

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 28/02/2019.



unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



Formação de Invadopódios na Migração de Células Neoplásicas Malignas Expostas à Fibronectina

Maira Smaniotto Cuciolo

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Área de concentração Biologia Celular Estrutural e Funcional.

Profa. Dra. Flávia Karina Delella

**BOTUCATU – SP
2018**



unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

"Julio de Mesquita Filho"

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

Formação de Invadopódios na Migração de Células

Tumorais Expostas à Fibronectina

MAIRA SMANIOTTO CUCIELO

FLÁVIA KARINA DELELLA

DEILSON ELGUI DE OLIVEIRA

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Área de concentração Biologia Celular Estrutural e Funcional.

Profa. Dra. Flávia Karina Delella

**BOTUCATU – SP
2018**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM. DIVISÃO TÉCNICA
DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Cucielo, Maira Smaniotto.

Formação de invadopódios na migração de células tumorais expostas à fibronectina / Maira Smaniotto Cucielo. - Botucatu, 2018

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Flávia Karina Delella

Coorientador: Deilson Elgui de Oliveira

Capes: 20600003

1. Fibronectinas. 2. Membrana Basal. 3. Cortactina. 4. Células - Migração. 5. Linhagem celular. 6. Próstata - Câncer.

Palavras-chave: Cortactina; Fibronectina; Invadopódio; LNCaP; Membrana Basal.

"Uma vida sem desafios não vale a pena ser vivida."

Sócrates

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Moacir e Joseane, pelo amor e educação durante toda minha vida, e por serem meus melhores amigos. Por todo incentivo e encorajamento, por seguirem meus sonhos comigo e por serem seres humanos maravilhosos. Ao meu irmão, Rafael, por todo amor, apoio e incentivo, por ser um exemplo.

À minha orientadora, Prof^a Dr^a Flávia Karina Delella, por ter me recebido de braços abertos. Por ser uma orientadora que me mostrou o mundo e ao mesmo tempo se fez presente fazendo eu me sentir amparada. Pelos ensinamentos, firmeza, ética, carinho e determinação em fazer nosso trabalho com excelência. Pelas conversas e pela paciência em me acalmar durante as crises de ansiedade. Por ter dividido comigo a paixão pela extensão universitária e pelo curso de férias. Por confiar em mim e no meu trabalho, e por muitas vezes me fazer sentir confiante. Por ter sido uma amiga que confortou, puxou orelha e riu comigo. Muito obrigada por esses anos de convivência, aprendi muito e espero aprender mais.

Ao meu co-orientador, Prof^o Dr^o Deilson Elgui de Oliveira, pelos ensinamentos científicos e por me inspirar nessa longa jornada no estudo do câncer, por sempre ser atencioso e paciente. Meu muito obrigada!

À minha colega de laboratório e amiga, Helga Caputo Nunes, por dividir seus conhecimentos científicos. Agradeço todo os conselhos, conversas, risadas e choros, por dividir seu lanchinho comigo quando precisei. Por ser um exemplo pra mim. Obrigada!

As duas iniciações científicas que me acompanharam de perto, Isabelle Mira da Silva e Mariana Medeiros, por serem prestativas (mesmo não aguentando mais fazer solução basal), por terem jeitos únicos e cada uma a sua maneira, me ensinaram pequenas coisas dia-a-dia. Muito obrigada meninas!

Ao Laboratório de Matriz Extracelular (LabMEC) e as pessoas maravilhosas que fazem parte desse grupo excepcional. Agradeço pela união, disposição, carinho e amizade em todos os momentos. Aos meus queridos amigos de pós-graduação Sérgio Alexandre Alcantara dos Santos, Ana Carolina Lima Camargo, Flávia Bessi Constantino, Ketlin Thassiani Colombelli,

Nilton José dos Santos, Caroline Nascimento Barquilha, obrigada por dividirem conhecimentos, conselhos, piadas, conversas durante o horário de café e todo o bom humor desse grupo. Aos queridos iniciações científicas: Matheus Naia Fioretto, Isabela Gasetta Ferras Paiva, Luiz Marcos Frediani Portela, Isabela Correa Barbosa, Juliana Trindade Caleffi, Amanda Grosselli Toledo, Elian Ribeiro David, Cecília Luvizutti Ferreira da Silva, Teng Fwu Shing e Arthur Pellegrine Grandisoli, por serem prestativos e amáveis, pelo interesse em aprender e ajudar. Muito obrigada!

Ao Prof^o Dr^o Sérgio Felisbino e ao Prof^o Dr^o Luiz Antonio Justulin Jr, que juntamente com a Prof^a Flávia, conduzem o grupo com empenho, estimulam a produção científica e as conversas sobre a vida acadêmica e o mundo. Obrigada por todos cafés e conversas.

Ao Bruno Martinucci, antigo colega de laboratório e amigo, levarei comigo todos os momentos de ensinamentos e conversas. Obrigada por ter sido uma pessoa agregadora, paciente e querida.

Ao Departamento de Morfologia do Instituto de Biocência, onde passei os últimos oito anos. Em especial aos servidores (Luciana, Vivian, Keyla, Ricardo, José Eduardo e Elton) e funcionários (Dominique e Maria Helena) que sempre foram solícitos e queridos.

Ao Grupo de Estudos em Carcinogênese Viral e Biologia dos Cânceres (ViriCan), pela solicitude de todos os integrantes, em especial ao colega Brunno Caetano, que dispendeu horas me acompanhando com paciência e bom humor.

