

LUCIANA MACHADO DZIK

A influência do microRNA *miR-21* no câncer de tiróide

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para a obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Biologia Celular e do Desenvolvimento

Orientadora: Prof. Dra. Edna Teruko Kimura

Versão original

São Paulo
2013

RESUMO

DZIK, L. M. **A influência do microRNA *miR-21* no câncer de tiróide.** 2013. 56 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Tecidual) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

O câncer de tiróide é a neoplasia mais frequente do sistema endócrino, acometendo cerca de 1% de todos os casos de câncer no mundo. Alterações moleculares na via MAPK são comumente encontradas na tumorigênese tireoidiana, destacando-se o rearranjo do tipo RET/PTC. Atualmente, diversos estudos relacionados ao câncer de tiróide associam o perfil alterado da expressão de microRNAs com esta neoplasia. Os microRNAs são pequenas moléculas de RNAs não codificantes, que atuam como reguladores pós-transcricionais da síntese proteica, através de pareamento com a região 3' não-traduzida de RNAs mensageiros alvos. Dentre os microRNAs associados ao câncer de tiróide, reconhece-se uma diminuição na expressão de *miR-148*, *miR-151* e *let-7f*, e uma super-expressão de *miR-146b*, *miR-221*, *miR-222* e *miR-21*. Dentre os miRNAs aumentados, o *miR-21* destaca-se por estar altamente expresso na maioria dos tumores sólidos, levando-nos a analisar o papel de sua elevada expressão no câncer de tiróide e nas células foliculares tireoidianas, avaliando o seu efeito na proliferação celular e na expressão de potencial proteína alvo. Com esse objetivo, a expressão de *miR-21* foi quantificada em 4 linhagens celulares de câncer de tiróide: KTC-2, derivada de carcinoma anaplásico; FRO, derivada de carcinoma pouco diferenciado; TPC-1 e BCPAP, derivadas de carcinoma papilífero. Posteriormente realizamos a modulação da expressão de *miR-21* em linhagem tumoral e normal, inibindo a expressão deste miRNA em células KTC-2 (através da utilização de anti-*miR-21*) e aumentando a sua expressão em células PCCL3 (através de um sistema de indução condicional da expressão de *miR-21* controlada por doxiciclina). Os potenciais alvos de *miR-21* foram analisados através de ferramentas de bioinformática, disponíveis *online*. Adicionalmente, o oncogene RET/PTC3 foi condicionalmente expresso em células foliculares tireoidianas (PTC3-5) e a sua influência na contagem celular foi avaliada através de um ensaio de curva de crescimento. Todos os resultados obtidos foram submetidos ao teste-t de Bonferroni, e as diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$. Como resultados, observamos que todas as linhagens celulares expressam *miR-21*, sendo esta expressão mais elevada em células KTC-2, quando comparada às linhagens TPC-1, BCPAP e FRO. A utilização de 60 nM de anti-*miR-21* diminuiu em 80% a expressão de *miR-21* em células KTC-2. Esta inibição levou a um aumento da expressão de SMAD7, uma proteína inibitória da via TGF β . Paralelamente, avaliou-se o papel do aumento da expressão de *miR-21* em células foliculares PCCL3, e não foram observadas diferenças significativas na proliferação celular. Por fim, mostramos que a ativação oncogênica do rearranjo RET/PTC3 em células PTC3-5 aumenta os níveis de *miR-21* e diminui a proliferação celular em 50%. Quando a indução oncogênica é realizada concomitante à ativação da via TGF β , a contagem celular diminui em 90%. Desta forma, mostramos que a inibição de *miR-21* em células KTC-2 aumenta a expressão proteica de SMAD7. Paralelamente, a indução oncogênica de RET/PTC3 em células foliculares tireoidianas aumenta a expressão de *miR-21* e diminui a proliferação celular, sugerindo que o microRNA atue na restauração da via antiproliferativa TGF β através da modulação de SMAD7.

Palavras-chave: Câncer de tiróide. MicroRNA. *miR-21*. Via TGF β . Via MAPK. SMAD7.

ABSTRACT

DZIK, L. M. **The role of microRNA *miR-21* on thyroid cancer**. 2013. 56 p. Masters thesis (Cell and Tissue Biology) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

Thyroid cancer is the most common endocrine malignance, involving approximately 1% of all world cases of cancers. Molecular alterations in MAPK pathway signaling are frequently observed during thyroid tumorigenesis, among them, the mutation BRAF^{V600E} and the RET/PTC rearrangement are the most hallmarks. Currently, several studies involving thyroid carcinogenesis have been associated the aberrant expression of miRNAs profiles with cancer initiation and development. MicroRNAs are small non-coding RNAs, which act as potent post-transcriptional regulators of gene expression, inhibiting protein synthesis by base pairing to 3' untranslated regions (UTR) of target messenger RNAs. Among all thyroid cancer-associated miRNAs, both the down-regulation of miR-148, miR-151 and let-7f, as the elevated expression of miR-146b, miR-221, miR-222 e *miR-21* are recognized in tumor analyses. Above all super-expressed miRNAs, *miR-21* is one of the most up-regulated miRNA in solid tumors, bringing us to evaluate the role of its elevated expression in thyroid tumorigenesis, and the influence of RET/PTC3 in this process. To this purpose, we first accessed *miR-21* levels in four thyroid carcinoma-derived cell lines: KTC-2, derived from anaplastic thyroid cancer, FRO, derived from poorly differentiated thyroid cancer; BCPAP and TPC-1 derived from papillary thyroid cancer. The modulation of *miR-21* expression was then performed in normal and tumoral cells, through its inhibition (using anti*miR-21*) and up-regulation (using a Tet-Off system to induce *miR-21* expression by doxycycline) in KTC-2 and PCCL3 cell lines, respectively. The potential targets of *miR-21* were searched by computational tools, available online. Additionally, RET/PTC3 oncogene was conditionally over-expressed in PTC3-5 cells and its effect on cell proliferation was analyzed by growth curve. The results were submitted to Bonferroni t-test, and differences were considered significant at p value < 0.05. All thyroid cancer-derived cell lines showed *miR-21* expression. Above them, KTC-2 showed high levels of this miRNA compared to BCPAP, TPC-1 and FRO cell lines. Anti-*miR-21* transfection (60 nM) in KTC-2 cells leads to an 80% inhibition of *miR-21* expression. *MiR-21* down-regulation in KTC-2 cells increased SMAD7 expression, an inhibitory protein of TGFβ pathway. We next decided to investigate the role of *miR-21* up-regulation in PCCL3 cells, and found no influence on cell proliferation. Finally, we showed that oncogenic activation of RET/PTC3 rearrangement in PTC3-5 cells increased *miR-21* levels and decreased 50% of cell proliferation. Additionally, RET/PTC3 activation concomitant to TGFβ treatment inhibited 90% of cell counting. Thus, we showed that *miR-21* inhibition increases SMAD7 expression in KTC-2 cells. Additionally, oncogenic activation of RET/PTC3 in thyroid follicular cells increases *miR-21* expression and decreases cell proliferation, suggesting that this miRNA acts on the regulation of TGFβ antiproliferative signaling, through *miR-21*-dependent SMAD7 inhibition.

