



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA - MESTRADO

**AS PROTEÍNAS TKS-4 E TKS-5, FORMADORAS DE INVADOPÓDIOS, SÃO
EXPRESSAS NO AMELOBLASTOMA E TUMOR ODONTOGÊNICO CÍSTICO
CALCIFICANTE**

Moema Ferreira dos Reis Horta

Belém – Pará

2015



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA - MESTRADO

Moema Ferreira dos Reis Horta

**AS PROTEÍNAS TKS-4 E TKS-5, FORMADORAS DE INVADOPÓDIOS, SÃO
EXPRESSAS NO AMELOBLASTOMA E TUMOR ODONTOGÊNICO CÍSTICO
CALCIFICANTE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Pará, como pré-requisito para a obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Área de Concentração: Patologia Oral

Orientador: Prof. Dr. João de Jesus Viana
Pinheiro

Belém-Pará

2015



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA - MESTRADO

**AS PROTEÍNAS TKS-4 E TKS-5, FORMADORAS DE INVADOPÓDIOS, SÃO
EXPRESSAS NO AMELOBLASTOMA E TUMOR ODONTOGÊNICO CÍSTICO
CALCIFICANTE**

Data da Defesa: 09/02/2015

BANCA DE JULGAMENTO DE DISSERTAÇÃO

Prof. Dr. João de Jesus Viana Pinheiro

Conceito:_____

Prof. Dr. Sérgio de Melo Alves Júnior

Conceito:_____

Prof^a. Dr^a. Maria Sueli da Silva Kataoka

Conceito:_____

Belém-Pará

2015

DEDICATÓRIA

Dedico este mestrado a Deus, força maior em minha vida, aos meus pais que sempre dedicados não mediram esforços para o meu crescimento e ao meu esposo pelo amor, incentivo, apoio e compreensão nas minhas escolhas.

AGRADECIMENTOS

Ao meu Deus que nunca me desamparou, e que em todos os momentos esteve me sustentando e dando forças para que mais esse passo pudesse ser dado. Obrigada Pai por me capacitar e por Teu imenso amor em minha vida.

Ao meu esposo José Valério, meu grande amor, seu apoio e incentivo foram sem dúvida fundamentais em cada momento dessa jornada.

Aos meus pais, José Reis e Maria de Ribamar, por estarem sempre ao meu lado apoiando e incentivando em todos os momentos. Amo muito vocês.

Ao grande professor João Pinheiro, orientador deste trabalho, pessoa de inúmeras qualidades. Sou imensamente grata a Deus de ter tido a oportunidade de trabalhar com você. Sua competência, ética e profissionalismo são suas marcas registradas. A tranquilidade com que encara novos desafios manteve-me calma e perseverante nos momentos mais difíceis. Obrigada por acreditar em mim e por permitir que eu fizesse parte de sua valiosa equipe.

A querida professora Sueli Kataoka, grande profissional, com a qual muito aprendi. Obrigada pela mão amiga e por sempre estar disponível para dar mais um conselho ou mais uma lida no trabalho. Obrigada pela paciência que sempre teve comigo e pelo carinho e perfeccionismo com que sempre faz brilhantemente tudo a que se propõe.

Ao professor Sérgio Alves, que com seus comentários e revisões, sempre pertinentes, nos auxiliou de maneira valiosa a chegar na conclusão desse trabalho.

Ao querido professor David Normando, que com sua competência e profissionalismo tem guiado brilhantemente nossa pós graduação. Obrigada por todo conhecimento transmitido e pelo empenho em ver seus alunos crescerem.

Aos professores do PPGO, obrigada pelo conhecimento gerado e por transmitirem que para ser mestre é preciso ter muito mais do que referencial teórico, é preciso ter amor pelo que se faz.

Ao Itenir, técnico do Cesupa, que esteve sempre pronto para realizar a imuno, sem se preocupar com o horário. Muito obrigada.

Aos secretários do PPGO Antelmo, Edna, André e Elaine que sempre estiveram disponíveis a ajudar nos tramites burocráticos.

A amiga Natacha Malu que participou ativamente na elaboração deste trabalho e dividiu comigo alegrias, angustias e preocupações. Ter conhecido essa menina tão esforçada e capacitada foi um grande presente. Obrigada pela mão amiga e por todo companheirismo durante essa jornada.

A amiga Anna Tereza que compartilhou suas experiências e sempre esteve pronta para ajudar.

Aos amigos que fiz no LabCult, obrigada pela amizade, força e incentivo. A competência e esforço de cada um faz da nossa equipe uma equipe diferenciada.

