na inibição da proliferação celular induzida por celastrol. Este triterpeno diminui a expressão do miRNA, inibindo a expressão de genes MMP-9 e MMP-2, componentes importantes na invasão celular (LI et al., 2013a).

Tabela 5- Triterpenos relacionados à regulação de miRNAs em diferentes tumores.

Interação de Celastrol com miRNAs			
miRNA	Câncer	Resultado	Referência
miR-17	próstata	induz autofagia	Guo et al., 2016
miR-223	mama e próstata	reduz viabilidade	CAO et al., 2015
miR-21	gástrico	induz apoptose	SHA et al., 2014
miR-224	hepatocelular	inibe migração e invasão	LI et al., 2013a
miR-146a	gástrico	induz apoptose	SHA et al., 2013

Uma vez que miRNAs podem regular a resposta celular a tratamentos que tenham como alvo a proliferação e a morte celular, pretendemos neste estudo avaliar o efeito de dois triterpenos quinonametídeos, a maitenina e a 22- β -hidroximaitenina, sobre a proliferação e a morte celular em linhagens derivadas de CECP, e avaliar seu efeito sobre a regulação de miRNAs nestes modelos celulares.

CONCLUSÃO

O tratamento com maitenina interfere na regulação de microRNAs envolvidos com proliferação celular e apoptose em CECp. O microRNA que apresentou maior regulação após o tratamento de SCC-25 com maitenina foi o microRNA-196b e este resultado foi confirmado em réplicas biológicas e diferentes linhagens. O efeito sobre queratinócitos orais normais foi inverso e aponta para um mecanismo molecular diferente da ação entre linhagens derivadas de câncer e células normais, um resultado desejável considerando-se quimioterápicos. Observamos ainda que o efeito sobre o microRNA-196b foi semelhante tratando-se as linhagens com 22- β -hidroximaitenina, sugerindo que o efeito seja compartilhado por diferentes triterpenos quinonametídeos.

REFERÊNCIAS

- AMERICAN CANCER SOCIETY. Cancer Facts & Figures 2015 [Internet]. Disponível em: <<http://www.cancer.org/acs/groups/content/@editorial/documents/document/acspc-044552.pdf>>. Acesso em: 16 de fevereiro de 2016.
- ANDORFER, C. A. et al. MiRNA signatures: clinical biomarkers for the diagnosis and treatment of breast cancer. **Trends. Mol. Med.**, v. 17, n. 6, p. 313-319, 2011.
- ANDREGHETTO, F. M. et al. Evaluation of miRNA expression in head and neck squamous cell carcinoma cell lines and in primary culture of oral keratinocytes. **Einstein**, v. 9, n. 4, p. 442-448, 2011.
- AYUB, S. G.; KAUL, D.; AYUB, T. Microdissecting the role of miRNAs in the pathogenesis of prostate cancer. **Cancer Genet.**, v. 208, n. 6, p. 289-302, 2015.
- BAO, L. et al. MiRNA-21 suppresses PTEN and hSulf-1 expression and promotes hepatocellular carcinoma progression through AKT/ERK pathways. **Cancer Lett.**, v. 337, n. 2, p. 226-236, 2013.
- BARTEL, D. P. MiRNAs: target recognition and regulatory functions. **Cell**, v. 136, n. 2, p. 215-233, 2009.
- BERTERO, T. et al. Tumor suppressor function of miR-483-3p on squamous cell carcinomas due to its proapoptotic properties. **Cell Cycle**, v. 12, n. 14, p. 2183-2193, 2013.
- BEUVINK, I. et al. A novel microarray approach reveals new tissue-specific signatures of known and predicted mammalian miRNAs. **Nucleic. Acids. Res.**, v. 35, n. 7, p. e52, 2007.
- BOECKX, C. et al. Anti-epidermal growth factor receptor therapy in head and neck squamous cell carcinoma: focus on potential molecular mechanisms of drug resistance. **Oncologist**, v. 18, n. 7, p. 850-864, 2013.
- BOMMER, G. T. et al. p53-mediated activation of miRNA34 candidate tumor-suppressor genes. **Curr. Biol.**, v. 17, n. 15, p. 1298-1307, 2007.
- BOSE, P.; BROCKTON, N. T.; DORT, J. C. Head and neck cancer: from anatomy to biology. **Int. J. Cancer.**, v. 133, n. 9, p. 2013-2023, 2013.
- BRENNECKE, J. et al. Principles of miRNA-target recognition. **PLoS Biol.**, v. 3, n. 3, p. e85, 2005.
- BUSCAGLIA, L. E.; LI, Y. Apoptosis and the target genes of miRNA-21. **Chin. J. Cancer.**, v. 30, n. 6, p. 371-380, 2011.
- CAI, K.; WANG, Y.; BAO, X. MiR-106b promotes cell proliferation via targeting RB in laryngeal carcinoma. **J. Exp. Clin. Cancer Res.**, v. 30, p. 73, 2011.
- CALIN, G. A. et al. Human miRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 101, n. 9, p. 2999-3004, 2004.
- CAMPISI, J. Cancer and ageing: rival demons? **Nat. Rev. Cancer**, v. 3, n. 5, p. 339-349, 2003.
- CAO, L. et al. Inhibiting inducible miR-223 further reduces viable cells in human cancer cell lines MCF-7 and PC3 treated by celastrol. **BMC Cancer**, v. 15, p. 873, 2015.
- CASTRO, T. M. et al. HPV detection in the oral and genital mucosa of women with positive histopathological exam for genital HPV, by means of the PCR. **Braz. J. Otorhinolaryngol**, v. 75, n. 2, p. 167-171, 2009.
- CHAN, J. A.; KRICHEVSKY, A. M.; KOSIK, K. S. MiRNA-21 is an antiapoptotic factor in human glioblastoma cells. **Cancer Res.**, v. 65, n. 14, p. 6029-6033, 2005.

*De acordo com:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR6023: informação e documentação:

CHANG, K. W. et al. Passenger strand miRNA miR-31* regulates the phenotypes of oral cancer cells by targeting RhoA. **Oral Oncol.**, v. 49, n. 1, p. 27-33, 2013.

CHEN, C. et al. MiRNA-196: critical roles and clinical applications in development and cancer. **J. Cell Mol. Med.**, v. 15, n. 1, p. 14-23, 2011.

CHEN, L. et al. Upregulation of miR-107 Inhibits Glioma Angiogenesis and VEGF Expression. **Cell Mol. Neurobiol.**, v. 36, n. 1, p. 113-120, 2016.

CHEN, L. et al. MiR-24 regulates the proliferation and invasion of glioma by ST7L via β -catenin/Tcf-4 signaling. **Cancer Lett.**, v. 329, n. 2, p. 174-180, 2013.

CHENG, Y. et al. MiRNA-106b is involved in transforming growth factor β 1-induced cell migration by targeting disabled homolog 2 in cervical carcinoma. **J. Exp. Clin. Cancer Res.**, v. 35, p. 11, 2016.