Ao Prof^o Dr^o Wellerson Rodrigo Scarano, por ajudar nas análises do meu trabalho e sempre manter o clima descontraído. Muito Obrigada!

Ao Laboratório de Desreguladores Endócrinos e Carcinogênese (LabDECA), especialmente aos alunos Cristiane Pinho, Ariana Musa de Aquino e Leonardo Oliveira Mendes, pela amizade, disposição em ajudar e por todas as conversas.

Ao Laboratório de Ensaio Biológicos com Produtos Naturais, por ceder espaço para minhas análises, em especial aos alunos Larissa Lucena Périco e Vinícius Peixoto Rodrigues, pela solicitude e por tornarem as inúmeras fotodocumentações de Western Blotting mais

agradáveis e menos massantes. Muito obrigada!

Aos amigos do Laboratório do Músculo Esquelético Estriado (LabME), em especial aos amigos Bruno de Oliveira da Silva Duran, Bruno Evaristo de Almeida Fantinatti, Paula Pacielli Freire e Sarah Santiloni Cury pela disposição em ajudar, pelas conversas e risadas. Muito obrigada!

As queridas Marciana Sanabria e Marina Trevisan Guerra, minhas co-orientadoras durante minha primeira iniciação científica, por me apresentarem a vida acadêmica e me inspirarem todos os dias. Vocês foram essenciais na minha formação, obrigada por tudo!

Aos amigos de longa data, Rosana Guilhen, Elisa Frederice, Mariana Mascari e Camila Fuzinato que mesmo longe sempre se fizeram presentes me apoiando. As queridas amigas de graduação, Milene Pereira, Camila Amaro e Flávia Bessi Constantino por estarem ao meu lado em todos os momentos. Aos amigos de pouca data e muito coração, Ingrid Dantas, Karoline Rubin, Letícia de Souza Marques e Vinícius Nóbrega. Muito Obrigada!

Ao Nathan, pela paciência e determinismo em me dizer 'Vai dar tudo certo!'. Por estar ao meu lado, obrigada!

A minha família, em especial aos meus avós João, Tita e Geny, que sempre me estimularam a estudar e torceram pela minha felicidade. Aos meus tios e primos, por ficarem felizes pelas minhas conquistas e entenderem minha ausência em muitos momentos. Obrigada meus queridos!

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro durante todo período do mestrado.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	VI
LISTA DE FIGURAS	VII
LISTA DE TABELAS	VII
RESUMO	IX
ABSTRACT	X
I. INTRODUÇÃO	01
1. MIGRAÇÃO CELULAR.....	01
2. INVADOPÓDIOS.....	04
3. A MATRIZ EXTRACELULAR E O CÂNCER.....	08
4. MODELOS DE ESTUDO <i>IN VITRO</i>	12
II. HIPÓTESE	15
III. OBJETIVOS	15
IV. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
V. MATERIAL E MÉTODOS	16
1. LINHAGENS CELULARES NEOPLÁSICAS E CONDIÇÕES DE CULTURA.....	16
2. TESTE PARA DETECÇÃO DE MICOPLASMA NAS LINHAGENS CELULARES.....	16
3. EXPOSIÇÃO DAS CÉLULAS À FIBRONECTINA.....	17
4. VIABILIDADE CELULAR.....	18
5. ENSAIO DE PROLIFERAÇÃO CELULAR POR MTT.....	18
6. ANÁLISE DA MORFOLOGIA E DA MORFOMETRIA CELULAR.....	19
7. ENSAIO DE MIGRAÇÃO EM SISTEMA DE INSERTOS <i>TRANSWELL</i>	19
8. IMUNOFLOURESCÊNCIA.....	20
9. WESTERN BLOTTING.....	21
10. ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	21
VI. RESULTADOS	23
1.A viabilidade celular não sofreu alteração após exposição aos componentes da MEC.....	23
2. Recobrimento da placa pelos componentes da MEC alterou a taxa de proliferação celular.....	23
3. Componentes da MEC alteram o comportamento celular.....	23
4. Comportamento móvel das células é alterado pelos componentes da MEC.....	25
5. Distribuição das proteínas chaves é alterada pelos componentes da MEC.....	25
6. Expressão diferencial das proteínas relacionadas a formação dos invadopódios.....	26
VII. DISCUSSÃO	68
VIII. CONCLUSÕES GERAIS	71
IX. REFERÊNCIAS	7

LISTA DE ABREVIATURAS

CaP: câncer de próstata
EGF: fator de crescimento epidermal
FAK: quinase de adesão focal
FN: fibronectina
MB: membrana basal
MEC: matriz extracelular
MMP: metaloproteinase de matriz
PSA: antígeno específico prostático
RNAm: RNA mensageiro
ROS: espécies reativas de oxigênio
TGF- β : fator de transformação do crescimento β
VEGF: fator de crescimento endotelial vascular
ROCK: proteína cinase associada a família Rho
Arp 2/3: complexo de proteínas associados à actina
WASP: proteína da síndrome de Wiskott-Aldrich
N-WASP: proteína da síndrome de Wiskott-Aldrich neural
MT-MMP: metaloproteinase de membrana
CDC42: Proteína controladora de ciclo celular
RHO: Pequena GTPase
SRC: proteína tirosina quinase
ERK: cinase reguladora de sinais extracelulares
RAC: subfamília da GTPase da família RHO
AR: receptor de andrógeno
ER: receptor de estrógeno
EGF: fator de crescimento epidermal