Aos queridos colegas de turma pelo companheirismo e amizade que tornaram esses dois anos mais suaves. Nossa amizade é um tesouro precioso.

Moema Reis Horta

SUMÁRIO

ARTIGO EM PORTUGUÊS	02
Folha de rosto	02
Resumo	03
Introdução	04
Material e Métodos	06
Resultados	09
Discussão	10
Referências	13
Legendas de Figuras	17
Figuras	18

AS PROTEÍNAS TKS-4 E TKS-5, FORMADORAS DE INVADOPÓDIOS, SÃO EXPRESSAS NO AMELOBLASTOMA E TUMOR ODONTOGÊNICO CÍSTICO CALCIFICANTE

Moema Ferreira dos Reis Horta e João J.V. Pinheiro

Título resumido: **Imunoexpressão das TKS-4 e TKS-5 no Ameloblastoma**

Palavras-chave: Ameloblastoma; Tumores odontogênicos; Tumor odontogênico Cístico Calcificante; Imuno-histoquímica; TKS-4; TKS-5; Invadopódio.

Autor Correspondente:

Dr. João J. V. Pinheiro
Universidade Federal do Pará
Instituto de Ciências da Saúde
Faculdade de Odontologia
Programa de Pós-Graduação em Odontologia
Laboratório de Cultivo Celular
Segundo andar
Rua Augusto Corrêa, 01. Belém-Pará. CEP: 66075-110
Brasil
Telefone: 55-91-32017563
Fax: 55-91-32017563
e-mail: radface@hotmail.com

Resumo

Objetivos: O ameloblastoma é uma neoplasia odontogênica de grande relevância clínica, que embora raramente sofra transformação maligna, destrói de forma agressiva o tecido ósseo, além de apresentar altas taxas de recorrência. A invasividade local de neoplasias tem sido associada às proteínas TKs-4 e TKs-5 e à presença de invadopódios, que são protrusões que se formam na membrana celular. TKs-4 e TKs-5 participam na formação dessas protrusões que penetram na matriz extracelular e promovem a sua degradação.

Métodos e resultados: Neste estudo, a expressão de TKs-4 e TKs-5 foi avaliada, por imunohistoquímica, em 20 casos de ameloblastoma e 7 casos de tumor odontogênico cístico calcificante (TOCC). Os dois tumores expressaram essas proteínas, no entanto, houve uma maior expressão no ameloblastoma quando comparado ao TOCC ($p < 0,05$). Quando se avaliou a expressão de TKs-4 e TKs-5 em células neoplásicas de ameloblastoma em relação ao estroma desta neoplasia foi encontrada uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0,001$), sendo mais expressa nas células neoplásicas.

Conclusões: Esses resultados indicam um possível papel de TKs-4 e TKs-5 na formação de invadopódios e no comportamento biológico do ameloblastoma.

INTRODUÇÃO

O ameloblastoma é um tumor odontogênico benigno de grande incidência, com aspecto clínico, radiográfico e histopatológico variável.¹⁻⁴ Apesar de se tratar de um tumor benigno, é localmente invasivo, o que resulta em elevadas taxas de recidiva e morbidade^{5,6}. Mediante a esta característica, seu protocolo terapêutico não é completamente padronizado^{7,8}. Entretanto, na maior parte dos casos, cirurgias radicais são realizadas, com o objetivo de evitar recidivas tumorais⁷⁻⁹.

Devido estas particularidades, pesquisas têm sido realizadas para melhor compreender os mecanismos relacionados à invasividade celular e caracterizar o microambiente tumoral do ameloblastoma. É provável que durante a progressão desta neoplasia, mitógenos sejam aleatoriamente liberados, estimulando a secreção de Metaloproteínases da matriz (MMPs) e seus inibidores (TIMPS)^{3,5}, induzindo ao aumento da degradação da Matriz Extracelular (MEC) e levando a reabsorção óssea^{3,5,10-12}. Possivelmente, a degradação focal da MEC ocorra devido a pequenas projeções celulares denominadas invadopódio. Este induz a adesão celular na MEC, promovendo sua degradação por permitir a liberação e ativação focal das MMPs^{13,14}.