COMISSÃO NACIONAL DE INCORPORAÇÃO DE TECNOLOGIA NO SUS. [Internet]. Cetuximabe no Tratamento do Câncer de Cabeça e Pescoço Recidivado/Metastático 2015. Disponível em: <http://conitec.gov.br/images/Relatorios/2015/Relatorio_Cetuximabe_MetastaseCeP_final.pdf>. Acesso em: 15 de março de 2016.

COPPEDE, J. S. et al. Cell cultures of *Maytenus ilicifolia* Mart. are richer sources of quinone-methide triterpenoids than plant roots in natura. **Plant. Cell., Tissue and Organ Culture.**, v. 118, n. 1, p. 33-43, 2014.

COWLAND, J. B.; HOTHER, C.; GRØNBAEK, K. MiRNAs and cancer. **A.P.M.I.S.**, v. 115, n. 10, p. 1090-1106, 2007.

CUNEO, K. C. et al. EGFR targeted therapies and radiation: Optimizing efficacy by appropriate drug scheduling and patient selection. **Pharmacol. Ther.**, 2015.

DAHIYA, N.; MORIN, P. J. MiRNAs in ovarian carcinomas. **Endocr. Relat. Cancer**, v. 17, n. 1, p. F77-89, 2010.

DARDA, L. et al. The role of HOXB9 and miR-196a in head and neck squamous cell carcinoma. **PLoS One**, v. 10, n. 4, p. e0122285, 2015.

DATTA, J. et al. Suberoylanilide hydroxamic acid inhibits growth of head and neck cancer cell lines by reactivation of tumor suppressor miRNAs. **Oral Oncol.**, v. 56, p. 32-39, 2016.

DATTA, J. et al. MiRNA-107 functions as a candidate tumor-suppressor gene in head and neck squamous cell carcinoma by downregulation of protein kinase C ϵ . **Oncogene**, v. 31, n. 36, p. 4045-4053, 2012.

DAYYANI, F. et al. Meta-analysis of the impact of human papillomavirus (HPV) on cancer risk and overall survival in head and neck squamous cell carcinomas (HNSCC). **Head Neck Oncol.**, v. 2, p. 15, 2010.

DEEB, D. et al. Inhibition of hTERT/telomerase contributes to the antitumor activity of pristimerin in pancreatic ductal adenocarcinoma cells. **Oncol. Rep.**, v. 34, n. 1, p. 518-524, 2015.

DENARO, N. et al. The role of antiangiogenic agents in the treatment of head and neck cancer. **Oncology**, v. 83, n. 2, p. 108-116, 2012.

DENG, L.; LIU, H. MiRNA-506 suppresses growth and metastasis of oral squamous cell carcinoma via targeting GATA6. **Int. J. Clin. Exp. Med.**, v. 8, n. 2, p. 1862-1870, 2015.

DESAI, A. G. et al. Medicinal plants and cancer chemoprevention. **Curr. Drug Metab.**, v. 9, n. 7, p. 581-91, 2008.

DIANA-TarBase v7.0 [Internet]. Disponível em: <<http://diana.imis.athena-innovation.gr/DianaTools/index.php?r=tarbase/index>>, Acesso em: 9 de outubro de 2016.

DORSEY, K.; AGULNIK, M. Promising new molecular targeted therapies in head and neck cancer. **Drugs**, v. 73, n. 4, p. 315-325, 2013.

DOUGLAS, L. Making oral cancer screening a routine part of your patient care. **B.D.J. Team**, 2015, In press.

DU, L. et al. miR-93-directed downregulation of DAB2 defines a novel oncogenic pathway in lung cancer. **Oncogene**, v. 33, n. 34, p. 4307-4315, 2014.

EKBLAD, L. et al. Anti- or pro-proliferation—conditional options for TGF- α and cetuximab in head and neck squamous cell carcinoma. **Oral Oncol.**, v. 51, n. 1, p. 46-52, 2015.

ESQUELA-KERSCHER, A.; SLACK, F. J. Oncomirs - miRNAs with a role in cancer. **Nat. Rev. Cancer**, v. 6, n. 4, p. 259-269, 2006.

ESTÉVEZ-BRAUN, A. et al. A new family of choline kinase inhibitors with antiproliferative and antitumor activity derived from natural products. **Clin. Transl. Oncol.**, v. 17, n. 1, p. 74-84, 2015.

FAN, X. X. et al. Celastrol induces apoptosis in gefitinib-resistant non-small cell lung cancer cells via caspases-dependent pathways and Hsp90 client protein degradation. **Molecules**, v. 19, n. 3, p. 3508-3522, 2014.

FERLAY, J. et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. **Int. J. Cancer**, v. 136, n. 5, p. E359-386, 2015.

FILIPOWICZ, W.; BHATTACHARYYA, S. N.; SONENBERG, N. Mechanisms of post-transcriptional regulation by miRNAs: are the answers in sight? **Nat. Rev. Genet.**, v. 9, n. 2, p. 102-114, 2008.

FREUDLSPERGER, C. et al. TGF- β and NF- κ B signal pathway cross-talk is mediated through TAK1 and SMAD7 in a subset of head and neck cancers. **Oncogene**, v. 32, n. 12, p. 1549-1559, 2013.

FRIBLEY, A. M. et al. Celastrol induces unfolded protein response-dependent cell death in head and neck cancer. **Exp. Cell. Res.**, v. 330, n. 2, p. 412-422, 2015.

FRIDLENDER, M.; KAPULNIK, Y.; KOLTAL, H. Plant derived substances with anti-cancer activity: from folklore to practice. **Front. Plant. Sci.**, v. 6, p. 799, 2015.

GAO, J.; LIU, Q. G. The role of miR-26 in tumors and normal tissues (Review). **Oncol. Lett.**, v. 2, n. 6, p. 1019-1023, 2011.

GAO, L. et al. IGF-1R, a target of let-7b, mediates crosstalk between IRS-2/Akt and MAPK pathways to promote proliferation of oral squamous cell carcinoma. **Oncotarget**, v. 5, n. 9, p. 2562-2574, 2014.

GAO, X. et al. Anticancer activity of pristimerin in ovarian carcinoma cells is mediated through the inhibition of prosurvival Akt/NF- κ B/mTOR signaling. **J. Exp. Ther. Oncol.**, v. 10, n. 4, p. 275-283, 2014a.

GARNETT, M. J. et al. Systematic identification of genomic markers of drug sensitivity in cancer cells. **Nature**, v. 483, n. 7391, p. 570-575, 2012.

GLOBOCAN 2012 [Internet]. Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase. V.1.0. Disponível em: <<http://globocan.iarc.fr>>. Acesso em: 10 de janeiro de 2016.

GONG, C. et al. MiR-106b expression determines the proliferation paradox of TGF- β in breast cancer cells. **Oncogene**, v. 34, n. 1, p. 84-93, 2015.