Keywords: Thyroid cancer. MicroRNA. *MiR-21*. TGFβ pathway. MAPK pathway. SMAD7

1 INTRODUÇÃO

O câncer é caracterizado por sucessivas alterações genéticas e epigenéticas, que ocasionam proliferação celular descontrolada e irresponsividade a mecanismos de morte celular programada. Em estágios mais avançados, as células evadem o sistema imune e adquirem capacidade de invadir tecidos e órgãos adjacentes, podendo migrar e sofrer metástase para órgãos distantes (BAYLIN; JONES, 2011; HANAHAN; WEINBERG, 2011).

Além das alterações clássicas em oncogenes e genes supressores de tumor, os microRNAs (miRNAs) também vêm sendo investigados durante as etapas da tumorigênese. Estas pequenas moléculas atuam em processos biológicos, regulando mecanismos de proliferação, diferenciação e apoptose através de inibição pós-transcricional de RNAs mensageiros-alvo (BARTEL, 2009; SHUKLA; SINGH; BARIK, 2011). Diversos estudos envolvendo o carcinoma tireoidiano relataram alterações no perfil de expressão de miRNAs (HE et al., 2005), porém a consequência desta alteração permanece pouco esclarecida.

1.1 Câncer de Tiróide

Os tumores tireoidianos são a neoplasia endócrina mais frequente, acometendo cerca 1% de todos os cânceres (SIEGEL et al., 2013). O câncer de tiróide é predominante no sexo feminino (3 casos em mulheres para cada caso em homem), e o tratamento envolve ressecção cirúrgica combinada à radioterapia (SUN et al., 2013). Apesar de apresentar uma baixa mortalidade, a incidência de câncer de tiróide vem aumentando ao longo dos últimos dez anos (JEMAL et al., 2003; SIEGEL et al., 2013), e alguns pesquisadores sugerem que o motivo deste aumento seja a frequente reincidência tumoral (TUTTLE et al., 2010).

Existem diferentes tipos de carcinoma tireoidiano, caracterizados de acordo com a célula de origem e com características histológicas. Aproximadamente 3% dos tumores tireoidianos originam-se a partir de células parafoliculares (também chamadas de células C), e são denominados carcinomas medulares (MTC, do inglês *Medullary Thyroid Cancer*). Os outros mais de 95% dos tumores são oriundos de células foliculares, e podem ser classificados de acordo com características histológicas em: (I) carcinomas diferenciados, por sua vez subdividido em papilífero

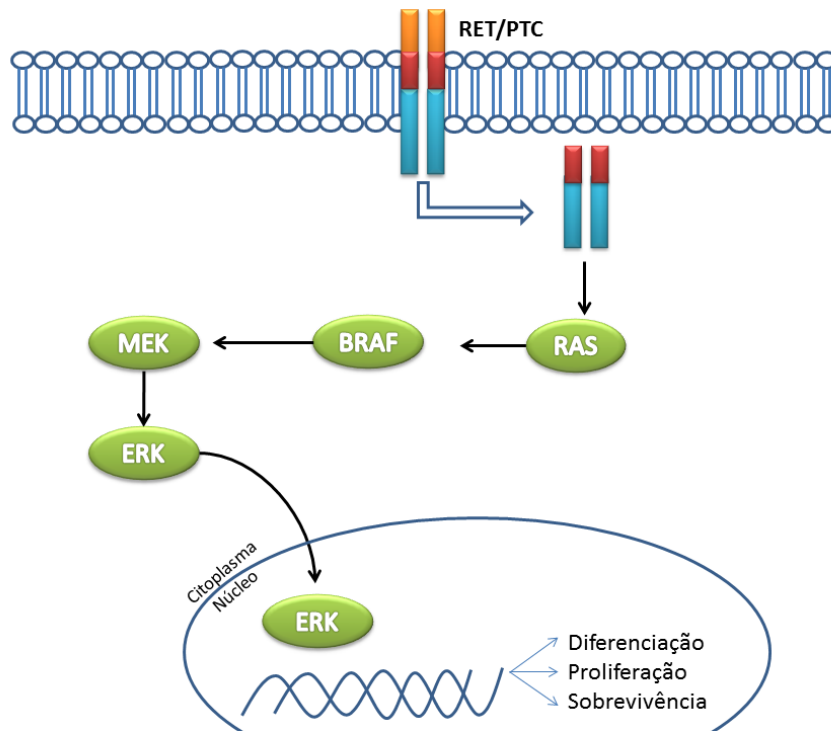
(PTC do inglês *Papillary Thyroid Cancer*), e folicular (FTC do inglês *Follicular Thyroid Cancer*); (II) carcinoma pouco diferenciado (PDTC do inglês *Poorly Differentiated Thyroid Cancer*); e (III) carcinoma indiferenciado ou anaplásico (ATC do inglês *Anaplastic Thyroid Cancer*).

Os subtipos diferenciados PTC e FTC são os mais comuns, acometendo respectivamente 80-85% dos casos e 10-15% dos casos (CHEN; JEMAL; WARD, 2009) e caracterizam-se por apresentar um bom prognóstico com alta taxa de sobrevida após tireoidectomia associada à radioiodoterapia (^{131}I) (SCHUMBERGER, 1998). Por outro lado, apesar de raro (presente em apenas 1-2% dos casos), o carcinoma indiferenciado ou ATC é o histotipo mais agressivo, e a excisão cirúrgica só é possível quando a detecção do tumor é realizada em estágios iniciais. Além disso, os tumores são refratários à quimioterapia e radioterapia, de forma que o paciente apresente uma média de sobrevida de apenas 6 meses (KONDO et al., 2006).

1.2 Alterações moleculares no câncer de tiróide

Diversas alterações moleculares estão correlacionadas com a tumorigênese tireoidiana. Grande parte delas envolve componentes da via MAPK (do inglês *Mitogen Activated Protein Kinase*), destacando-se as mutações pontuais em BRAF e RAS, e os rearranjos RET/PTC, que ativam constitutivamente a via RET>RAS>RAF>ERK (Figura 1). Esta via de sinalização apresenta fundamental importância na regulação da diferenciação, proliferação, senescência e sobrevivência em resposta a fatores extracelulares (YOON; SEGER, 2006), e encontra-se alterada em 70% dos casos de PTC, sem que haja sobreposição de mutações e rearranjos (KIMURA et al., 2003).

Figura 1 - Via de sinalização MAPK



A via MAPK é ativada através da ligação de fatores de crescimento ao receptor transmembrânico tirosina-kinase. Esta ligação leva à dimerização e ativação do receptor através de auto fosforilação. A liberação do domínio intracelular no citoplasma ativa a proteína RAS, que por sua vez, recruta e se liga à BRAF, ativando-a. BRAF ativada fosforila e ativa MEK, que, conseqüentemente, fosforila e ativa ERK. ERK é então translocado do citoplasma para o núcleo, onde aumenta a expressão de promotores tumorais, e diminui a expressão de supressores tumorais, regulando uma série de fatores de transcrição relacionados à diferenciação, proliferação e sobrevivência celular.
Fonte: (NIKIFOROV, 2008).