Duas proteínas chaves são responsáveis pela formação do invadopódio e são expressas no ameloblastoma, a cortactina e a MT1-MMP, que provavelmente combinam forças na invasividade desta neoplasia^(3,5,10). Para que ocorra o recrutamento da cortactina, é necessário a fosforilação de um dos substratos da família Src, o substrato tiorina quinase-5 (TKs-5)¹³. A TKs-5 é uma das proteínas responsáveis pelo

recrutamento dos filamentos de actina (F-actina), sendo um dos eventos iniciais na conformação e estruturação dos invadopódios¹⁵⁻¹⁸.

Ao longo do processo de formação do invadopódio diversas proteínas são recrutadas, levando a sua maturação¹⁹. Dentre essas, outro substrato da família SRC é recrutado: o substrato tirosina quinase-4 (TKs-4)¹³. A TKs-4 é fundamental para a ativação das MMPs, dentre elas a MMP-2, MMP-9 e MT1-MMP. Isso propiciará a degradação focal da MEC devido a estabilização das MMPs^{10,15-16, 20-28}, levando a invasividade tumoral.^{15-18, 26, 27}

Ambos os substratos, a TKs-4 e -5, apresentam superexpressão em tumores malignos, como de mama, cólon, pulmão, próstata, melanoma e células da glia, além de estar associado ao pobre prognóstico de tais neoplasias.^{15,25-34} Embora tenham sido detectadas outras proteínas próprias dos invadopódios, como a cortactina e MT1-MMP, no ameloblastoma^{3,5,10}, ainda não há relatos na literatura sobre a expressão das TKs-4 e -5 em tumores odontogênicos.

Desta forma, este estudo tem como objetivo aprofundar os conhecimentos sobre a participação dos invadopódios no comportamento biológico do ameloblastoma e elucidar mecanismos que possam estar relacionados com seu comportamento localmente invasivo. Neste sentido, a proposta deste trabalho é verificar a expressão das proteínas TKs-4 e -5 neste tumor, visando uma melhor compreensão dos fenômenos iniciais relacionados a invasividade desta neoplasia.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras

Neste estudo foram usados tissuemicroarrays contendo cortes de 5µm de espessura de vinte (20) casos de ameloblastoma (Biomax Inc., Rockville, MD, USA). Foram incluídos como controle oito (8) casos de tumor odontogênico cístico calcificante (TOCC), obtidos nos arquivos do Departamento de Patologia Oral da Faculdade de Odontologia do Centro Universitário do Pará (CESUPA, Belém-PA, Brasil). Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará (CAAE: 22219113.8.0000.0018, parecer nº 526.604/2014).

Imunohistoquímica

Os cortes histológicos obtidos foram montados em lâminas de vidro tratadas com 3-aminopropiltriétoxissilano (Sigma Chemical Corp, St. Louis, MO, EUA). Os cortes foram desparafinizados em xilol e hidratados em sequência decrescente de etanol. As lâminas foram então imersas em solução de H₂O₂ a 3% e metanol, na proporção 1:1, durante 20 minutos para inibição da atividade da peroxidase endógena. Após esta etapa a recuperação antigênica foi efetuada em tampão citrato (pH 6,0) em câmara Pascal (Dako, Carpinteria, CA, EUA) durante 30 segundos. Ligações inespecíficas dos anticorpos foram bloqueadas com albumina de soro bovino (BSA, Sigma®) a 1% em solução salina tamponada com fosfato (PBS) durante 1 hora. As lâminas foram incubadas com anticorpos primários anti-TKs-4 (Abcam, Cambridge, MA, EUA, 1:100) e

anti-TKs-5 (Abcam, Cambridge, MA, EUA, 1:100) por 1 hora. Posteriormente, os cortes foram incubados durante 30 minutos com o sistema de detecção EnVision Plus (Dako®). Diaminobenzidina (Dako®) foi utilizada como cromógeno e, em seguida, os cortes foram contracolorados com hematoxilina de Mayer (Sigma®) e montados com Permount (Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ, EUA). A substituição dos anticorpos primários por soro não imune foi utilizada como controle negativo.

Avaliação da imunomarcção

A avaliação da imunomarcção foi realizada pela medida da área (μm) e da fração (%) de marcação de TKs4 (SH3PXD2B) e TKs5 (SH3PXD2A / FISH), no ameloblastoma e no TOCC. Imagens de campo claro de pelo menos 6 áreas selecionadas aleatoriamente de cada amostra foram adquiridas em microscópio AxioScope equipado com uma câmara CCD a cores AxioCam HRC (Carl Zeiss, Alemanha), com objetiva de 40x. Áreas coradas por diaminobenzidina foram separadas e segmentadas usando o “deconvolution color plug-in” (Gabriel Landini, <http://www.dentistry.bham.ac.uk/landinig/software/software.html>) do ImageJ (software de domínio público, desenvolvido por Wayne Rasband (NIMH, NIH, Bethesda, MD, EUA, <http://rsbweb.nih.gov/ij/>).