GUAN, G. et al. miRNA-423-3p promotes tumor progression via modulation of AdipoR2 in laryngeal carcinoma. **Int. J. Clin. Exp. Pathol.**, v. 7, n. 9, p. 5683-5691, 2014.

GUO, J. et al. Downregulation of miR-17-92a cluster promotes autophagy induction in response to celastrol treatment in prostate cancer cells. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, 2016.

GUO, Y. et al. miR-24 functions as a tumor suppressor in Hep2 laryngeal carcinoma cells partly through down-regulation of the S100A8 protein. **Oncol. Rep.**, v. 27, n. 4, p. 1097-1103, 2012.

GUTSCHNER, T. et al. Insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein 1 (IGF2BP1) is an important protumorigenic factor in hepatocellular carcinoma. **Hepatology**, v. 59, n. 5, p. 1900-1911, 2014.

HAN, J. et al. Downregulation of MiRNA-126 Contributes to Tumorigenesis of Squamous Tongue Cell Carcinoma via Targeting KRAS. **Med. Sci. Monit.**, v. 22, p. 522-529, 2016.

HAN, Z. B. et al. Identification of recurrence-related miRNAs in hepatocellular carcinoma following liver transplantation. **Mol. Oncol.**, v. 6, n. 4, p. 445-457, 2012.

HASHIBE, M. et al. Interaction between tobacco and alcohol use and the risk of head and neck cancer: pooled analysis in the International Head and Neck Cancer Epidemiology Consortium. **Cancer. Epidemiol. Biomarkers. Prev.**, v. 18, n. 2, p. 541-550, 2009.

HAUSER, B. et al. Functions of MiRNA-128 on the regulation of head and neck squamous cell carcinoma growth and apoptosis. **PLoS One**, v. 10, n. 3, p. e0116321, 2015.

HE, Y. Q. et al. Estradiol regulates miR-135b and mismatch repair gene expressions via estrogen receptor- β in colorectal cells. **Exp. Mol. Med.**, v. 44, n. 12, p. 723-732, 2012.

HENSON, B. J. et al. Decreased expression of miR-125b and miR-100 in oral cancer cells contributes to malignancy. **Gene Chromosome Canc.**, v. 48, n. 7, p. 569-582, 2009.

HIGGINS, G. S. et al. Drug radiotherapy combinations: review of previous failures and reasons for future optimism. **Cancer Treat. Rev.**, v. 41, n. 2, p. 105-113, 2015.

HOU, Y. Y. et al. Aberrant DNA hypomethylation of miR-196b contributes to migration and invasion of oral cancer. **Oncol. Lett**, v. 11, n. 6, p. 4013-4021, 2016.

HOW, C. et al. MiRNA-196b regulates the homeobox B7-vascular endothelial growth factor axis in cervical cancer. **PLoS One**, v. 8, n. 7, p. e67846, 2013.

HOWAT, S. et al. Paclitaxel: biosynthesis, production and future prospects. **N. Biotechnol.**, v. 31, n. 3, p. 242-245, 2014.

HU, Y. et al. MiRNA-34a inhibits tumor invasion and metastasis in gastric cancer by targeting Tgif2. **Int. J. Clin. Exp. Pathol.**, v. 8, n. 8, p. 8921-8928, 2015.

HUANG, J. et al. MiRNAs as oncogenes or tumour suppressors in oesophageal cancer: potential biomarkers and therapeutic targets. **Cell Prolif.**, v. 47, n. 4, p. 277-286, 2014.

HUANG, S. et al. Pristimerin Inhibits Prostate Cancer Bone Metastasis by Targeting PC-3 Stem Cell Characteristics and VEGF-Induced Vasculogenesis of BM-EPCs. **Cell Physiol. Biochem.**, v. 37, n. 1, p. 253-268, 2015.

HUI, A. B. et al. Comprehensive MiRNA profiling for head and neck squamous cell carcinomas. **Clin. Cancer Res.**, v. 16, n. 4, p. 1129-1139, 2010.

INSTITUTO NACIONAL DO CANCER [Internet]. Estimativa 2014: incidência de câncer no Brasil. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/estimativa/2014/estimativa-24042014.pdf>>. Acesso em: 20 de novembro de 2015.

ISHIKAWA, H. et al. Total synthesis of vinblastine, vincristine, related natural products, and key structural analogues. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 131, n. 13, p. 4904-4916, 2009.

JAMIESON, N. B. et al. MiRNA molecular profiles associated with diagnosis, clinicopathologic criteria, and overall survival in patients with resectable pancreatic ductal adenocarcinoma. **Clin. Cancer. Res.**, v. 18, n. 2, p. 534-545, 2012.

Ji, N. et al. Effect of celastrol on growth inhibition of prostate cancer cells through the regulation of hERG channel in vitro. **Biomed. Res. Int.**, v. 2015, p. 308475, 2015.

JIA, L. F. et al. Expression, regulation and roles of miR-26a and MEG3 in tongue squamous cell carcinoma. **Int. J. Cancer**, v. 135, n. 10, p. 2282-2293, 2014.

JIA, L. F. et al. Prognostic implications of microRNA miR-195 expression in human tongue squamous cell carcinoma. **PLoS One**, v. 8, n. 2, p. e56634, 2013.

JIANG, F. et al. miR-222 regulates the cell biological behavior of oral squamous cell carcinoma by targeting PUMA. **Oncol. Rep.**, v. 31, n. 3, p. 1255-1262, 2014.

KAM, D. et al. Incidence of Suicide in Patients With Head and Neck Cancer. **JAMA Otolaryngol. Head Neck Surg.**, v. 141, n. 12, p. 1075-81, 2015.

KANNAIYAN, R. et al. Celastrol inhibits tumor cell proliferation and promotes apoptosis through the activation of c-Jun N-terminal kinase and suppression of PI3 K/Akt signaling pathways. **Apoptosis**, v. 16, n. 10, p. 1028-1041, 2011.

KELLOKOSKI, J. et al. Dot blot hybridization in detection of human papillomavirus (HPV) infections in the oral cavity of women with genital HPV infections. **Oral Microbiol. Immunol.**, v. 7, n. 1, p. 19-23, 1992.

KIM, J. et al. miRNA-148a is a prognostic oncomiR that targets MIG6 and BIM to regulate EGFR and apoptosis in glioblastoma. **Cancer Res.**, v. 74, n. 5, p. 1541-1553, 2014.

KIM, J. H. et al. Celastrol suppresses breast cancer MCF-7 cell viability via the AMP-activated protein kinase (AMPK)-induced p53-polo like kinase 2 (PLK-2) pathway. **Cell. Signal.**, v. 25, n. 4, p. 805-813, 2013.

KIM, J. S. et al. MiRNA-205 suppresses the oral carcinoma oncogenic activity via down-regulation of Axin-2 in KB human oral cancer cell. **Mol. Cell Biochem.**, v. 387, n. 1-2, p. 71-79, 2014a.