LISTA DE FIGURAS

Introdução

Figura 1. Formação do processo de adesão focal.....	02
Figura 2. Formação das fibras de estresse.....	03
Figura 3. Estágios da formação dos invadopódios.....	05
Figura 4. Proteínas precursoras da formação e maturação dos invadopódios.....	07
Figura 5. Estrutura da fibronectina (FN) e seus domínios de ligação.....	10

Resultados

Figura 6. Teste molecular para detecção de Mycoplasma sp.....	17
Figura 7. Efeito da exposição aos componentes da MEC sobre a viabilidade celular.....	28
Figura 8. Efeito da exposição aos componentes da MEC na proliferação celular.....	30
Figura 9. Imunofluorescência das células LNCaP marcadas para actina-F.....	32
Figura 10. Contagem de projeções citoplasmáticas e área celular da LNCaP.....	34
Figura 11. Imunofluorescência das células PC-3 marcadas para actina-F.....	36
Figura 12. Contagem de projeções citoplasmáticas e área celular da PC-3.....	38
Figura 13. Efeito dos diferentes tipos de exposição na motilidade das células LNCaP.....	40
Figura 14. Efeito dos diferentes tipos de exposição na motilidade das células PC-3.....	42
Figura 15. Imunofluorescência das células LNCaP para a proteína Cortactina.....	44
Figura 16. Imunofluorescência das células LNCaP para a proteína MMP14.....	44
Figura 17. Imunofluorescência das células PC-3 para a proteína Cortactina.....	46
Figura 18. Imunofluorescência das células PC-3 para a proteína MMP14.....	46
Figura 19. Expressão da proteína Actina-F nas células LNCaP.....	48
Figura 20. Expressão da proteína Cortactina nas células LNCaP.....	48
Figura 21. Expressão da proteína Dinamina-2 nas células LNCaP.....	48
Figura 22. Expressão da proteína Erk 1/2 nas células LNCaP.....	50
Figura 23. Expressão da proteína p-FAK nas células LNCaP.....	50
Figura 24. Expressão da proteína Actina-F nas células PC-3.....	52
Figura 25. Expressão da proteína Cortactina nas células PC-3.....	52
Figura 26. Expressão da proteína Dinamina-2 nas células PC-3.....	52
Figura 27. Expressão da proteína Erk 1/2 nas células PC-3.....	54
Figura 28. Expressão da proteína p-FAK nas células PC-3.....	54

LISTA DE TABELAS

Tabela I. Relação dos anticorpos usados para imunofluorescência.....	21
Tabela II. Relação dos anticorpos usados para western blotting.....	22
Tabela III. Resumo dos resultados analisados comparado ao grupo Controle.....	55

RESUMO

Durante processos patológicos como o câncer, a atividade migratória de células neoplásicas aumenta, sendo um passo crítico para a disseminação dessas células a órgãos distantes. O processo migratório dessas células depende da formação de protrusões citoplasmáticas chamadas invadopódios, através da nucleação e polimerização de actina e degradação da matriz extracelular (MEC). A MEC é uma rede complexa de proteínas que fornece sustentação e moléculas sinalizadoras responsáveis pela homeostase dos tecidos. Dentre essas proteínas, a fibronectina (FN) é uma glicoproteína multiadesiva fundamental no comportamento celular normal e apresenta-se aumentada no tecido tumoral. Esse trabalho teve como objetivo avaliar a influência da FN, isolada ou em associação com componentes da membrana basal, no processo migratório de células tumorais prostáticas, com ênfase no mecanismo de formação dos invadopódios. Para isso, as linhagens celulares LNCaP e PC-3 foram divididas nos seguintes grupos experimentais: Controle, FN solúvel (10µg/mL), FN *coating* (10µg/mL), FN+Geltrex e Geltrex com exposição aos componentes por 4 dias. Nas células LNCaP, foi possível observar alterações morfológicas dos grupos expostos a FN (solúvel, *coating* e em associação com Geltrex) com diminuição na área celular em comparação ao grupo controle. A proliferação celular aumentou nos grupos com recobrimento da superfície (FN *coating*, FN+Geltrex e Geltrex). Também foi possível observar a diminuição na taxa de motilidade dessas células em todos os grupos expostos. A expressão das proteínas chaves para formação dos invadopódios (Cortactina, Dinamina-2 e Actina-F) também mostraram-se diminuídas na presença dos componentes da MEC e ainda, as proteínas pFAK e ERK, mostraram-se aumentadas. Já na linhagem celular PC-3, podemos observar redução na taxa de proliferação celular nos grupos com recobrimento da superfície (FN *coating*, FN+Geltrex e Geltrex) e aumento na taxa de motilidade nos grupos com recobrimento de Geltrex (FN+Geltrex e Geltrex). A Cortactina mostrou menor expressão no grupos FN+Geltrex quando comparada ao controle, e os demais grupos não apresentaram diferenças. Para a proteína Dinamina-2, observamos aumento na expressão no grupo FN solúvel quando comparada ao controle, e diminuição nos grupos FN *coating* e FN+Geltrex. Nas células PC-3, podemos observar a inconsistência nos dados obtidos, já que essa linhagem possui características avançadas na biologia dos tumores, como independência androgênica e a fatores de crescimento. Na linhagem celular LNCaP, foi possível observar maior suscetibilidade das respostas celulares ao microambiente oferecido, sendo assim, a FN e os componentes da MB, inibiram a formação dos invadopódios e a capacidade móvel dessas linhagem. Fica claro

que a FN tem papel supressor na motilidade celular para essas células tumorais, porém o processo de formação dos invadopódios é complexo e dependente de várias vias de sinalização. Os nossos resultados são importantes, em sua maioria inéditos, pois revelam a importância e a influência da FN na inibição do comportamento migratório e formação das projeções citoplasmáticas de células tumorais e encorajam estudos adicionais sobre essa relevante temática de migração celular no câncer.