Após a segmentação da imagem, a área e a fração de coloração total foram medidas. As diferenças de imunexpressão encontradas no ameloblastoma e no TOCC foram então analisadas.

Análise estatística

Os dados obtidos a partir dos experimentos foram analisados usando o software GraphPadPrism 5 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA). O teste não-paramétrico Mann-Whitney foi utilizado para avaliar as diferenças entre dois grupos.

RESULTADOS

As amostras de ameloblastoma e TOCC expressaram TKs-4 e TKs-5

Todas as amostras de ameloblastoma revelaram a expressão de TKs-4 e TKs-5 (Figuras 1 e 2 A, B e C). A expressão da proteína TKs-4 foi citoplasmática e se deu de forma granular (Figura 1 A, B e C). Em relação à TKs-5 observou-se expressão tanto citoplasmática como nuclear, predominante no citoplasma, de forma granular (Figura 2 A, B e C). Ambas as proteínas apresentaram imunomarcação tanto nas células centrais das ilhas formadas pelo parênquima, quanto nas células colunares da periferia, assim como no estroma tumoral. O TOCC apresentou fraca marcação das proteínas estudadas (Figuras 1 e 2 D). A expressão de TKs-4 observada no citoplasma das células do parênquima e estroma tumoral foi discreta, revelando-se mais intensa no estroma (Figura 1 D). A expressão de TKs-5 observada no citoplasma das células do parênquima e estroma tumoral também foi discreta, revelando-se mais intensa no parênquima (Figura 2 D).

As amostras de ameloblastoma apresentaram maior expressão de TKs-4 e TKs-5 quando comparadas às do TOCC

Os resultados evidenciaram uma elevada expressão de TKs-4 e TKs-5 nas células neoplásicas do ameloblastoma em relação às do TOCC ($p < 0,05$; Figuras 1 e 2 E), assim como uma maior expressão no parênquima em relação ao estroma do ameloblastoma ($p < 0,001$; Figuras 1 e 2 F).

DISCUSSÃO

Nossos resultados mostram que o ameloblastoma expressa a TKs-4 e -5. Além disso, observou-se elevada imunoposição no ameloblastoma ao compararmos com o TOCC, um tumor odontogênico pouco invasivo e com prognóstico favorável que apresenta epitélio ameloblastomatoso. Possivelmente esses resultados sugerem a participação dos invadopódios na invasividade local do ameloblastoma e no seu comportamento agressivo.

Ao verificarmos a imunopositividade da TKs-5 no parênquima do ameloblastoma, observamos marcação predominantemente citoplasmática celular e discreta marcação nuclear. Este achado pode sugerir um papel chave da proteína TKs-5 nos processos iniciais de formação dos invadopódios no ameloblastoma, pois é uma das proteínas responsáveis pelo recrutamento de F-actina. A interação de TKs-5 e cortactina é essencial para o início da formação dos invadopódios, essas moléculas promovem remodelamento do citoesqueleto e projeção vertical dos invadopódios sobre a MEC^{17,24}. Em consonância a esse fato, estudos afirmam que o quinto domínio SH3 da Tks-5 liga-se à algumas metaloproteases transmembrana da família ADAMs para realizar proteólise celular^{15,16--20}. A alta expressão de TKs-5 em invadopódios de tumores agressivos³² está associada ao pior prognóstico de tais lesões, o que sugere sua participação no comportamento biológico do ameloblastoma.

A TKs-4 evidenciada no ameloblastoma apresentou marcação citoplasmática nas células do parênquima tumoral. Sabe-se que quando ativada esta proteína está implicada no recrutamento da MT1-MMP e estabilização do invadopódio. Isso propicia o