KLOOSTERMAN, W. P.; PLASTERK, R. H. The diverse functions of miRNAs in animal development and disease. **Dev. Cell**, v. 11, n. 4, p. 441-450, 2006.

KOZOMARA, A.; GRIFFITHS-JONES, S. miRBase: annotating high confidence miRNAs using deep sequencing data. **Nucleic. Acids Res.**, v. 42, p. D68-73, 2014.

KUMAR, B. et al. Dysregulation of miRNA-34a expression in head and neck squamous cell carcinoma promotes tumor growth and tumor angiogenesis. **PLoS One**, v. 7, n. 5, p. e37601, 2012.

KUNDU, S. K.; NESTOR, M. Targeted therapy in head and neck cancer. **Tumour Biol.**, v. 33, n. 3, p. 707-721, 2012.

KUTANZI, K. R. et al. MicroRNA-mediated drug resistance in breast cancer. **Clin. Epigenetics**, v. 2, n. 2, p. 171-185, 2011.

LAGOS-QUINTANA, M. et al. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. **Science**, v. 294, n. 5543, p. 853-858, 2001.

LAKOMY, R. et al. MiR-195, miR-196b, miR-181c, miR-21 expression levels and O-6-methylguanine-DNA methyltransferase methylation status are associated with clinical outcome in glioblastoma patients. **Cancer Sci.**, v. 102, n. 12, p. 2186-2190, 2011.

LEE, H. W. et al. Celastrol inhibits gastric cancer growth by induction of apoptosis and autophagy. **B.M.B Rep.**, v. 47, n. 12, p. 697-702, 2014.

LEE, J. S. et al. Anticancer activity of pristimerin in epidermal growth factor receptor 2-positive SKBR3 human breast cancer cells. **Biol. Pharm. Bull.**, v. 36, n. 2, p. 316-325, 2013.

LEE, R. C.; FEINBAUM, R. L.; AMBROS, V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. **Cell**, v. 75, n. 5, p. 843-854, 1993.

LEEMANS, C. R.; BRAAKHUIS, B. J.; BRAKENHOFF, R. H. The molecular biology of head and neck cancer. **Nat. Rev. Cancer**, v. 11, n. 1, p. 9-22, 2011.

LEI, L.; HUANG, Y.; GONG, W. miR-205 promotes the growth, metastasis and chemoresistance of NSCLC cells by targeting PTEN. **Oncol. Rep.**, v. 30, n. 6, p. 2897-2902, 2013.

LENKALA, D. et al. The impact of miRNA expression on cellular proliferation. **Hum. Genet.**, v. 133, n. 7, p. 931-938, 2014.

LERNER, C. et al. Characterization of miR-146a and miR-155 in blood, tissue and cell lines of head and neck squamous cell carcinoma patients and their impact on cell proliferation and migration. **J. Cancer Res. Clin. Oncol.**, v. 142, n. 4, p. 757-766, 2016.

LI, B. K. et al. Upregulation of miRNA-106b is associated with poor prognosis in hepatocellular carcinoma. **Diagn. Pathol.**, v. 9, p. 226, 2014a.

LI, H. et al. miR-224 is critical for celastrol-induced inhibition of migration and invasion of hepatocellular carcinoma cells. **Cell Physiol. Biochem.**, v. 32, n. 2, p. 448-458, 2013a.

LI, H. Y. et al. Celastrol induces apoptosis and autophagy via the ROS/JNK signaling pathway in human osteosarcoma cells: an in vitro and in vivo study. **Cell Death Dis.**, v. 6, p. e1604, 2015.

LI, J.; LAM, M.; BIOLOGY, R. P. C. Registered report: the miRNA miR-34a inhibits prostate cancer stem cells and metastasis by directly repressing CD44. **Elife**, v. 4, p. e06434, 2015.

LI, J. et al. miR-512-5p suppresses tumor growth by targeting hTERT in telomerase positive head and neck squamous cell carcinoma in vitro and in vivo. **PLoS One**, v. 10, n. 8, p. e0135265, 2015.

LI, J. et al. The role of miR-205 in the VEGF-mediated promotion of human ovarian cancer cell invasion. **Gynecol. Oncol.**, v. 137, n. 1, p. 125-133, 2015a.

LI, M. et al. MiRNA-101 is a potential prognostic indicator of laryngeal squamous cell carcinoma and modulates CDK8. **J Transl. Med.**, v. 13, p. 271, 2015b.

LI, N. A. et al. miR-196b regulates gastric cancer cell proliferation and invasion via PI3K/AKT/mTOR signaling pathway. **Oncol. Lett.**, v. 11, n. 3, p. 1745-1749, 2016a.

LI, P. P. et al. Celastrol induces mitochondria-mediated apoptosis in hepatocellular carcinoma Bel-7402 cells. **Am. J. Chin. Med.**, v. 43, n. 1, p. 137-148, 2015c.

LI, W.; MA, H.; SUN, J. MiRNA-34a/c function as tumor suppressors in Hep-2 laryngeal carcinoma cells and may reduce GALNT7 expression. **Mol. Med. Rep.**, v. 9, n. 4, p. 1293-8, 2014.

LI, X. et al. MiRNA-21 (miR-21) post-transcriptionally downregulates tumor suppressor PDCD4 and promotes cell transformation, proliferation, and metastasis in renal cell carcinoma. **Cell Physiol. Biochem.**, v. 33, n. 6, p. 1631-1642, 2014b.

LI, Z. et al. miR-196b directly targets both HOXA9/MEIS1 oncogenes and FAS tumour suppressor in MLL-rearranged leukaemia. **Nat. Commun.**, v. 3, p. 688, 2012.

LIANG, H. et al. miR-93 functions as an oncomiR for the downregulation of PDCD4 in gastric carcinoma. **Sci Rep**, v. 6, p. 23772, 2016.

LIN, C. W. et al. MiRNA-135b promotes lung cancer metastasis by regulating multiple targets in the Hippo pathway and LZTS1. **Nat. Commun.**, v. 4, p. 1877, 2013.

LIN, L. et al. Celastrol Ameliorates Ulcerative Colitis-Related Colorectal Cancer in Mice via Suppressing Inflammatory Responses and Epithelial-Mesenchymal Transition. **Front. Pharmacol.**, v. 6, p. 320, 2015.

LIN, S.; GREGORY, R. I. MiRNA biogenesis pathways in cancer. **Nat. Rev. Cancer**, v. 15, n. 6, p. 321-333, 2015.

LIU, B. et al. MiR-26a enhances metastasis potential of lung cancer cells via AKT pathway by targeting PTEN. **Biochim. Biophys. Acta.**, v. 1822, n. 11, p. 1692-1704, 2012.

LIU, C. J. et al. miR-196a overexpression and miR-196a2 gene polymorphism are prognostic predictors of oral carcinomas. **Ann. Surg. Oncol.**, v. 20 Suppl 3, p. S406-414, 2013.