ABSTRACT

During pathological processes like cancer, the migratory activity of neoplastic cells increases, being a critical step for the dissemination of these cells to distant organs. The migratory process depends on the formation of cytoplasmic protrusions called invadopodia, through actin polymerization and extracellular matrix degradation (ECM). ECM is a complex protein network that provides support and molecules responsible for tissue homeostasis. Among these proteins, fibronectin (FN) is an essential adhesive glycoprotein in normal conditions however, is unregulated in tumor tissue. The objective of this study was to evaluate the influence of FN, alone or in association with basement membrane (BM) components, within migratory process of prostatic tumor cells, with emphasis on the mechanism of invadopodia. For this, the LNCaP and PC-3 cell lines were divided into the following experimental groups: Control, FN soluble (10 μ g / mL), FN coating (10 μ g / mL), FN + Geltrex and Geltrex. Exposure time was established into 4 days. We could observe morphological alterations of the groups exposed to FN in LNCaP cells, with a decrease in the cellular area in comparison to the control group. Cell proliferation was increased in the groups with surface coating (FN coating, FN + Geltrex and Geltrex). It was also possible to observe a decrease in the motility rate of these cells in all the exposed groups. Key proteins expression important to invadopodia formation (Cortactin, Dynamin-2 and Actin-F) was also shown to be decreased in the presence of the ECM components, and the pFAK and ERK proteins were also increased. PC-3 cell line, was observed a reduction in cell proliferation rate in the groups with surface coating (FN coating, FN + Geltrex and Geltrex). Besides, an increase in the motility rate in the Geltrex coated groups (FN + Geltrex and Geltrex). Cortactin showed lower expression in the FN + Geltrex groups when compared to control, and the other groups did not present significant differences. FN soluble group showed an increase in the expression of Dynamin-2 when compared to the control, and a decrease in FN coating and FN + Geltrex groups. We note an inconsistency in data to PC-3 cells, since this lineage has advanced characteristics in the tumor biology, as androgen and growth factors independence. It was possible to observe a higher susceptibility of the cellular responses to LNCaP microenvironment, thus, the FN and BM components inhibited invadopodia formation and mobile capacity of this lineage. It is clear that FN plays a suppressive role in cell motility for these type of tumor, but the process of invadopodia formation is complex and depends on several signaling pathways. Our results showed important data, as they reveal the importance and influence of FN in inhibiting migratory behavior and formation of cytoplasmic projections of tumor cells and encourage further studies on this relevant issue of cell migration concerning cancer.

I. INTRODUÇÃO

1. Migração Celular

A migração celular é um processo fisiológico essencial ao desenvolvimento embrionário, reparo de feridas e sistema imunológico para combate de patógenos. Diferentes tipos celulares devem migrar através da membrana basal (MB) e tecidos como parte de suas funções normais ou em resposta ao microambiente (FRIEDL; WOLF, 2010). A migração das células depende do tipo celular e do ambiente extracelular, podendo estas migrar em agrupamentos ou individualmente (*single cell*) como ocorre na transição epitelial-mesenquimal e no movimento amebóide (FRIEDL; WOLF, 2010).

Uma característica chave da migração celular é a adesão da célula à matriz extracelular (MEC) e a formação de estruturas coletivamente chamadas de invadossomos (MURPHY; COURTNEIDGE, 2011). Em células normais, essas especializações incluem as estruturas lamelipódios, filopódios e podossomos e em células neoplásicas, os invadopódios. Tais estruturas são pequenos complexos, compostos de múltiplas moléculas, formados na membrana plasmática, conectando filamentos de actina à MEC via receptores transmembrana (ADAMS, 2001; WOLF et al., 2003).

A interação entre as proteínas e os eventos sinalizadores que constituem a base da mudança morfológica e que regulam a migração celular é integrada no conceito da adesão celular (BURRIDGE; CHRZANOWSKA-WODNICKA, 1996) e polimerização e contração da actina (Figura 1) (ADAMS, 2001; LAUFFENBURGER; HORWITZ, 1996). As protrusões celulares entram em contato com elementos da MEC adjacente via moléculas de adesão, com grande influência dos receptores transmembrana da família das integrinas (HYNES, 2002), que ativam quinases de adesão focal (FAKs), responsáveis pelo início da cascata de motilidade celular (MENG et al., 2009). As integrinas acoplam a actina do citoesqueleto via proteínas adaptadoras e em seguida agrupam-se para formar um pequeno complexo focal inicial, que pode crescer e se estabilizar dentro de minutos para formar um contato focal (BURRIDGE; CHRZANOWSKA-WODNICKA, 1996; HYNES, 2002; OTEY; BURRIDGE, 1990; ZAMIR et al., 2000).