tráfego local, ativação das MMPs e subsequente degradação focal da MEC.²⁵ Apesar de similaridades estruturais como a presença do domínio N-terminal Phox (Px), a TKs-4 apresenta somente 4 domínios SH3, que são os sítios de fosforilação por Src. O silenciamento da TKs-4 realizado em alguns experimentos *in vitro* nos mostrou uma formação incompleta dos invadopódios, o que reforça que essa proteína atua na fase de maturação do invadopódio, onde está ocorrendo intensa proteólise celular. Em síntese, a TKs-4 é responsável pelo recrutamento de proteases como a MT1-MMP²⁵, que tem papel crucial nos processos de invasão celular em tumores agressivos^{16,19,25}. Neste sentido, o silenciamento de TKs-5 inibe a formação dos invadopódios sem afetar a secreção de metaloproteases¹⁵. Isso nos leva a pensar que a ação dessas duas proteínas são independentes, enquanto a TKs-4 é responsável pelo recrutamento de MT1-MMP, envolvida na degradação da MEC²⁵, a TKs-5 é responsável pelo recrutamento de filamentos de actina, levando à formação das projeções celulares, auxiliando na invasividade tumoral^{16-18,24}. No entanto para a formação e atividade do invadopódio expressão destas proteínas é crucial^{16-19,27}.

Logo, em conjunto, a TKs-5 auxilia na formação dos invadopódios e a TKs-4 subsequentemente localiza e/ou estabiliza a MT1-MMP na membrana celular possibilitando a ativação das MMPs e futura degradação focal da MEC¹⁵⁻¹⁸. A alta expressão dessas proteínas no ameloblastoma sugere um papel importante dessas proteínas no seu comportamento localmente invasivo e nas suas elevadas taxas de recidiva.

As moléculas chaves do processo de formação dos invadopódios são cortactina, MT1-MMP, TKs-4 e TKs-5^{16,19,28}. Em estudos anteriores sugerimos que as MMPs,

fatores de crescimento, MT-1-MMP e cortactina^{3,5,10} podem atuar como uma rede que pode ter papel importante no comportamento biológico do ameloblastoma. Agora, a soma da alta expressão de TKs-4 e TKs-5 a esses achados, reforça a possível presença dos invadopódios como estrutura celular importante na invasividade local do ameloblastoma.

REFERÊNCIAS

- 1) Santos T de S, Piva MR, Andrade ES de S, et al. Ameloblastoma in the Northeast region of Brazil: A review of 112 cases. *J Oral MaxillofacPathol* 2014; 18: 66–71.
- 2) Fernandes AM, Duarte EC, Pimenta FJ, et al. Odontogenic tumors: a study of 340 cases in a Brazilian population. *J. Oral Pathol. Med.* 2005; 34; 583–587.
- 3) Pinheiro JJ, Freitas VM, Moretti AI, et al. Local invasiveness of ameloblastoma. Role played by matrix metalloproteinases and proliferative activity. *Histopathology* 2004; 45: 65–72.
- 4) Neville BW, Damm DD, Allen CM, et al. *Oral and maxillofacial pathology*, Vol. 2 Philadelphia: W.B. Saunders company, 2002; 611–9.
- 5) Siqueira AS, Carvalho MRD, Monteiro ACD, et al. Matrix metalloproteinases, TIMPs and growth factors regulating ameloblastomabehaviour. *Histopathology* 2010; 57: 128–37.
- 6) Barnes L, Eveson JW, Reichart PA, et al. *Pathology and genetics of head and neck tumours. (WHO classification of Tumours)*. Lyon: IARC Press, 2005.
- 7) Dandriyal R, Gupta A, Pant S, et al. Surgical management of ameloblastoma: Conservative or radical approach. *Nati Journal Maxillofac.Surg.* 2011; 2: 22-7.
- 8) Reichart PA, Philipsen HP, Sonner S. Ameloblatoma: Biological profile of 3677 cases. *Oral Oncol., Eur. J. Cancer* 1995; 31B(2):86-99.
- 9) Torres-Lagares D, Infante-Cossio P, Hernandez-Guisado JM, et al. Mandibular ameloblastoma. A review of the literature and presentation of six cases. *Med Oral PatolCir Bucal* 2005; 10: 231-8.
- 10) Pinheiro, JJV, Nascimento CF, Freitas VM, et al. Invadopodia proteins, cortactin and membrane type I matrix metalloproteinase (MT1-MMP) are expressed in ameloblastoma. *Histopathology* 2011; 59:1261–1279.