LIU, Y. B. et al. Ubiquitin-proteasomal degradation of antiapoptotic survivin facilitates induction of apoptosis in prostate cancer cells by pristimerin. **Int. J. Oncol.**, v. 45, n. 4, p. 1735-1741, 2014.

LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻(Delta Delta C(T)) **Methods**, v. 25, n. 4, p. 402-408, 2001.

LUO, Z. et al. miR-18a promotes malignant progression by impairing miRNA biogenesis in nasopharyngeal carcinoma. **Carcinogenesis**, v. 34, n. 2, p. 415-425, 2013.

LÖFFLER, D. et al. Interleukin-6 dependent survival of multiple myeloma cells involves the Stat3-mediated induction of miRNA-21 through a highly conserved enhancer. **Blood**, v. 110, n. 4, p. 1330-1333, 2007.

MA, Y. et al. Identification of miR-423 and miR-499 polymorphisms on affecting the risk of hepatocellular carcinoma in a large-scale population. **Genet. Test. Mol. Biomarkers**, v. 18, n. 7, p. 516-524, 2014.

MADOZ-GURPIDE, J. et al. Activation of MET pathway predicts poor outcome to cetuximab in patients with recurrent or metastatic head and neck cancer. **J. Transl. Med.**, v. 13, p. 282, 2015.

MALLO, M.; WELLIK, D. M.; DESCHAMPS, J. Hox genes and regional patterning of the vertebrate body plan. **Dev. Biol.**, v. 344, n. 1, p. 7-15, 2010.

MAO, X. P. et al. Mir-135a enhances cellular proliferation through post-transcriptionally regulating PHLPP2 and FOXO1 in human bladder cancer. **J. Transl. Med.**, v. 13, p. 86, 2015.

MAO, Y. et al. MiR-205 promotes proliferation, migration and invasion of nasopharyngeal carcinoma cells by activation of AKT signalling. **J. Int. Med. Res.**, v. 44, n. 2, p. 231-240, 2016.

MARTIN, D. et al. The head and neck cancer cell oncogenome: a platform for the development of precision molecular therapies. **Oncotarget**, v. 5, n. 19, p. 8906-8923, 2014.

MELO, A. M.; JARDIM, M. L.; DE SANTANA, C. F. Treatment of skin cancer by topical application of primin, plumbagin and maytenin (preliminary observations). **Rev. Inst. Antibiotic.**, v. 14, n. 1-2, p. 9-16, 1974.

MISSO, G. et al. Mir-34: a new weapon against cancer? **Mol. Ther. Nucleic. Acids**, v. 3, p. e194, 2014.

MONGROO, P. S. et al. IMP-1 displays cross-talk with K-Ras and modulates colon cancer cell survival through the novel proapoptotic protein CYFIP2. **Cancer Res.**, v. 71, n. 6, p. 2172-2182, 2011.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **J. Immunol. Methods.**, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983.

NATIONAL CANCER INSTITUTE AT THE NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH. 2015. [Internet]. Disponível em: <<http://www.cancer.gov/>>. Acesso em: 8 de fevereiro de 2016.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. **J. Nat. Prod.**, v. 79, n. 3, p. 629-61, 2016.

NI, Z. Y. et al. Decreased miRNA-143 expression and its tumor suppressive function in human oral squamous cell carcinoma. **Genet. Mol. Res.**, v. 14, n. 2, p. 6943-6952, 2015.

NIERO, R.; DE ANDRADE, S. F.; CECHINEL FILHO, V. A review of the ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of plants of the Maytenus genus. **Curr. Pharm. Des.**, v. 17, n. 18, p. 1851-1871, 2011.

NOHATA, N. et al. Identification of novel molecular targets regulated by tumor suppressive miR-1/miR-133a in maxillary sinus squamous cell carcinoma. **Int. J. Oncol.**, v. 39, n. 5, p. 1099-1107, 2011.

NOHATA, N. et al. MiRNAs function as tumor suppressors or oncogenes: aberrant expression of miRNAs in head and neck squamous cell carcinoma. **Auris. Nasus. Larynx.**, v. 40, n. 2, p. 143-149, 2013.

OCK, C. Y. et al. Identification of genomic mutations associated with clinical outcomes of induction chemotherapy in patients with head and neck squamous cell carcinoma. **J. Cancer Res. Clin. Oncol.**, v. 142, n. 4, p. 873-883, 2015.

OHDAIRA, H. et al. MiRNA-494 suppresses cell proliferation and induces senescence in A549 lung cancer cells. **Cell Prolif.**, v. 45, n. 1, p. 32-38, 2012.

OHTA, K. et al. MiRNA-93 activates c-Met/PI3K/Akt pathway activity in hepatocellular carcinoma by directly inhibiting PTEN and CDKN1A. **Oncotarget**, v. 6, n. 5, p. 3211-3224, 2015.

OSAZUWA-PETERS, N. et al. Suicide: A Major Threat to Head and Neck Cancer Survivorship. **J. Clin. Oncol.**, v. 34, n. 5, p. 1151, 2016.

PAZ, T. A. et al. Production of the quinone-methide triterpene maytenin by in vitro adventitious roots of peritassa campestris (Cambess.) A.C.Sm. (Celastraceae) and rapid detection and identification by APCI-IT-MS/MS. **BioMed Res. Int.**, vol.13, p. 1-7, 2013.

PEI, H. et al. MiR-135b promotes proliferation and invasion of osteosarcoma cells via targeting FOXO1. **Mol. Cell Biochem.**, v. 400, n. 1-2, p. 245-252, 2015.

PEIXOTO NETO, P. A. D. S.; CAETANO, L. C. O mercado e as plantas medicinais. In: **Plantas medicinais: do Popular ao Científico**. Maceió: Edufal, 2005. p. 32-35.

PETRONELLI, A.; PANNITTERI, G.; TESTA, U. Triterpenoids as new promising anticancer drugs. **Anticancer Drugs**, v. 20, n. 10, p. 880-892, 2009.

PINTO, C.A et al. Produtos naturais: Atualidades, desafios e perspectivas. **Quim. Nova**, v. 25, n. 1, p. 45-61, 2002.

QIU, K. et al. miR-22 regulates cell invasion, migration and proliferation in vitro through inhibiting CD147 expression in tongue squamous cell carcinoma. **Arch. Oral Biol.**, v. 66, p. 92-97, 2016.

QIU, X. et al. Expression and prognostic value of miRNA-26a and miRNA-148a in gastric cancer. **J. Gastroenterol. Hepatol.**, doi: 10.1111/jgh.13533, 2016a.

RATHOD, S. et al. A systematic review of quality of life in head and neck cancer treated with surgery with or without adjuvant treatment. **Oral Oncol.**, 2015, In press.

RAVER-SHAPIRA, N. et al. Transcriptional activation of miR-34a contributes to p53-mediated apoptosis. **Mol Cell**, v. 26, n. 5, p. 731-743, 2007.

REBUCCI, M. et al. miRNA-196b inhibits cell proliferation and induces apoptosis in HepG2 cells by targeting IGF2BP1. **Mol. Cancer**, v. 14, p. 79, 2015.