Dentre todas as alterações da via MAPK, a mutação pontual no gene $BRAF^{T1799A}$ (KIMURA et al., 2003) destaca-se como uma das alterações genéticas mais comuns do carcinoma tireoidiano, e está presente em aproximadamente 40-45% dos casos de PTC (CHAKRABORTY et al., 2012; XING, 2005). Esta mutação caracteriza-se pela translocação de um nucleotídeo timina por uma adenina na posição 1799, acarretando em substituição de um aminoácido de valina por um ácido glutâmico durante a montagem proteica de BRAF ($BRAF^{V600E}$). A expressão da proteína $BRAF^{V600E}$ acarreta em ativação constitutiva da via Ras-Raf-MEK-ERK, e é comumente encontrado em carcinomas mais agressivos, que podem apresentar metástase à distância e, conseqüentemente, um pior prognóstico (FAGIN, 2004; LUPI et al., 2007). A presença de mutação $BRAF^{T1799A}$ em tumores anaplásicos,

onde se observam lesões teciduais de PTC, sugere que o ATC origine-se a partir do carcinoma papilífero, em um mecanismo de desdiferenciação progressiva (NIKIFOROVA et al., 2003).

Outra mutação observada no carcinoma tiroidiano está correlacionada com a proteína RAS. Esta proteína é ativada e desativada pela GTPase, que perde a sua função quando RAS encontra-se mutado, o que leva a uma ativação constitutiva da via MAPK. Das três isoformas de RAS mutado: HRAS, KRAS e NRAS, a última é a mais predominante nos tumores tiroidianos (LIU et al., 2008).

O gene RET, responsável pela codificação de um receptor transmembrana do tipo tirosina/kinase, que normalmente não é expresso em células foliculares tiroidianas, também se apresenta alterado em tumores tiroidianos. A formação do rearranjo RET/PTC é a condição *sine qua non* para que haja expressão de RET em células foliculares tiroidianas, e este rearranjo resulta da fusão do domínio tirosina kinase do gene RET com o domínio 5' de outros genes, sendo observado em 15% dos casos de PTC (NIKIFOROV, 2002, 2011).

Até o presente momento, já foram descritos na literatura 15 subtipos de rearranjo RET/PTC, sendo os mais comuns o RET/PTC1 originado a partir da fusão de RET com o gene CCDC6 ou H4, encontrado em 60–70% dos casos onde o rearranjo está presente (GRIECO et al., 1990); e o RET/PTC3, presente em 20-30% dos casos, oriundo da fusão de RET com o gene NCOA-4 ou ELE1 (SANTORO et al., 1994). Todas as isoformas já descritas de RET/PTC resultam em dimerização do receptor independente de ligante, tornando-o constitutivamente ativado, o que acarreta em constante ativação da via MAPK.

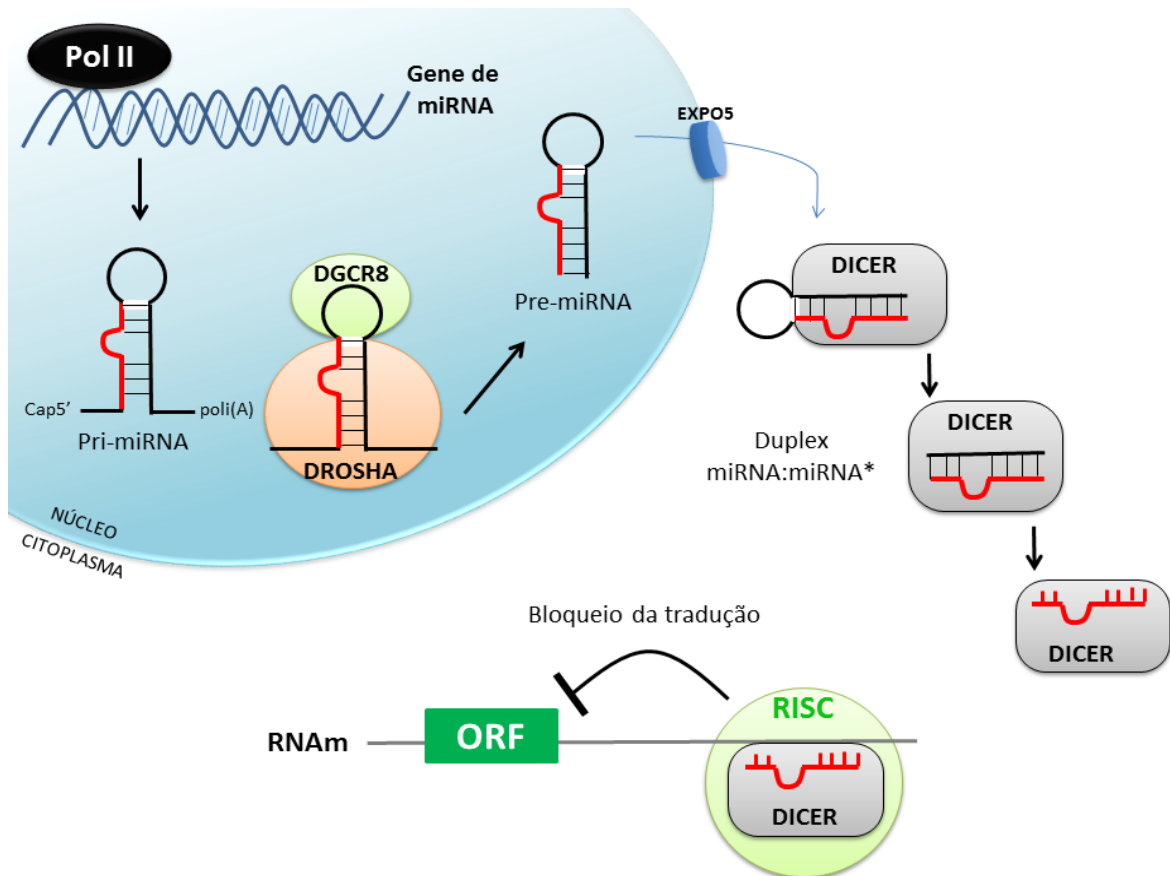
Além das alterações ontogênicas clássicas, alterações no perfil de expressão dos miRNAs também apresentam um papel importante na tumorigênese tiroidiana. Diversos estudos, envolvendo a análise do perfil de expressão de miRNAs em tecidos derivados de carcinoma papilífero de tiróide, apontam a diminuição de expressão de *miR-15*, *miR-16*, *miR-26a*, *miR-30*, *miR-92* e *miR-125* (HE et al., 2005; NIKIFOROVA et al., 2009) e o aumento do nível de *miR-21*, *miR-34a*, *miR-146b*, *miR-181a*, *miR-155*, *miR-220* e *miR-221* no tecido tumoral (NIKIFOROVA et al., 2008).

1.3 Os microRNAs e o câncer

Os microRNAs (miRNAs) são pequenas moléculas de RNAs endógenos e não codificantes, compostos por 19-22 nucleotídeos, que estão relacionados com diversos aspectos biológicos; incluindo o *timing* de desenvolvimento, diferenciação, proliferação, morte celular e metabolismo (BUSHATI; COHEN, 2007; GANGARAJU; LIN, 2009; KLOOSTERMAN; PLASTERK, 2006) e patológicos, por meio de regulação da expressão de oncogenes e genes supressores de tumor.