- 11) Weaver AM. Invadopodia. *Curr Biol*. 2008; 18:362–364.
- 12) Linder, S. The matrix corroded: podosomes and invadopodia in extracellular matrix degradation. *Trends Cell Biol* 2007; 17:107–117.
- 13) Tarone G, Cirillo D, Giancotti FG, et al.. Rous sarcoma virus-transformed fibroblasts adhere primarily at discrete protrusions of the ventral membrane called podosomes. *Exp Cell Res* 1985; 159:141–157.
- 14) Chen WT. Proteolytic activity of specialized surface protrusions formed at rosette contact sites of transformed cells. *J ExpZool* 1989; 251:167–185.
- 15) Seals DF, Azucena Jr EF, Pass I, et al. The adaptor protein Tks5/Fish is required for podosome formation and function, and for the protease-driven invasion of cancer cells. *Cancer Cell*.2005; 7:155–165.
- 16) Courtneidge, SA. Cell migration and invasion in human disease: the Tks adaptor proteins. *BiochemSoc Trans* 2012; 40:129-132.
- 17) Oikawa T, Oyama M, Kozuka-Hata H, et al.Tks5-dependent formation of circumferential podosomes/invadopodia mediates cell–cell fusion. *J. Cell Biol*. 2012; 197:553–568.
- 18) Courtneidge SA, Azucena Jr. EF, Pass I, et al. The Src Substrate Tks5, Podosomes (Invadopodia), and Cancer Cell Invasion.*Cold Spring HarbSymp Quant Biol*2005; 70:167-171.
- 19) Murphy DA, Courtneidge SA. The 'ins' and 'outs' of podosomes and invadopodia: characteristics, formation and function. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2012; 12: 413–426.
- 20) Symons M. Cell biology: watching the first steps of podosome formation. *Curr Biol*. 2008; 18:925-7.
- 21) Destaing O, Sanjay A, Itzstein C, et al. The tyrosine kinase activity of c-Src regulates actin dynamics and organization of podosomes in osteoclasts. *MolBiol Cell*.2008; 19:394–404.

- 22) Clark ES, Whigham AS, Yarbrough WG, et al. Cortactin is an essential regulator of matrix metalloproteinase secretion and extracellular matrix degradation in invadopodia. *Cancer Res.* 2007; 67:4227–4235.
- 23) Weaver AM. Cortactin and tumor invasiveness. *Cancer Lett.* 2008; 265:157–166.
- 24) Oser M, Yamaguchi H, Mader CC, et al. Cortactin regulates cofilin and N-WASp activities to control the stages of invadopodium assembly and maturation.. *J Cell Biol.* 2009; 186:571–587.
- 25) Buschman MD, Bromann PA, Cejudo-Martin P , et al. The novel adaptor protein Tks4 (SH3PXD2B) is required for functional podosome formation. *MolBiol Cell.* 2009; 20:1302–1311.
- 26) Blouw B, Seals DF, Pass I, et al. A role for the podosome/invadopodia scaffold protein Tks5 in tumor growth in vivo. *Eur J Cell Biol.* 2008; 87:555–567.
- 27) Bergmana A, Condeelisbc JS, Gligorijevicab B. Invadopodia in context. *Cell Adhesion & Migration* 2014; 8:273–279.
- 28) Buccione R, Caldieri G, Ayala I. Invadopodia: specialized tumor cell structures for the focal degradation of the extracellular matrix. *Cancer Metastasis Rev.* 2009; 28:137–149.
- 29) Ved P. Sharma VP, Eddy R, Entenberg D, et al. Tks5 and SHIP2 Regulate Invadopodium Maturation, but Not Initiation, in Breast Carcinoma Cells. *Curr Biol.* 2013; 23:1-19.
- 30) Stylli SS, Luwor RB, Kaye AH, et al. Expression of the adaptor protein Tks5 in human cancer: prognostic potential. *Oncol Rep.* 2014; 32:989-1002.
- 31) Stylli SS, I STT, Kaye AH, et al. Prognostic significance of Tks5 expression in gliomas. *J ClinNeurosci.* 2012; 19:436-42.

32) Burger KL, Learman BS, Boucherle AK, et al. Src- dependent Tks5 phosphorylation regulates invadopodia-associated invasion in prostate cancer cells. Prostate. 2014; 74:134-48.

33) Yamaguchi H, Oikawa T. Membrane lipids in invadopodia and podosomes: key structures for cancer invasion and metastasis. Oncotarget. 2010;1:320-8.

34) Leong HS, Robertson AE, Stoletov K et al. Invadopodia are required for cancer cell extravasation and are a therapeutic target for metastasis. Cell Rep. 2014; 8:1558-70.