REN, J. W.; LI, Z. J.; TU, C. MiR-135 post-transcriptionally regulates FOXO1 expression and promotes cell proliferation in human malignant melanoma cells. **Int. J. Clin. Exp. Pathol.**, v. 8, n. 6, p. 6356-6366, 2015.

RISTORI, E. et al. A Dicer-miR-107 Interaction Regulates Biogenesis of Specific miRNAs Crucial for Neurogenesis. **Dev. Cell**, v. 32, n. 5, p. 546-560, 2015.

ROSSI, L.; BONMASSAR, E.; FARAONI, I. Modification of miR gene expression pattern in human colon cancer cells following exposure to 5-fluorouracil in vitro. **Pharmacol. Res.**, v. 56, n. 3, p. 248-253, 2007.

ROYAL SOCIETY OF CHEMSPIDER [Internet]. Search and share chemistry. 2015. Disponível em: <<http://www.chemspider.com/>>. Acesso em: 4 de abril de 2016.

SAKAMOTO, N. et al. MiRNA-148a is downregulated in gastric cancer, targets MMP7, and indicates tumor invasiveness and poor prognosis. **Cancer. Sci.**, v. 105, n. 2, p. 236-243, 2014.

SALMINEN, A. et al. Celastrol: Molecular targets of Thunder God Vine. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 394, n. 3, p. 439-442, 2010.

SANTANA, C. F.; ASFORA, J. J.; COTIAS, C. T. Primeiras observações sobre o emprego da maitenina em pacientes cancerosos. **Rev. Inst. Antibiotic.** 37-49, 1971.

SCHREIBER, R. et al. Evidence for the role of microRNA 374b in acquired cisplatin resistance in pancreatic cancer cells. **Cancer Gene. Ther**, v. 23, n. 8, p. 241-245, 2016.

SEVERINO, P. et al. MiRNA expression profile in head and neck cancer: HOX-cluster embedded miRNA-196a and miRNA-10b dysregulation implicated in cell proliferation. **B.M.C Cancer**. v.13, p.15, 2013.

SHA, M. et al. Celastrol induces apoptosis of gastric cancer cells by miR-146a inhibition of NF-κB activity. **Cancer Cell. Int.**, v. 13, n. 1, p. 50, 2013.

SHA, M. et al. Celastrol induces apoptosis of gastric cancer cells by miR-21 inhibiting PI3K/Akt-NF-κB signaling pathway. **Pharmacology**, v. 93, n.1-2, p. 39-46, 2014.

SHAH, N.; SUKUMAR, S. The Hox genes and their roles in oncogenesis. **Nat. Rev. Cancer.**, v. 10, n. 5, p. 361-371, 2010.

SHEN, N.; HUANG, X.; LI, J. Upregulation of miR-129-5p affects laryngeal cancer cell proliferation, invasiveness, and migration by affecting STAT3 expression. **Tumour. Biol.**, v. 37, n. 2, p. 1789-1796, 2015.

SHEN, Z. et al. MiRNA-34a affects the occurrence of laryngeal squamous cell carcinoma by targeting the antiapoptotic gene survivin. **Med. Oncol.**, v. 29, n. 4, p. 2473-2480, 2012.

SHEN, Z. et al. Promoter hypermethylation of miR-34a contributes to the risk, progression, metastasis and poor survival of laryngeal squamous cell carcinoma. **Gene**, 2016.

SHETH, S. H. et al. Chemoprevention targets for tobacco-related head and neck cancer: past lessons and future directions. **Oral. Oncol.**, v. 51, n. 6, p. 557-564, 2015.

SHI, W. et al. Potential involvement of miR-375 in the premalignant progression of oral squamous cell carcinoma mediated via transcription factor KLF5. **Oncotarget**, v. 6, n. 37, p. 40172-40185, 2015.

SHIAH, S. G. et al. Downregulated miR329 and miR410 promote the proliferation and invasion of oral squamous cell carcinoma by targeting Wnt-7b. **Cancer Res.**, v. 74, n. 24, p. 7560-7572, 2014.

SHRIVASTAVA, S. et al. Anticancer effect of celastrol on human triple negative breast cancer: possible involvement of oxidative stress, mitochondrial dysfunction, apoptosis and PI3K/Akt pathways. **Exp. Mol. Pathol.**, v. 98, n. 3, p. 313-327, 2015.

SINGH, B. et al. MiRNA-93 regulates NRF2 expression and is associated with breast carcinogenesis. **Carcinogenesis**, v. 34, n. 5, p. 1165-1172, 2013.

SUH, Y. et al. Clinical update on cancer: molecular oncology of head and neck cancer. **Cell Death Dis.**, v. 5, p. e1018, 2014.

SUH, Y. E. et al. MiRNA-196a promotes an oncogenic effect in head and neck cancer cells by suppressing annexin A1 and enhancing radioresistance. **Int. J. Cancer.**, p. 1021-1034, 2014a.

SUN, X. et al. MiRNA-221 accelerates the proliferation of laryngeal cancer cell line Hep-2 by suppressing Apaf-1. **Oncol. Rep.**, v. 33, n. 3, p. 1221-1226, 2015.

SUN, X. et al. miRNA-24-3p promotes cell proliferation and regulates chemosensitivity in head and neck squamous cell carcinoma by targeting CHD5. **Future. Oncol.**, 2016.

SUN, Z. et al. miR-21 increases the programmed cell death 4 gene-regulated cell proliferation in head and neck squamous carcinoma cell lines. **Oncol. Rep.**, v. 32, n. 5, p. 2283-2289, 2014.

SZAFRANSKA, A. E. et al. MiRNA expression alterations are linked to tumorigenesis and non-neoplastic processes in pancreatic ductal adenocarcinoma. **Oncogene**, v. 26, n. 30, p. 4442-4452, 2007.

TAKAHASHI, R. U.; MIYAZAKI, H.; OCHIYA, T. The role of miRNAs in the regulation of cancer stem cells. **Front. Genet.**, v. 4, p. 295, 2014.

TAKAHASHI, Y. et al. MiR-107 and MiR-185 can induce cell cycle arrest in human non small cell lung cancer cell lines. **PLoS One**, v. 4, n. 8, p. e6677, 2009.

TANG, Y. T. et al. Role of non-coding RNAs in pancreatic cancer: the bane of the microworld. **World. J. Gastroenterol.**, v. 20, n. 28, p. 9405-9417, 2014.

TIAN, L. et al. MiRNA-205 suppresses proliferation and promotes apoptosis in laryngeal squamous cell carcinoma. **Med. Oncol.**, v. 31, n. 1, p. 785, 2014.

TORRE, L. A. et al. Global cancer statistics, 2012. **C.A. Cancer J. Clin.**, v. 65, n. 2, p. 87-108, 2015.

TSAI, K. W. et al. Epigenetic regulation of miR-196b expression in gastric cancer. **Genes Chrom. Cancer**, v. 49, n. 11, p. 969-980, 2010.