A biossíntese dos miRNAs (Figura 2) se inicia com a transcrição do gene de miRNA pela RNA polimerase II, originando um transcrito primário de miRNA (pri-miRNA), contendo cap 5' e cauda poli(A). Ainda no núcleo, a clivagem do pri-miRNA pela enzima Drosha resulta na formação do precursor de miRNA (pré-miRNA), que apresenta-se na forma de *hairpin*. O pre-miRNA é então reconhecido pela exportina 5, por meio da qual ele deixa o núcleo em direção ao citoplasma, onde é novamente processado pela enzima DICER, perdendo a estrutura de *hairpin* e originando um duplex de miRNAs (miRNA:miRNA*). O duplex é então reconhecido pelo complexo RISC (do inglês *RNA induced silencing complex*), onde apenas a fita madura permanecerá acoplada, e atuará por meio de pareamento com diferentes regiões de RNAs mensageiros (RNAm) alvos. Grande parte dos miRNAs se associa com a região 3' não-traduzida de RNAm, porém essa interação também já foi descrita na região 5' não-traduzida (LYTLE et al., 2007) e na região codificante (FORMAN et al., 2008).

Figura 2 – Biossíntese de miRNA



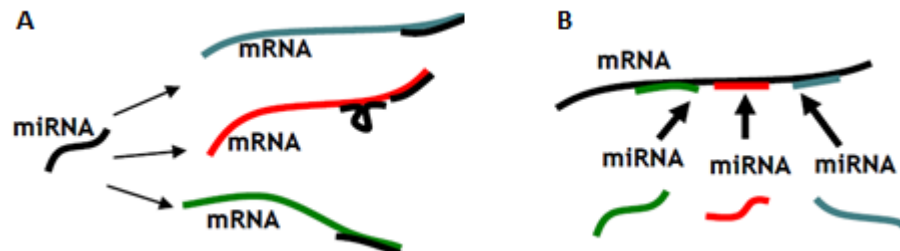
A transcrição do gene de miRNA pela enzima RNA polimerase II origina o transcrito primário de miRNA (pri-miR-21), que, quando acoplado ao complexo microprocessador, é clivado pela enzima RNase III DROSHA, gerando uma estrutura intermediária de aproximadamente 70 nucleotídeos, denominada pre-miR-21 (precursor de miRNA), que é exportado do núcleo ao citoplasma e processado pela enzima DICER, originando transcritos de fita dupla (miRNA:miRNA). A incorporação deste duplex miRNA:miRNA ao complexo RISC libera uma das fitas do transcrito, mantendo apenas a fita madura aderida ao complexo. Assim, o pareamento perfeito desta sequência do miRNA com o mRNA alvo provocará a degradação do mesmo, já o pareamento imperfeito inibe a maquinaria de tradução, bloqueando a síntese proteica.

Fonte: (MELO; ESTELLER, 2011).

O pareamento entre miRNA e RNAm pode ocorrer de forma perfeita ou imperfeita. Quando o pareamento mostra-se totalmente complementar entre o miRNA e o seu RNA mensageiro alvo, ocorre degradação do RNAm através da ação de ribonucleases associadas ao complexo RISC. Apesar de já ter sido descrito em mamíferos (BAEK et al., 2008), este mecanismo é comumente encontrado em plantas (LLAVE et al., 2002). A maneira mais comum de inibição pós-transcricional em mamíferos ocorre por meio de pareamento imperfeito entre o miRNA e a região 3' não-traduzida (3'UTR) de RNAm alvo, levando a um bloqueio da maquinaria de síntese proteica (FABIAN; SONENBERG, 2012; SAJ; LAI, 2011).

Até o presente momento, mais de 2000 miRNAs já foram identificados no genoma humano (<http://mirbase.org/> - Release 19), e análises *in silico* revelam que um único miRNA é capaz de regular centenas de RNAs mensageiros, da mesma forma que um único RNA mensageiro é regulado por diversos miRNAs (Figura 3) (SELBACH et al., 2008). Adicionalmente, análises de bioinformática estimam que mais de 60% dos genes codificantes possuem sítios de ligação para esses pequenos RNAs (FRIEDMAN et al., 2009). Desta forma, a combinação específica da expressão de miRNAs em determinado contexto, orchestra uma complexa rede de regulação da síntese proteica.

Figura 3 – Esquema representativo da complexa regulação dos miRNAs.



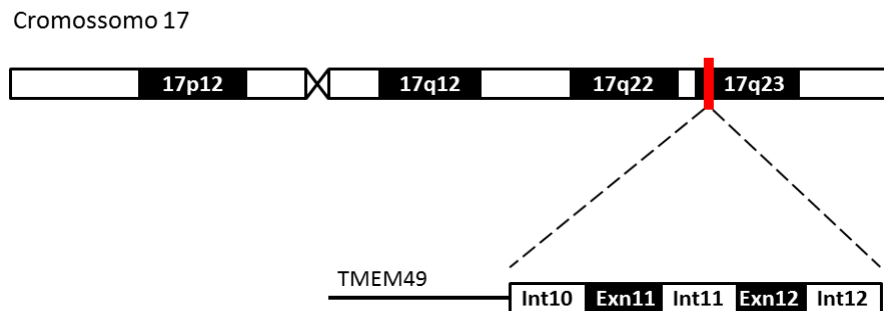
Um único miRNA é capaz de regular diversos RNAs mensageiros alvos (A) ao mesmo tempo em que um único RNA mensageiro é regulado por diferentes miRNAs (B).

Fonte: Desenhado por MV Geraldo.

Expressões aberrantes de miRNAs ocasionam mudanças na expressão de diversas proteínas e, conseqüentemente, alteração de diversas vias de sinalização, influenciando no desenvolvimento do câncer (LU et al., 2005; MUNKER; CALIN, 2011; VISIONE; CROCE, 2009; VOLINIA et al., 2006).

Primeiramente identificado como um fator anti-apoptótico em glioblastoma (CHAN et al., 2005), o *miR-21* destaca-se dentre os diversos miRNAs associados ao desenvolvimento tumoral, por apresentar-se altamente expresso na maioria dos cânceres. Como revisado por Kumarswamy e colaboradores (2011), o gene *pri-miR-21* está localizado no braço longo do cromossomo 17, na região q23.2 (figura 4), e a sua região promotora apresenta sítios de ligação para diversos fatores de transcrição, incluindo a proteína ativadora 1 (AP-1), p53 e STAT3 (KUMARSWAMY et al., 2011).

Figura 4 – Localização gênica de *miR-21*.



O gene de *miR-21* está localizado na região q23.2 do braço longo do cromossomo 17, sobreposto ao gene codificante da proteína *TMEM49*.

Fonte: Adaptado de Kumarswamy et al (2011).

Um dos primeiros estudos envolvendo a análise do perfil de miRNAs em amostras tumorais humanas, apontou o *miR-21* como o único miRNA superexpresso nos 6 tipos de tumores avaliados (VOLINIA et al., 2006). Estudos posteriores mostraram que esta superexpressão de *miR-21* também é encontrada em tumores do sistema nervoso, pâncreas, esôfago, osteosarcoma, carcinoma hepatocelular, leucemia e tumores gástricos (DILLHOFF et al., 2008; LI et al., 2010; MENG et al., 2007; MORI et al., 2009; RAO et al., 2010; ZHANG et al., 2008; ZIYAN et al., 2011).