LEGENDA DAS FIGURAS

Figura 1. imunomarcção de TKs-4 no ameloblastoma e no TOCC. Sua imunomarcção ocorreu predominantemente no citoplasma e de forma granular. (A, B e C) A expressão desta proteína ocorreu tanto nas células centrais das ilhas formadas por epitélio neoplásico (*), quanto nas células colunares altas da periferia dos cordões epiteliais, assim como no estroma tumoral (cabeça de seta). Uma tênue expressão de TKs-4 foi observada no TOCC (D). Observa-se a maior expressão de TKs-4 nas células neoplásicas em relação ao estroma tumoral (E). Maior expressão de TKs-4 no Ameloblastoma em relação ao TOCC (F). Escala: 20µm

Figura 2. Imunomarcção de TKs-5 no ameloblastoma e no TOCC. Sua imunomarcção ocorreu tanto citoplasmática como nuclear, predominante no citoplasma, de forma granular. (A, B e C) A expressão desta proteína ocorreu tanto nas células centrais das ilhas formadas por epitélio neoplásico (*), quanto nas células colunares altas da periferia dos cordões epiteliais, assim como no estroma tumoral (cabeça de seta). Uma tênue expressão de TKs-5 foi observada no TOCC (D). Observa-se a maior expressão de TKs-5 nas células neoplásicas em relação ao estroma tumoral (E). Maior expressão de TKs-5 no Ameloblastoma em relação ao TOCC (F). Escala: 20µm.