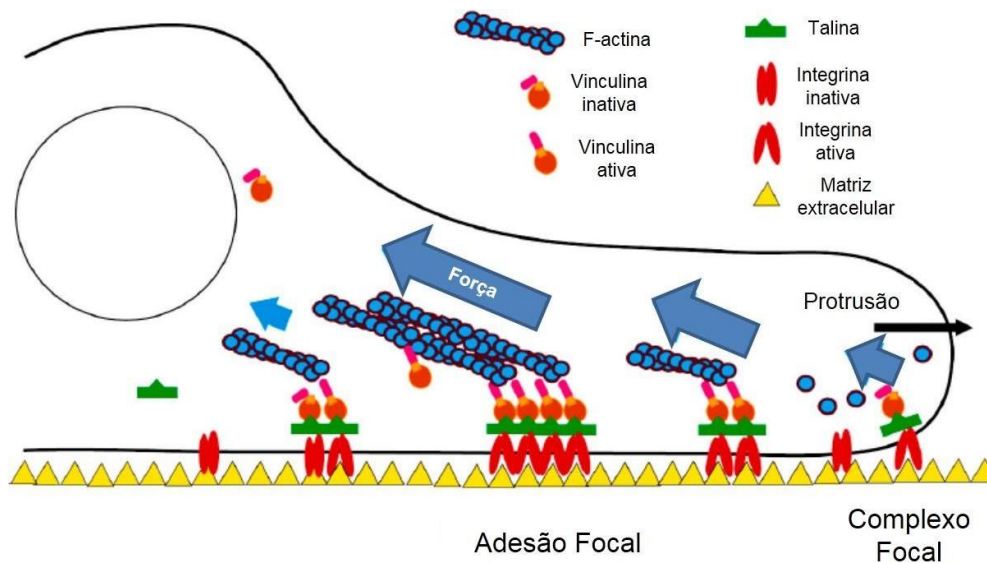


Figura 1: Esquema de formação do processo de adesão focal e proteínas envolvidas. Modificado de Humphries et al., 2007.

Nas células tumorais, estudos mostraram que FAK regula os invadopódios de uma maneira indireta, promovendo a localização espaço temporal de Src, membro da família de não receptores tirosina quinase frequentemente super expresso no câncer, além de ser um substrato para a proteína Tks5, responsável pela liberação de proteases (BURGER et al., 2014; CHAN; CORTESIO; HUTTENLOCHER, 2009). A eleição ou desarranjo dos componentes de sinalização como paxilina, FAK, p130Cas, RhoA-ROCK e calpaina, mostraram afetar a expansão dos invadopódios, polimerização de actina e degradação da MEC (BADOWSKI et al., 2007; BERDEAUX et al., 2004; BRÁBEK et al., 2004; PAN; CHEN; CHEN, 2011; TATIN et al., 2006). Durante o desenvolvimento do contato focal destinado à migração celular, filamentos de actina reúnem-se e se alongam localmente, através da ação de proteínas reticuladas como a α -actina e miosina II (CRAMER, 1999). Redes de actina ramificadas abaixo do folheto interno da membrana plasmática formam a actina cortical, enquanto as fibras de estresse são formadas por cabos alongados e abundantes de filamentos de actina (Figura 2) (BYERS; FUJIWARA, 1982).

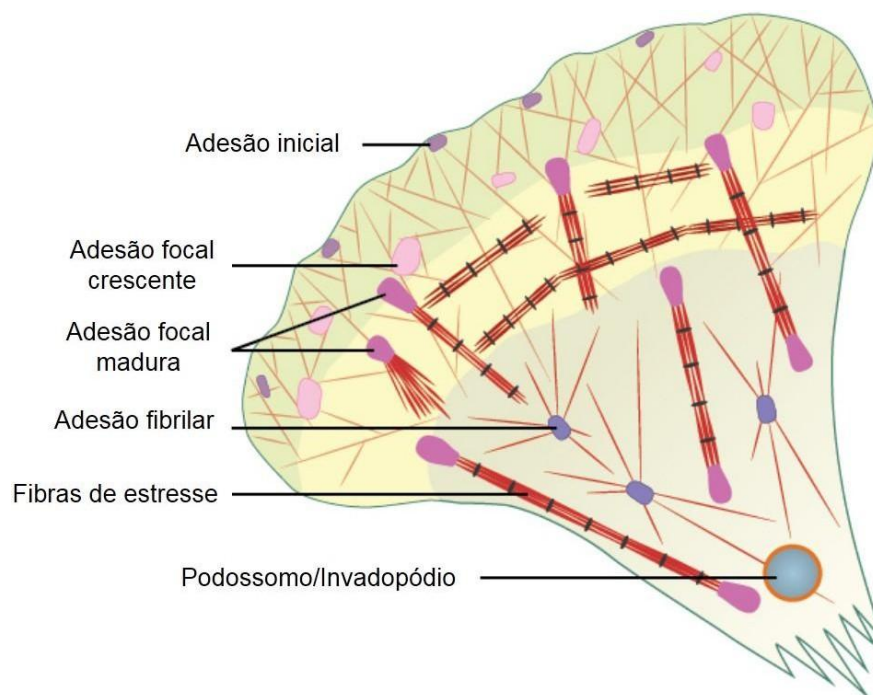


Figura 2: Detalhes da interação e do arranjo das moléculas de actina para a formação do processo de adesão focal. Usado e modificado com a permissão de MBInfo: www.mechanobio.info; Mechanobiology Institute, National University of Singapore.