Diversos alvos de *miR-21* já foram validados em diferentes tumores, incluindo genes relacionados ao controle do ciclo celular, como *CDC25A* validado em tumores de cólon; genes ligados à migração, metástase, invasão e angiogênese, como *TPM1*, *TIMP3* e *RECK* validados em mama, próstata e glioblastoma; e importantes supressores tumorais importantes, como *PTEN* e *PDCD4* validados em glioblastoma e mama (BUSCAGLIA; LI, 2011; FRANKEL et al., 2008; MENG et al., 2007; THUM et al., 2008).

Pesquisadores constataram que a deleção de *miR-21* em camundongos transgênicos diminui a formação de tumores pulmonares da mesma forma que a super-expressão deste miRNA aumenta a tumorigênese (HATLEY et al., 2010), Dados similares também foram encontrados em outros estudos, que mostram que a superexpressão de *miR-21* em camundongos transgênicos resulta em desenvolvimento de linfoma, e que a inibição subsequente deste miRNA leva a uma diminuição do tamanho tumoral, apontando uma ligação direta entre o *miR-21* e o desenvolvimento tumoral (MEDINA et al., 2010). Outros autores sugerem que a inibição de *miR-21* induz a parada do ciclo celular (PARK et al., 2009) e o aumento

dos níveis de apoptose (LI et al., 2009; WANG; LI, 2010), trazendo evidências de que este miRNA apresenta um papel oncogênico no câncer.

6. CONCLUSÕES

- As quatro linhagens de câncer de tiróide (BCPAP, TPC-1, FRO e KTC-2) expressam *miR-21*, e esta expressão é mais elevada nas células KTC-2.
- O aumento de *miR-21* em célula folicular tiroídiana não modula a proliferação celular
- A ativação de RET/PTC3 em células PTC3-5 aumenta a expressão de *miR-21* e diminui a contagem celular;
- *miR-21* modula negativamente a expressão proteica de SMAD7 em células KTC-2;
- O aumento de *miR-21* influenciando SMAD7 pode contribuir com a restauração da via TGF β .

REFERÊNCIAS¹

- ASANGANI, I. A.; RASHEED, S. A.; NIKOLOVA, D. A.; LEUPOLD, J. H.; COLBURN, N. H.; POST, S.; ALLGAYER, H. MicroRNA-21 (*miR-21*) post-transcriptionally downregulates tumor suppressor *Pdcd4* and stimulates invasion, intravasation and metastasis in colorectal cancer. **Oncogene**, v. 27, n. 15, p. 2128-2136, 2008.
- BAEK, D.; VILLÉN, J.; SHIN, C.; CAMARGO, F. D.; GYGI S. P.; BARTEL, D. P. The impact of microRNAs on protein output. **Nature**, v. 455, n. 7209, p. 64-71, 2008.
- BARTEL, D. P. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. **Cell**, v. 136, n. 2, p. 215-233, 2009.
- BAYLIN, S. B.; JONES, P. A. A decade of exploring the cancer epigenome - biological and translational implications. **Nat. Rev. Cancer**, v. 11, n. 10, p. 726-734, 2011.
- BOVELL, L. C.; SHANMUGAM, C.; PUTCHA, B. D.; KATKOORI, V. R.; ZHANG, B.; BAE, S.; SINGH, K. P.; GRIZZLE, W. E.; MANNE, U. The Prognostic Value of MicroRNAs Varies with Patient Race/Ethnicity and Stage of Colorectal Cancer. **Clin. Cancer Res.**, v. 19, n. 14, p. 3955-3965, 2013.
- BUSCAGLIA, L. E.; LI, Y. Apoptosis and the target genes of microRNA-21. **Chin. J. Cancer**, v. 30, n. 6, p. 371-380, 2011.
- BUSHATI, N.; COHEN, S. M. microRNA functions. **Annu. Rev. Cell Dev. Biol.**, v. 23, p. 175-205, 2007.
- CAI, X.; HAGEDORN, C. H.; CULLEN, B. R. Human microRNAs are processed from capped, polyadenylated transcripts that can also function as mRNAs. **RNA**, v. 10, n. 12, p. 1957-1966, 2004.
- CHAKRABORTY, A.; NARKAR, A.; MUKHOPADHYAYA, R.; KANE, S.; D'CRUZ, A.; RAJAN, M. G. BRAF V600E mutation in papillary thyroid carcinoma: significant association with node metastases and extra thyroidal invasion. **Endocr. Pathol.**, v. 23, n. 2, p. 83-93, 2012.
- CHAN, J. A.; KRICHEVSKY, A. M.; KOSIK, K. S. MicroRNA-21 is an antiapoptotic factor in human glioblastoma cells. **Cancer Res.**, v. 65, n. 14, p. 6029-6033, 2005.
- CHEN, A. Y.; JEMAL, A.; WARD, E. M. Increasing incidence of differentiated thyroid cancer in the United States, 1988–2005. **Cancer**, v. 115, n. 16, p. 3801–3807, 2009.
- CHEN, C.; RIDZON, D. A.; BROOMER, A. J.; ZHAOHUI, Z.; LEE, D. H.; NGUYEN, J. T.; BARBISIN, M.; XU, N. A.; MAHUVAKAR, V. R.; ANDERSEN, M. R.; LAO, K. Q.;

¹ De acordo com:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2003.

LIVAK, K. J.; GUEGLER, K. J. Real-time quantification of microRNAs by stem-loop RT-PCR. **Nucleic Acids Res.**, v. 33, p. e179, 2005.

CHOMCZYNSKI, P.; SACCHI, N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. **Anal. Biochem.**, v. 162, p. 156-159, 1987.

DAVIS, B. N.; HILYARD, A. C.; LAGNA, G.; HATA, A. SMAD proteins control DROSHA-mediated microRNA maturation. **Nature**, v. 454, n. 7200, p. 56-61, 2008.

DILLHOFF, M.; LIU, J.; FRANKEL, W.; CROCE, C.; BLOOMSTON, M. MicroRNA-21 is overexpressed in pancreatic cancer and a potential predictor of survival. **J. Gastrointest. Surg.**, v. 12, n. 12, p. 2171-2176, 2008.

FABIAN, M. R.; SONENBERG, N. The mechanics of miRNA-mediated gene silencing: a look under the hood of miRISC. **Nat. Struct. Mol. Biol.**, v. 19, n. 6, p. 586-593, 2012.

FAGIN, J. A. Challenging dogma in thyroid cancer molecular genetics--role of RET/PTC and BRAF in tumor initiation. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 89, n. 9, p. 4264-4266, 2004.

FOLINI, M.; GANDELLINI, P.; LONGONI, N.; PROFUMO, V.; CALLARI, M.; PENNATI, M.; COLECCHIA, M.; SUPINO, R.; VENERONI, S.; SALVIONI, R.; VALDAGNI, R.; DIADONE, M. G.; ZAFFARONI, N. *miR-21*: an oncomir on strike in prostate cancer. **Mol. Cancer**, v. 9, p. 12, 2010.