VALERI, N. et al. MiRNA-135b promotes cancer progression by acting as a downstream effector of oncogenic pathways in colon cancer. **Cancer Cell**, v. 25, n. 4, p. 469-483, 2014.

VOLINIA, S. et al. A miRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets. **Proc Natl Acad. Sci. USA.**, v. 103, n. 7, p. 2257-2261, 2006.

WALKER, J. C.; HARLAND, R. M. miRNA-24a is required to repress apoptosis in the developing neural retina. **Genes Dev.**, v. 23, n. 9, p. 1046-1051, 2009.

WANG, H. et al. MicoRNA-451 is a novel tumor suppressor via targeting c-myc in head and neck squamous cell carcinomas. **J. Cancer Res. Ther.**, v. 11 Suppl 2, p. C216-221, 2015a.

WANG, J. et al. MiRNA expression and its implication for the diagnosis and therapeutic strategies of gastric cancer. **Cancer Lett**, v. 297, n. 2, p. 137-43, 2010.

WANG, L.; LIU, H. miRNA-188 is downregulated in oral squamous cell carcinoma and inhibits proliferation and invasion by targeting SIX1. **Tumour Biol**, v. 37, n. 3, p. 4105-4113, 2015.

WANG, R. et al. The PDGF-D/miR-106a/Twist1 pathway orchestrates epithelial-mesenchymal transition in gemcitabine resistance hepatoma cells. **Oncotarget**, v. 6, n. 9, p. 7000-7010, 2015b.

WANG, S. et al. The potent tumor suppressor miR-497 inhibits cancer phenotypes in nasopharyngeal carcinoma by targeting ANLN and HSPA4L. **Oncotarget**, v. 6, n. 34, p. 35893-35907, 2015c.

WANG, X. N. et al. Effects of Celastrol on growth inhibition of U937 leukemia cells through the regulation of the Notch1/NF-kappaB signaling pathway in vitro. **Chin. J. Cancer.**, v. 29, n. 4, p. 385-390, 2010a.

WONG, L. et al [Internet]. Endogenous controls for real-time quantitation of miRNA using TaqMan® MiRNA AssaysApplied Biosystems Application Note, Publication 127AP11-01. Disponível em:<www.appliedbiosystems.com>. Acesso em: 15 de maio de 2016.

WONG, T. S. et al. Mature miR-184 as Potential Oncogenic miRNA of Squamous Cell Carcinoma of Tongue. In: **Clin. Cancer. Res.**, v.14, 2008.

WU, C. D. et al. MiRNA-1 induces apoptosis by targeting prothymosin alpha in nasopharyngeal carcinoma cells. **J Biomed. Sci.**, v. 18, p. 80, 2011.

WU, C. W. et al. Identification of miRNA-135b in stool as a potential noninvasive biomarker for colorectal cancer and adenoma. **Clin. Cancer. Res.**, v. 20, n. 11, p. 2994-3002, 2014.

WU, T. et al. Increased expression of Lin28B associates with poor prognosis in patients with oral squamous cell carcinoma. **PLoS One**, v. 8, n. 12, p. e83869, 2013.

WU, T. et al. Regulation of laryngeal squamous cell cancer progression by the lncRNA H19/miR-148a-3p/DNMT1 axis. **Oncotarget**, v.7, n.10, p. 11553-11566, 2016.

WU, T. Y. et al. MiR-19a is correlated with prognosis and apoptosis of laryngeal squamous cell carcinoma by regulating TIMP-2 expression. **Int. J. Clin. Exp. Pathol.**, v. 7, n. 1, p. 56-63, 2014a.

WU, W. et al. MiRNA-135b regulates metastasis suppressor 1 expression and promotes migration and invasion in colorectal cancer. **Mol. Cell. Biochem.**, v. 388, n. 1-2, p. 249-59, 2014b.

WU, Y. et al. MiRNA-205 suppresses the growth of adrenocortical carcinoma SW-13 cells via targeting Bcl-2. **Oncol. Rep.**, v. 34, n. 6, p. 3104-3110, 2015.

XIA, H.; LI, Y.; LV, X. MiRNA-107 inhibits tumor growth and metastasis by targeting the BDNF-mediated PI3K/AKT pathway in human non-small lung cancer. **Int. J. Oncol.**, v. 49, n. 4, p. 1325-1333, 2016.

XIAO, S. et al. miR-135b contributes to the radioresistance by targeting GSK3 β in human glioblastoma multiforme cells. **PLoS One**, v. 9, n. 9, p. e108810, 2014.

XIAO, X. et al. MiRNA-93 regulates cyclin G2 expression and plays an oncogenic role in laryngeal squamous cell carcinoma. **Int. J. Oncol.**, v. 46, n. 1, p. 161-174, 2015.

XIE, K. L. et al. MiRNAs associated with HBV infection and HBV-related HCC. **Theranostics**, v. 4, n. 12, p. 1176-1192, 2014.

XU, L. et al. MiRNA-24 inhibits growth, induces apoptosis, and reverses radioresistance in laryngeal squamous cell carcinoma by targeting X-linked inhibitor of apoptosis protein. **Cancer. Cell. Int.**, v. 15, p. 61, 2015.

XU, Y. et al. Down-regulation of miRNA-135b inhibited growth of cervical cancer cells by targeting FOXO1. **Int J Clin. Exp. Pathol.**, v. 8, n. 9, p. 10294-10304, 2015a.

YADAV, V. R. et al. Celastrol suppresses invasion of colon and pancreatic cancer cells through the downregulation of expression of CXCR4 chemokine receptor. **J. Mol. Med. (Berl)**, v. 88, n. 12, p. 1243-53, 2010.

YAN, B. et al. Downregulation of miRNA 99a in oral squamous cell carcinomas contributes to the growth and survival of oral cancer cells. **Mol. Med. Rep.**, v. 6, n. 3, p. 675-681, 2012.

YAN, X. J. et al. Triterpenoids as reversal agents for anticancer drug resistance treatment. **Drug. Discov. Today**, v. 19, n. 4, p. 482-488, 2014.