Além disso, a polimerização de actina é mediada pelo complexo Arp 2/3 e membros da família WASP, que ao se ligarem a filamentos já existentes, induzem a formação de novos filamentos, que são estabilizados por proteínas como a Cortactina e a α -actinina (KELLEY et al., 2010). A desmontagem dos filamentos antigos irá gerar novos monômeros de actina necessários para formar novas protrusões nas extremidades frontais que dirigem o processo migratório, tarefa essa executada por membros da família Cofilina (WELCH; MULLINS, 2002).

A migração e invasão celular através das barreiras teciduais é importante para inúmeras condições fisiológicas e patológicas, como a transmigração de células do sistema imune e disseminação de células tumorais durante a metástase. A MEC funciona como uma barreira para a invasão celular, podendo também modular comportamento celular por interações diretas através de receptor (DOYLE et al., 2009; PROVENZANO et al., 2008; WOLF et al., 2003, 2007; WYCKOFF et al., 2006). A invasão celular em matrizes densas como a MB requer proteólise e remodelamento da MEC, a fim de criar rotas na qual as células podem migrar eficientemente (HOTARY et al., 2006; SABEH et al., 2004).

Desarranjos na sinalização de fatores de crescimento por mudanças na disponibilidade de ligantes ou mutação em moléculas de sinalização é uma característica comum na tumorigênese e progressão do câncer (HANAHAN; WEINBERG, 2011). Embora alguns tipos

de adesão focal também tenham a função de ancorar a célula à MEC, os invadopódios são formados com a finalidade de invasão celular e, apesar de possuírem funções e morfologia distintas aos prolongamentos de células normais, compartilham muitas similaridades como descrito adiante (BUCCIONE; ORTH; MCNIVEN, 2004).

VIII. CONCLUSÕES GERAIS

Os nossos resultados, revelam a importância e a influência da FN (em diferentes condições - solúvel ou *coating* - e em associação com componentes da membrana basal) no comportamento migratório, morfologia e fisiologia das projeções citoplasmáticas de células tumorais. Pudemos observar que a FN exerce papel supressor na migração celular, com ênfase na redução da atividade dos mecanismos associados a formação dos invadopódios no modelo de células LNCaP, corroborando com nossa hipótese *a priori*. Mas, visto a complexidade molecular na formação dos invadopódios, estudos adicionais devem ser feitos para complementar os efeitos da FN na formação dessas projeções citoplasmáticas envolvidas com a motilidade das células tumorais.

IX. REFERÊNCIAS GERAIS

- ABERCROMBIE, M.; DUNN, G. A.; HEATH, J. P. The shape and movement of fibroblasts in culture. **Society of General Physiologists series**, v. 32, p. 57–70, jan. 1977.
- ADAMS, J. C. Cell-matrix contact structures. **Cellular and molecular life sciences : CMLS**, v. 58, n. 3, p. 371–92, mar. 2001.
- ALEXANDER, N. R. et al. Extracellular Matrix Rigidity Promotes Invadopodia Activity. **Current Biology**, v. 18, n. 17, p. 1295–1299, 9 set. 2008.
- ANTON, D. et al. Three-dimensional cell culture: A breakthrough in vivo. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 3, p. 5517–5527, 2015.
- ARTYM, V. V. et al. Dynamic membrane remodeling at invadopodia differentiates invadopodia from podosomes. **European Journal of Cell Biology**, v. 90, n. 2–3, p. 172–180, fev. 2011.
- AUMAILLEY, M. The laminin family. **Cell adhesion & migration**, v. 7, n. 1, p. 48–55, 2013.
- AYALA, I. et al. Multiple regulatory inputs converge on cortactin to control invadopodia biogenesis and extracellular matrix degradation. **Journal of Cell Science**, v. 121, n. 3, p. 369–378, 15 jan. 2008.
- BADOWSKI, C. et al. Paxillin Phosphorylation Controls Invadopodia/Podosomes Spatiotemporal Organization. **Molecular Biology of the Cell**, v. 19, n. 2, p. 633–645, 28 nov. 2007.
- BEATY, B. T.; CONDEELIS, J. Digging a little deeper: the stages of invadopodium formation and maturation. **European journal of cell biology**, v. 93, n. 10–12, p. 438–44, out. 2014.
- BEGUM, A. et al. The extracellular matrix and focal adhesion kinase signaling regulate cancer stem cell function in pancreatic ductal adenocarcinoma. **PLoS ONE**, v. 12, n. 7, p. 1–21, 2017.
- BERDEAUX, R. L. et al. Active Rho is localized to podosomes induced by oncogenic Src and is required for their assembly and function. **The Journal of cell biology**, v. 166, n. 3, p. 317–23, 2 ago. 2004.
- BISSELL, M. J.; HINES, W. C. Why don't we get more cancer? A proposed role of the microenvironment in restraining cancer progression. **Nature Medicine**, v. 17, n. 3, p. 320–329, 7 mar. 2011.
- BONNANS, C.; CHOU, J.; WERB, Z. Remodelling the extracellular matrix in development and disease. **Nature reviews. Molecular cell biology**, v. 15, n. 12, p. 786–801, dez. 2014.
- BRÁBEK, J. et al. CAS promotes invasiveness of Src-transformed cells. **Oncogene**, v. 23, n. 44, p. 7406–7415, 23 set. 2004.
- BRADBURY, P.; FABRY, B.; O'NEILL, G. M. Occupy tissue. **Cell Adhesion & Migration**, v. 6, n. 5, p. 424–520, 20 set. 2012.
- BRANCH, K. M.; HOSHINO, D.; WEAVER, A. M. Adhesion rings surround invadopodia and promote maturation. **Biology Open**, v. 1, n. 8, 2012.
- BRAVO-CORDERO, J. J. et al. A novel spatiotemporal RhoC activation pathway locally regulates cofilin activity at invadopodia. **Current biology : CB**, v. 21, n. 8, p. 635–44, 26 abr. 2011.
- BRAVO-CORDERO, J. J. et al. Functions of cofilin in cell locomotion and invasion. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 14, n. 7, p. 405–417, 19 jun. 2013.
- BUBENDORF, L. et al. Metastatic patterns of prostate cancer: an autopsy study of 1,589 patients. **Human pathology**, v. 31, n. 5, p. 578–83, maio 2000.
- BUCCIONE, R.; ORTH, J. D.; MCNIVEN, M. A. Foot and mouth: podosomes, invadopodia and circular dorsal ruffles. **Nature reviews. Molecular cell biology**, v. 5, n. 8, p. 647–57, ago. 2004.
- BURGER, K. L. et al. Src-dependent Tks5 phosphorylation regulates invadopodia-associated invasion in prostate cancer cells. **Prostate**, v. 74, n. 2, p. 134–148, 2014.
- BURRIDGE, K.; CHRZANOWSKA-WODNICKA, M. Focal adhesions, contractility, and signaling. **Annual review of cell and developmental biology**, v. 12, p. 463–518, jan. 1996.
- BYERS, H. R.; FUJIWARA, K. **Stress Fibers in Cells in Situ: Immunofluorescence Visualization with Antiactin, Antimyosin, and Anti-alpha-actinin**. Disponível em: <<http://jcb.rupress.org/content/93/3/804.full.pdf>>. Acesso em: 28 fev. 2016.
- CAPUANO, A. C. T.; JAEGER, R. G. The effect of laminin and its peptide SIKVAV on a human salivary gland myoepithelioma cell line. **Oral oncology**, v. 40, n. 1, p. 36–42, jan. 2004.
- CHAN, K. T.; CORTESIO, C. L.; HUTTENLOCHER, A. FAK alters invadopodia and focal adhesion composition and dynamics to regulate breast cancer invasion. **The Journal of Cell Biology**, v. 185, n. 2, p. 357–370, 20 abr. 2009.
- CLAINCHE, C. LE; CARLIER, M.-F. F. Regulation of actin assembly associated with