FORMAN, J. J.; LEGESSE-MILLER, A.; COLLER, H. A. A search for conserved sequences in coding regions reveals that the let-7 microRNA targets Dicer within its coding sequence. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, v. 105, n. 39, p. 14879-14884, 2008.

FRANKEL, L. B.; CHRISTOFFERSEN, N. R.; JACOBSEN, A.; LINDOW, M.; KROGH, A.; LUND, A. H. Programmed cell death 4 (PDCD4) is an important functional target of the microRNA *miR-21* in breast cancer cells. **J. Biol. Chem.**, v. 283, n. 2, p. 1026-1033, 2008.

FREZZETTI, D.; DE MENNA, M.; ZOPPOLI, P.; GUERRA, C.; FERRARO, A.; BELLO, A. M.; DE LUCA, P.; CALABRESE, C.; FUSCO, A.; CECCARELLI, M.; ZOLLO, M.; BARBACID, M.; DI LAURO, R.; DE VITA, G. Upregulation of *miR-21* by Ras in vivo and its role in tumor growth. **Oncogene**, v. 30, n. 3, p. 275-286, 2011.

FRIEDMAN, R. C.; FARH, K. K.; BURGE, C. B.; BARTEL, D. P. Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. **Genome Res.**, v. 19, n. 1, p. 92-105, 2009.

GANGARAJU, V. K.; LIN, H. MicroRNAs: key regulators of stem cells. **Nat. Rev. Mol. Cell Biol.**, v. 10, n. 2, p. 116-125, 2009.

GAUR, A. B.; HOLBECK, S. L.; COLBURN, N. H.; ISRAEL, M. A. Downregulation of Pdc4 by *miR-21* facilitates glioblastoma proliferation in vivo. **Neuro Oncol.**, v. 13, n. 6, p. 580-590, 2011.

GERALDO, M. V.; YAMASHITA, A. S.; KIMURA, E. T. MicroRNA miR-146b-5p regulates signal transduction of TGF-beta by repressing SMAD4 in thyroid cancer. **Oncogene**, v. 31, n. 15, p. 1910-1922, 2012.

GRIECO, M.; SANTORO, M.; BERLINGIERI, M. T.; MELILLO, R. M.; DONGHI, R.; BONGARZONE, I.; PIEROTTI, M. A.; DELLA PORTA, G.; FUSCO, A.; VECCHIO, G. PTC is a novel rearranged form of the ret proto-oncogene and is frequently detected in vivo in human thyroid papillary carcinomas. **Cell**, v. 60, n. 4, p. 557-563, 1990.

GRIFFITHS-JONES, S.; SAINI, H. K.; VAN DONGEN, S.; ENRIGHT, A. J. miRBase: tools for microRNA genomics. **Nucleic Acids Res.**, v. 36, p. D154-158, 2008.

HANAHAH, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. **Cell**, v. 144, n. 5, p. 646-674, 2011.

HATLEY, M. E.; PATRICK, D. M.; GARCIA, M. R.; RICHARDSON, J. A.; BASSEL-DUBY, R.; VAN ROOIJ, E.; OLSON, E. N. Modulation of K-Ras-dependent lung tumorigenesis by MicroRNA-21. **Cancer Cell**, v. 18, n. 3, p. 282-293, 2010.

HE, H.; JAZDZEWSKI, K.; LI, W.; LIYANARACHCHI, S.; NAGY, R.; VOLINIA, S.; CALIN, G. A.; LIU, C. G.; FRANSSILA, K.; SUSTER, S.; KLOOS, R. T.; CROCE, C. M.; DE LA CHAPELLE, A. The role of microRNA genes in papillary thyroid carcinoma. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, v. 102, n. 52, p. 19075-19080, 2005.

JEMAL, A.; MURRAY, T.; SAMUELS, A.; GHAFOR, A.; WARD, E.; THUN, M. J. Cancer statistics, 2003. **CA Cancer J. Clin.**, v. 53, n. 1, p. 5-26, 2003.

KEUTGEN, X. M.; FILICORI, F.; CROWLEY, M. J.; WANG, Y.; SCOGNAMIGLIO, T.; HODA, R.; BUITRAGO, D.; COOPER, D.; ZEIGER, M. A.; ZARNEGAR, R.; ELEMENTO, O.; FAHEY, T. J. 3RD. A panel of four miRNAs accurately differentiates malignant from benign indeterminate thyroid lesions on fine needle aspiration. **Clin. Cancer Res.**, v. 18, n. 7, p. 2032-2038, 2012.

KIMURA, E. T.; NIKIFOROVA, M. N.; ZHU, Z.; KNAUF, J. A.; NIKIFOROV, Y. E.; FAGIN, J. A. High prevalence of BRAF mutations in thyroid cancer: genetic evidence for constitutive activation of the RET/PTC-RAS-BRAF signaling pathway in papillary thyroid carcinoma. **Cancer Res.**, v. 63, n. 7, p. 1454-1457, 2003.

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

KNAUF, J. A.; KURODA, H.; BASU, S.; FAGIN, J. A. RET/PTC-induced dedifferentiation of thyroid cells is mediated through Y1062 signaling through SHC-RAS-MAP kinase. **Oncogene**, v. 22, n. 28, p. 4406-4412, 2003.

KONDO, T.; EZZAT, S.; ASA, S. L. Pathogenetic mechanisms in thyroid follicular-cell neoplasia. **Nat. Rev. Cancer**, v. 6, n. 4, p. 292-306, 2006.

KUMARSWAMY, R.; VOLKMANN, I.; THUM, T. Regulation and function of miRNA-21 in health and disease. **RNA Biol.**, v. 8, n. 5, p. 706-713, 2011.

LAGOS-QUINTANA, M.; RAUHUT, R.; LENDECKEL, W.; TUSCHL, T. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. **Science**, v. 294, p. 853-858, 2001.

LEWIS, B. P.; BURGE, C. B.; BARTEL, D. P. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. In: (Ed.). **Cell**, United States, v.120, p.15-20, 2005.

LI, T.; LI, D.; SHA, J.; SUN, P.; HUANG, Y. MicroRNA-21 directly targets MARCKS and promotes apoptosis resistance and invasion in prostate cancer cells. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 383, n. 3, p. 280-285, 2009.

LI, Y.; ZHU, X.; GU, J.; DONG, D.; YAO, J.; LIN, C.; HUANG, K.; FEI, J. Anti-*miR-21* oligonucleotide sensitizes leukemic K562 cells to arsenic trioxide by inducing apoptosis. **Cancer Sci.**, v. 101, n. 4, p. 948-954, 2010.

LIU, G.; FRIGGERI, A.; YANG, Y.; MILOSEVIC, J.; DING, Q.; THANNICKAL, V. J.; KAMINSKI, N.; ABRAHAM, E. *miR-21* mediates fibrogenic activation of pulmonary fibroblasts and lung fibrosis. **J. Exp. Med.**, v. 207, n. 8, p. 1589-1597, 2010.