TKS4

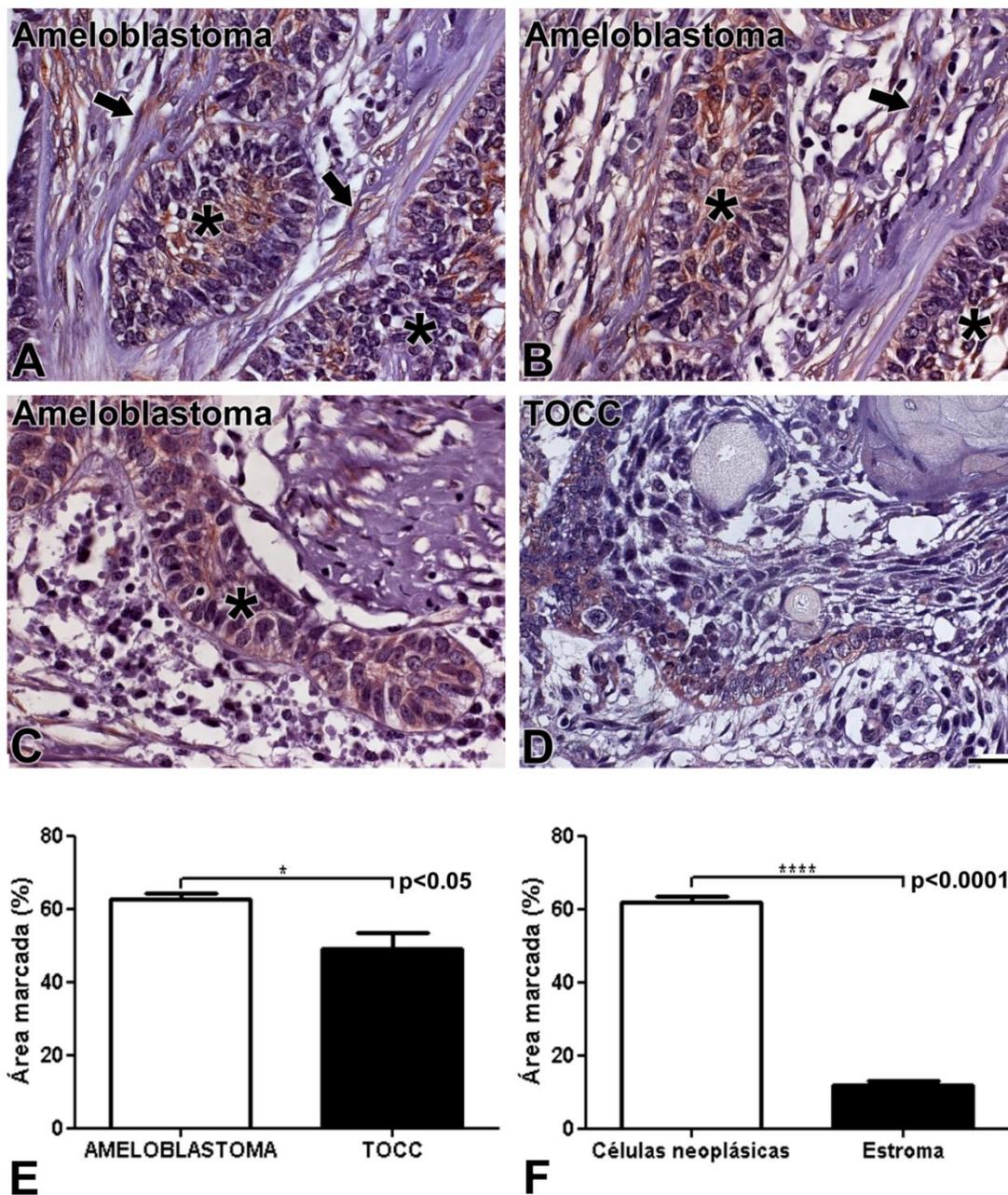


Figura 1

TKS5

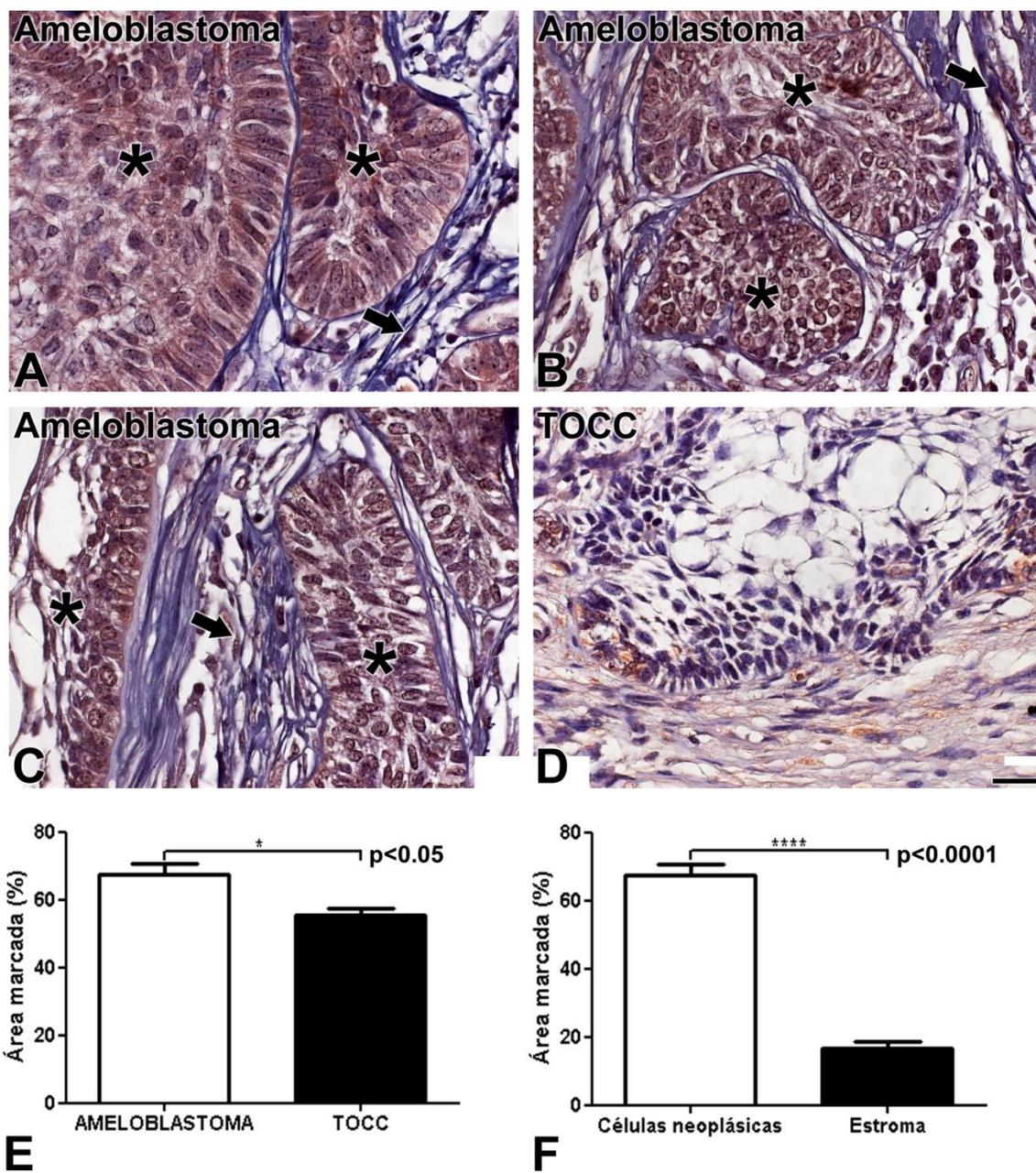


Figura 2