- protrusion and adhesion in cell migration. **Physiological Reviews**, v. 88, p. 489–513, 2008.
- CLARK, E. S. et al. Cortactin Is an Essential Regulator of Matrix Metalloproteinase Secretion and Extracellular Matrix Degradation in Invadopodia. **Cancer Research**, v. 67, n. 9, p. 4227–4235, 24 abr. 2007.
- COOPMAN, P. J. et al. Phagocytosis of cross-linked gelatin matrix by human breast carcinoma cells correlates with their invasive capacity. **Clinical Cancer Research**, v. 4, n. 2, 1998.
- CRAMER, L. P. Organization and polarity of actin filament networks in cells: implications for the mechanism of myosin-based cell motility. **Biochemical Society symposium**, v. 65, p. 173–205, jan. 1999.
- CUKIERMAN, E. et al. Taking cell-matrix adhesions to the third dimension. **Science (New York, N.Y.)**, v. 294, n. 5547, p. 1708–12, 23 nov. 2001.
- DALEY, W. P.; PETERS, S. B.; LARSEN, M. Extracellular matrix dynamics in development and regenerative medicine. **Journal of cell science**, v. 121, n. Pt 3, p. 255–64, 1 fev. 2008.
- DEEP, G. et al. Silibinin inhibits fibronectin induced motility, invasiveness and survival in human prostate carcinoma PC3 cells via targeting integrin signaling. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 768, p. 35–46, 2014.
- DESAI, B.; MA, T.; CHELLAIAH, M. A. Invadopodia and matrix degradation, a new property of prostate cancer cells during migration and invasion. **The Journal of biological chemistry**, v. 283, n. 20, p. 13856–66, 16 maio 2008.
- DESTAING, O. et al. Invadosome regulation by adhesion signaling. **Current Opinion in Cell Biology**, v. 23, n. 5, p. 597–606, out. 2011.
- DOCHEVA, D. et al. Effect of collagen I and fibronectin on the adhesion, elasticity and cytoskeletal organization of prostate cancer cells. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 402, n. 2, p. 361–6, 12 nov. 2010.
- DOYLE, A. D. et al. One-dimensional topography underlies three-dimensional fibrillar cell migration. **The Journal of Cell Biology**, v. 184, n. 4, 2009.
- EDDY, R. J. et al. Tumor Cell Invadopodia: Invasive Protrusions that Orchestrate Metastasis. **Trends in Cell Biology**, v. 27, n. 8, p. 595–607, ago. 2017.
- EDMONDSON, R. et al. Three-Dimensional Cell Culture Systems and Their Applications in Drug Discovery and Cell-Based Biosensors. **ASSAY and Drug Development Technologies**, v. 12, n. 4, p. 207–218, maio 2014.
- ENTSCHLADEN, F. et al. Differential requirement of protein tyrosine kinases and protein kinase C in the regulation of T cell locomotion in three-dimensional collagen matrices. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 159, n. 7, p. 3203–10, 1 out. 1997.
- EZRATTY, E. J.; PARTRIDGE, M. A.; GUNDERSEN, G. G. Microtubule-induced focal adhesion disassembly is mediated by dynamin and focal adhesion kinase. **Nature Cell Biology**, v. 7, n. 6, p. 581–590, 15 jun. 2005.
- FRIEDL, P. et al. Migration of highly aggressive MV3 melanoma cells in 3-dimensional collagen lattices results in local matrix reorganization and shedding of alpha2 and beta1 integrins and CD44. **Cancer research**, v. 57, n. 10, p. 2061–70, 15 maio 1997.
- FRIEDL, P.; BORGMANN, S.; BRÖCKER, E. Amoeboid leukocyte crawling through extracellular matrix: lessons from the Dictyostelium paradigm of cell movement. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 70, n. 4, p. 491–509, 1 out. 2001.
- FRIEDL, P.; BRÖCKER, E.-B. The biology of cell locomotion within three-dimensional extracellular matrix. **Cellular and Molecular Life Sciences (CMLS)**, v. 57, n. 1, p. 41–64, 1 jan. 2000.
- FRIEDL, P.; WOLF, K. Plasticity of cell migration: a multiscale tuning model. **The Journal of Cell Biology**, v. 188, n. 1, 2010.
- HALFTER, W. et al. New concepts in basement membrane biology. **FEBS Journal**, v. 282, n. 23, p. 4466–4479, dez. 2015.
- HANAHAH, D.; WEINBERG, R. A. The hallmarks of cancer. **Cell**, v. 100, n. 1, p. 57–70, 7 jan. 2000.
- HANAHAH, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. **Cell**, v. 144, n. 5, p. 646–74, 4 mar. 2011.
- HÄRMÄ, V. et al. A Comprehensive Panel of Three-Dimensional Models for Studies of Prostate Cancer Growth, Invasion and Drug Responses. **PLoS ONE**, v. 5, n. 5, p. e10431, 3 maio 2010.
- HELLERSTEDT, B. A.; PIENTA, K. J. The current state of hormonal therapy for prostate cancer. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 52, n. 3, p. 154–79, 2002.
- HOSHINO, D.; BRANCH, K. M.; WEAVER, A. M. Signaling inputs to invadopodia and podosomes.