LIU, Z.; HOU, P.; JI, M.; GUAN, H.; STUDEMAN, K.; JENSEN, K.; VASKO, V.; EL-NAGGAR, A. K.; XING, M.; EL-NAGGAR, A. K.; XING, M. Highly prevalent genetic alterations in receptor tyrosine kinases and phosphatidylinositol 3-kinase/akt and mitogen-activated protein kinase pathways in anaplastic and follicular thyroid cancers. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 93, n. 8, p. 3106-3116, 2008.

LLAVE, C.; XIE, Z.; KASSCHAU, K. D.; CARRINGTON, J. C. Cleavage of Scarecrow-like mRNA targets directed by a class of Arabidopsis miRNA. **Science**, v. 297, n. 5589, p. 2053-2056, 2002.

LU, J. ; GETZ, G.; MISKA, E. A.; ALVAREZ-SAAVEDRA, E.; LAMB, J.; PECK, D.; SWEET-CORDERO, A.; EBERT, B. L.; MAK, R. H.; FERRANDO, A. A.; DOWNING, J. R.; JACKS, T.; HORVITZ, H. R.; GOLUB, T. R. MicroRNA expression profiles classify human cancers. **Nature**, v. 435, n. 7043, p. 834-838, 2005.

LUPI, C.; GIANNINI, R.; UGOLINI, C.; PROIETTI, A.; BERTI, P.; MINUTO, M.; MATERAZZI, G.; ELISEI, R.; SANTORO, M.; MICCOLI, P.; BASOLO, F. Association of BRAF V600E mutation with poor clinicopathological outcomes in 500 consecutive cases of papillary thyroid carcinoma. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 92, n. 11, p. 4085-4090, 2007.

LYTLE, J. R.; YARIO, T. A.; STEITZ, J. A. Target mRNAs are repressed as efficiently by microRNA-binding sites in the 5' UTR as in the 3' UTR. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, v. 104, n. 23, p. 9667-9672, 2007.

MASSAGUE, J. TGFbeta in Cancer. **Cell**, v. 134, n. 2, p. 215-230, 2008.

- MASSAGUE, J. TGF-beta signaling in development and disease. **FEBS Lett.**, v. 586, n. 14, p. 1833, 2012.
- MATSUO, S. E.; LEONI, S. G.; COLQUHOUN, A.; KIMURA, E. T. Transforming growth factor-beta1 and activin A generate antiproliferative signaling in thyroid cancer cells. **J. Endocrinol.**, v. 190, n. 1, p. 141-150, 2006.
- MEDINA, P. P.; NOLDE, M.; SLACK, F. J. OncomiR addiction in an in vivo model of microRNA-21-induced pre-B-cell lymphoma. **Nature**, v. 467, n. 7311, p. 86-90, 2010.
- MELO, S. A.; ESTELLER, M. Dysregulation of microRNAs in cancer: playing with fire. **FEBS Lett.**, v. 585, n. 13, p. 2087-2099, 2011.
- MENG, F.; HENSON, R.; WEHBE-JANEK, H.; GHOSHAL, K.; JACOB, S. T.; PATEL, T. MicroRNA-21 regulates expression of the PTEN tumor suppressor gene in human hepatocellular cancer. **Gastroenterology**, v. 133, n. 2, p. 647-658, 2007.
- MORI, Y.; ISHIGURO, H.; KUWABARA, Y.; KIMURA, M.; MITSUI, A.; OGAWA, R.; KATADA, T.; HARATA, K.; TANAKA, T.; SHIOZAKI, M.; FUJII, Y. MicroRNA-21 induces cell proliferation and invasion in esophageal squamous cell carcinoma. **Mol. Med. Rep.**, v. 2, n. 2, p. 235-359, 2009.
- MUNKER, R.; CALIN, G. A. MicroRNA profiling in cancer. **Clin. Sci. (Lond)**, v. 121, n. 4, p. 141-158, 2011.
- NAGARAJ, N. S.; DATTA, P. K. Targeting the transforming growth factor-beta signaling pathway in human cancer. **Expert Opin Investig Drugs**, v. 19, n. 1, p. 77-91, 2010.
- NIKIFOROV, Y. E. RET/PTC rearrangement in thyroid tumors. **Endocr. Pathol.**, v. 13, n. 1, p. 3-16, 2002.
- NIKIFOROV, Y. E. Thyroid carcinoma: molecular pathways and therapeutic targets. **Mod. Pathol.**, v. 21, p. S37-43, 2008. Suppl. 2.
- NIKIFOROV, Y. E. Molecular analysis of thyroid tumors. **Mod. Pathol.**, v. 24 Suppl 2, p. S34-43, 2011.
- NIKIFOROVA, M. N.; CHIOSEA, S. I.; NIKIFOROV, Y. E. MicroRNA expression profiles in thyroid tumors. **Endocr. Pathol.**, v. 20, n. 2, p. 85-91, 2009.
- NIKIFOROVA, M. N.; KIMURA, E. T.; GANDHI, M.; BIDDINGER, P. W.; KNAUF, J. A.; BASOLO, F.; ZHU, Z.; GIANNINI, R.; SALVATORE, G.; FUSCO, A.; SANTORO, M.; FAGIN, J. A.; NIKIFOROV, Y. E. BRAF mutations in thyroid tumors are restricted to papillary carcinomas and anaplastic or poorly differentiated carcinomas arising from papillary carcinomas. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 88, n. 11, p. 5399-5404, 2003.

NIKIFOROVA, M. N.; TSENG, G. C.; STEWARD, D.; DIORIO, D.; NIKIFOROV, Y. E. MicroRNA expression profiling of thyroid tumors: biological significance and diagnostic utility. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 93, n. 5, p. 1600-1608, 2008.

PAPACONSTANTINO, I. G. ; MANTA, A.; GAZOULI, M.; LYBEROPOULOU, A.; LYKOUDIS, P. M.; POLYMENEAS, G.; VOROS, D. Expression of microRNAs in patients with pancreatic cancer and its prognostic significance. **Pancreas**, v. 42, n. 1, p. 67-71, 2013.

PARK, J. K.; LEE, E. J.; ESAU, C.; SCHMITTGEN, T. D. Antisense inhibition of microRNA-21 or -221 arrests cell cycle, induces apoptosis, and sensitizes the effects of gemcitabine in pancreatic adenocarcinoma. **Pancreas**, v. 38, n. 7, p. e190-199, 2009.

PICHIORRI, F.; PALMIERI, D.; DE LUCA, L.; CONSIGLIO, J.; YOU, J.; ROCCI, A.; TALABERE, T.; PIOVAN, C.; LAGANA, A.; CASCIONE, L.; GUAN, J.; GASPARINI, P.; BALATTI, V.; NUOVO, G.; COPPOLA, V.; HOFMEINSTER, C. C.; MARCUCCI, G.; BYRD, J. C.; VOLINIA, S.; SHAPIRO, C. L.; FREITAS, M. A.; CROCE, C. M. In vivo NCL targeting affects breast cancer aggressiveness through miRNA regulation. **J. Exp. Med.**, v. 210, n. 5, p. 951-968, 2013.

RAO, S. A.; SANTOSH, V.; SOMASUNDARAM, K. Genome-wide expression profiling identifies deregulated miRNAs in malignant astrocytoma. **Mod. Pathol.**, v. 23, n. 10, p. 1404-1417, 2010.