- YANAIHARA, N. et al. Unique miRNA molecular profiles in lung cancer diagnosis and prognosis. **Cancer Cell**, v. 9, n. 3, p. 189-198, 2006.
- YANG, C. J. et al. miR-221 and miR-222 expression increased the growth and tumorigenesis of oral carcinoma cells. **J. Oral. Pathol. Med.**, v. 40, n. 7, p. 560-566, 2011.
- YANG, G. et al. MiR-205 functions as a tumor suppressor via targeting TGF- α in osteosarcoma. **Exp. Mol. Pathol.**, v. 100, n. 1, p. 160-166, 2016.
- YANG, T. S. et al. MiRNA-106b in cancer-associated fibroblasts from gastric cancer promotes cell migration and invasion by targeting PTEN. **F.E.B.S Lett**, v. 588, n. 13, p. 2162-2169, 2014.
- YANG, W. et al. MiR-223 targeting MAFB suppresses proliferation and migration of nasopharyngeal carcinoma cells. **B.M.C Cancer**, v. 15, p. 461, 2015.
- YANG, Y. et al. Progress risk assessment of oral premalignant lesions with saliva miRNA analysis. **B.M.C Cancer**, v. 13, p. 129, 2013.
- YEKTA, S.; SHIH, I. H.; BARTEL, D. P. MiRNA-directed cleavage of HOXB8 mRNA. **Science**, v. 304, n. 5670, p. 594-596, 2004.
- YIN, D. et al. HBx-induced miR-21 suppresses cell apoptosis in hepatocellular carcinoma by targeting interleukin-12. **Oncol. Rep.**, v. 36, n. 4, p. 2305-2312, 2016.
- YOUNG, D. et al. Increase in head and neck cancer in younger patients due to human papillomavirus (HPV). **Oral Oncol.**, v. 51, n. 8, p. 727-730, 2015.
- YOUSEF, B. A. et al. Pristimerin demonstrates anticancer potential in colorectal cancer cells by inducing G1 phase arrest and apoptosis and suppressing various pro-survival signaling proteins. **Oncol. Rep.**, v. 35, n. 2, p. 1091-1100, 2016.
- YU, L. et al. miR-26a inhibits invasion and metastasis of nasopharyngeal cancer by targeting EZH2. **Oncol. Lett.**, v. 5, n. 4, p. 1223-1228, 2013.
- YU, T. et al. MiRNA-9 inhibits the proliferation of oral squamous cell carcinoma cells by suppressing expression of CXCR4 via the Wnt/ β -catenin signaling pathway. **Oncogene**, v. 33, n. 42, p. 5017-5027, 2014.
- YU, W. F. et al. miR-206 inhibits human laryngeal squamous cell carcinoma cell growth by regulation of cyclinD2. **Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.**, v. 19, n. 14, p. 2697-2702, 2015.
- YU, X. et al. Loss of connective tissue growth factor as an unfavorable prognosis factor activates miR-18b by PI3K/AKT/C-Jun and C-Myc and promotes cell growth in nasopharyngeal carcinoma. **Cell Death Dis.**, v. 4, p. e634, 2013a.
- ZENG, Q. et al. Overexpression of miR-155 promotes the proliferation and invasion of oral squamous carcinoma cells by regulating BCL6/cyclin D2. **Int. J. Mol. Med.**, v. 37, n. 5, p. 1274-1280, 2016.
- ZENG, Y.; YI, R.; CULLEN, B. R. MiRNAs and small interfering RNAs can inhibit mRNA expression by similar mechanisms. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 100, n. 17, p. 9779-9784, 2003.
- ZHANG, B. et al. miRNAs as oncogenes and tumor suppressors. **Dev. Biol.**, v. 302, n. 1, p. 1-12, 2007.
- ZHANG, J. J. et al. miR-107 promotes hepatocellular carcinoma cell proliferation by targeting Axin2. **Int. J. Clin. Exp. Pathol.**, v. 8, n. 5, p. 5168-5174, 2015.
- ZHANG, L. et al. miRNAs exhibit high frequency genomic alterations in human cancer. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 103, n. 24, p. 9136-9141, 2006.

ZHANG, L. et al. Induction chemotherapy with concurrent chemoradiotherapy versus concurrent chemoradiotherapy for locally advanced squamous cell carcinoma of head and neck: a meta-analysis. **Sci. Rep.**, v. 5, p. 10798, 2015a.

ZHANG, L. et al. MiR-107 down-regulates SIAH1 expression in human breast cancer cells and silencing of miR-107 inhibits tumor growth in a nude mouse model of triple-negative breast cancer. **Mol. Carcinog.**, v. 55, n. 5, p. 768-777, 2016.

ZHANG, L. et al. MiRNA-10b Triggers the Epithelial-Mesenchymal Transition (EMT) of Laryngeal Carcinoma Hep-2 Cells by Directly Targeting the E-cadherin. **Appl. Biochem. Biotechnol.**, v. 176, n. 1, p. 33-44, 2015b.

ZHANG, L. et al. MiRNA-135b acts as a tumor promoter by targeting the hypoxia-inducible factor pathway in genetically defined mouse model of head and neck squamous cell carcinoma. **Cancer Lett.**, v. 331, n. 2, p. 230-238, 2013.

ZHANG, L. Y. et al. MiRNA-144 promotes cell proliferation, migration and invasion in nasopharyngeal carcinoma through repression of PTEN. **Carcinogenesis**, v. 34, n. 2, p. 454-463, 2013a.

ZHANG, M. et al. miR-107 and miR-25 simultaneously target LATS2 and regulate proliferation and invasion of gastric adenocarcinoma (GAC) cells. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 460, n. 3, p. 806-812, 2015c.

ZHANG, P. et al. miR-205 acts as a tumour radiosensitizer by targeting ZEB1 and Ubc13. **Nat. Commun.**, v. 5, p. 5671, 2014.

ZHANG, X. et al. Regulation of the tumour suppressor PDCD4 by miR-499 and miR-21 in oropharyngeal cancers. **B.M.C Cancer**, v. 16, n. 1, p. 86, 2015d.

ZHANG, Z. et al. miR-107 regulates cisplatin chemosensitivity of A549 non small cell lung cancer cell line by targeting cyclin dependent kinase 8. **Int. J. Clin. Exp. Pathol.**, v. 7, n. 10, p. 7236-7241, 2014a.

ZHAO, H. et al. Pristimerin triggers AIF-dependent programmed necrosis in glioma cells via activation of JNK. **Cancer Lett.**, v.374 n.1, p, 136-148, 2016.

ZHAO, X. X. et al. MiRNA-26a inhibits proliferation by targeting high mobility group AT-hook 1 in breast cancer. **Int J. Clin. Exp. Pathol.**, v. 8, n. 1, p. 368-73, 2015.

ZHOU, C. et al. miR-107 activates ATR/Chk1 pathway and suppress cervical cancer invasion by targeting MCL1. **PLoS One**, v. 9, n. 11, p. e111860, 2014.

ZHOU, P. et al. Correlation between mir-21 expression and laryngeal carcinoma risks. **J. Evid. Based. Med.**, v. 9, n. 1, p. 32-37, 2016.

ZHOU, Y. X.; HUANG, Y. L. Antiangiogenic effect of celastrol on the growth of human glioma: an in vitro and in vivo study. **Chin. Med. J. (Engl)**, v. 122, n. 14, p. 1666-1673, 2009.

ZHU, S. et al. MiRNA-21 targets the tumor suppressor gene tropomyosin 1 (TPM1). **J. Biol. Chem.**, v. 282, n. 19, p. 14328-14336, 2007.

ZHU, S. et al. MiRNA-21 targets tumor suppressor genes in invasion and metastasis. **Cell. Res.**, v. 18, n. 3, p. 350-9, 2008.