SAJ, A.; LAI, E. C. Control of microRNA biogenesis and transcription by cell signaling pathways. **Curr. Opin Genet. Dev.**, v. 21, n. 4, p. 504-510, 2011.

SANCHEZ-CAPELO, A. Dual role for TGF-beta1 in apoptosis. **Cytokine Growth Factor Rev.**, v. 16, n. 1, p. 15-34, 2005.

SANTORO, M.; DATHAN, N. A.; BERLINGIERI, M. T.; BONGARZONE, I.; PAULIN, C.; GRIECO, M.; PIEROTTI, M. A.; VECCHIO, G.; FUSCO, A. Molecular characterization of RET/PTC3; a novel rearranged version of the RET proto-oncogene in a human thyroid papillary carcinoma. **Oncogene**, v. 9, n. 2, p. 509-516, 1994.

SCHLUMBERGER, M. J. Papillary and follicular thyroid carcinoma. **N. Engl. J. Med.**, v. 338, n. 5, p. 297-306, 1998.

SELBACH, M.; SCHWANHÄUSSER, B.; THIERFELDER, N.; FANG, Z.; KHANIN, R.; RAJEWSKY, N. Widespread changes in protein synthesis induced by microRNAs. **Nature**, v. 455, n. 7209, p. 58-63, 2008.

SHUKLA, G. C.; SINGH, J.; BARIK, S. MicroRNAs: Processing, Maturation, Target Recognition and Regulatory Functions. **Mol. Cell Pharmacol.**, v. 3, n. 3, p. 83-92, 2011.

SIEGEL, R.; NAISHADHAM, D.; JEMAL, A. Cancer statistics, 2013. **CA Cancer J. Clin.**, v. 63, n. 1, p. 11-30, 2013.

TALOTTA, F.; CIMMINO, A.; MATARAZZO, M. R.; CASALINO, L.; DE VITA, G.; D'ESPOSITO, M.; DI LAURO, R.; VERDE, P. An autoregulatory loop mediated by *miR-21* and PDCD4 controls the AP-1 activity in RAS transformation. **Oncogene**, v. 28, n. 1, p. 73-84, 2009.

SUN, X. S.; GUEVARA, N.; FAKHRY, N.; SUN, S. R.; MARCY, P. Y.; SANTINI, J.; BOSSET, J. F.; THARIAT, J. Radiation therapy in thyroid cancer. **Cancer Radiother.** v. 17, p. 233-243, 2013.

THUM, T.; GROSS, C.; FIEDLER, J.; FISCHER, T.; KISSLER, S.; BUSSEN, M.; GALUPPO, P.; JUST, S.; ROTTBAUER, W.; FRANTZ, S.; CASTOLDI, M.; SOUTSCHEK, J.; KOTELIANSKY, V.; ROSENWALD, A.; BASSON, M. A.; LICHT J. D.; PENA, J. T.; ROUHANIFARD S. H.; MUCKENTHALER, M. U.; TUSCHL, T.; MARTIN, G. R.; BAUERSACHS, J.; ENGELHARDT, S. MicroRNA-21 contributes to myocardial disease by stimulating MAP kinase signalling in fibroblasts. **Nature**, v. 456, n. 7224, p. 980-984, 2008.

TUTTLE, R. M.; BALL, D. W.; BYRD, D.; DILAWARI, R. A.; DOHERTY, G. M.; DUH Q. Y.; EHYA, H.; FARRAR, W. B.; HADDAD R. I.; KANDEEL, F.; KLOOS, R. T.; KOPP, P.; LAMONICA, D. M.; LOREE, T. R.; LYDIATT, W. M.; MCCAFFREY, J. C.; OLSON JUNIOR, J. A.; PARKS, L.; RIDGE, J. A.; SHAH, J. P.; SHERMAN, S. I.; STURGEON, C.; WAGUESPACK, S. G.; WANG, T. N.; WIRTH, L. J. Thyroid carcinoma. **J Natl. Compr. Canc. Netw.**, v. 8, n. 11, p. 1228-1274, 2010.

VISONE, R.; CROCE, C. M. MiRNAs and cancer. **Am. J. Pathol.**, v. 174, n. 4, p. 1131-1138, 2009.

VOLINIA, S.; CALIN, G. A.; LIU, C. G.; AMBS, S.; CIMMINO, A.; PETROCCA, F.; VISONE, R.; IORIO, M.; ROLDO, C.; FERRACIN, M.; PRUEITT, R. L.; YANAIHARA, N.; LANZA, G.; SCARPA, A.; VECCHIONE, A.; NEGRINI, M.; HARRIS, C. C.; CROCE, C. M. A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, v. 103, n. 7, p. 2257-2261, 2006.

WANG, J.; KNAUF, J. A.; BASU, S.; PUXEDDU, E.; KURODA, H.; SANTORO, M.; FUSCO, A.; FAGIN, J. A. Conditional expression of RET/PTC induces a weak oncogenic drive in thyroid PCCL3 cells and inhibits thyrotropin action at multiple levels. **Mol. Endocrinol.**, v. 17, n. 7, p. 1425-1436, 2003.

WANG, K.; LI, P. F. Foxo3a regulates apoptosis by negatively targeting *miR-21*. **J. Biol. Chem.**, v. 285, n. 22, p. 16958-16966, 2010.

XING, M. BRAF mutation in thyroid cancer. **Endocr. Relat. Cancer**, v. 12, n. 2, p. 245-262, 2005.

YAN, X.; LIU, Z.; CHEN, Y. Regulation of TGF-beta signaling by Smad7. **Acta. Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai)**, v. 41, n. 4, p. 263-272, 2009.

YANG, M.; SHEN, H.; QIU, C.; NI, Y.; WANG, L.; DONG, W.; LIAO, Y.; DU, J. High expression of *miR-21* and miR-155 predicts recurrence and unfavourable survival in non-small cell lung cancer. **Eur. J. Cancer**, v. 49, n. 3, p. 604-615, 2013.

YOON, S.; SEGER, R. The extracellular signal-regulated kinase: multiple substrates regulate diverse cellular functions. **Growth Factors**, v. 24, n. 1, p. 21-44, 2006.

ZAMAN, M. S.; SHAHRYARI, V.; DENG, G.; THAMMINANA, S.; SAINI, S.; MAJID, S.; CHANG, I.; HIRATA, H.; UENO, K.; YAMAMURA, S.; SINGH, K.; TANAKA, Y.; TABATABAI, Z. L.; DAHIYA, R. Up-regulation of microRNA-21 correlates with lower kidney cancer survival. **PLoS One**, v. 7, n. 2, p. e31060, 2012.

ZHANG, Z.; LI, Z.; GAO, C.; CHEN, P.; CHEN, J.; LIU, W.; XIAO, S.; LU, H. *miR-21* plays a pivotal role in gastric cancer pathogenesis and progression. **Lab. Invest.**, v. 88, n. 12, p. 1358-1366, 2008.

ZIYAN, W.; SHUHUA, Y.; XIUFANG, W.; XIAOYUN, L. MicroRNA-21 is involved in osteosarcoma cell invasion and migration. **Med. Oncol.**, v. 28, n. 4, p. 1469-1474, 2011.