- Journal of cell science**, v. 126, n. Pt 14, p. 2979–89, 15 jul. 2013.
- HOTARY, K. et al. A cancer cell metalloprotease triad regulates the basement membrane transmigration program. **Genes & development**, v. 20, n. 19, p. 2673–86, 1 out. 2006.
- HUTMACHER, D. W. et al. Can tissue engineering concepts advance tumor biology research? **Trends in Biotechnology**, v. 28, n. 3, p. 125–133, mar. 2010.
- HYNES, R. O. **Fibronectins**. [s.l.] Springer New York, 1990.
- HYNES, R. O. Integrins: bidirectional, allosteric signaling machines. **Cell**, v. 110, n. 6, p. 673–87, 20 set. 2002.
- HYNES, R. O. The extracellular matrix: not just pretty fibrils. **Science (New York, N.Y.)**, v. 326, n. 5957, p. 1216–9, 27 nov. 2009.
- JEDRZEJCZAK-SILICKA, M. History of Cell Culture. In: **New Insights into Cell Culture Technology**. [s.l.] InTech, 2017.
- JIA, D. et al. Fibronectin matrix-mediated cohesion suppresses invasion of prostate cancer cells. **BMC cancer**, v. 12, p. 94, jan. 2012.
- KAIGHN, M. E. et al. Establishment and characterization of a human prostatic carcinoma cell line (PC-3). **Investigative urology**, v. 17, n. 1, p. 16–23, jul. 1979.
- KELLEY, L. C. et al. Cortactin phosphorylated by ERK1/2 localizes to sites of dynamic actin regulation and is required for carcinoma lamellipodia persistence. **PLoS one**, v. 5, n. 11, p. e13847, jan. 2010.
- KIKKAWA, Y. et al. Laminin-111-derived peptides and cancer. **Cell adhesion & migration**, v. 7, n. 1, p. 150–256, 2013.
- KNOWLES, L. M.; MALIK, G.; PILCH, J. Plasma Fibronectin Promotes Tumor Cell Survival and Invasion through Regulation of Tie2. **Journal of Cancer**, v. 4, n. 5, p. 383–90, jan. 2013.
- KURATOMI, Y. et al. Laminin gamma 1 chain peptide, C-16 (KAFDITYVRLKF), promotes migration, MMP-9 secretion, and pulmonary metastasis of B16-F10 mouse melanoma cells. **British journal of cancer**, v. 86, n. 7, p. 1169–73, 8 abr. 2002.
- LABELLE, M.; HYNES, R. O. The initial hours of metastasis: The importance of cooperative host-tumor cell interactions during hematogenous dissemination. **Cancer Discovery**, v. 2, n. 12, p. 1091–1099, 2012.
- LAUFFENBURGER, D. A.; HORWITZ, A. F. Cell migration: a physically integrated molecular process. **Cell**, v. 84, n. 3, p. 359–69, 9 fev. 1996.
- LEE, C. S. **Three-dimensional culture models of normal and malignant breast epithelial cells**. Disponível em: <<http://www.nature.com/nmeth/journal/v4/n4/pdf/nmeth1015.pdf>>. Acesso em: 3 maio. 2016.
- LEE, C. S. et al. GTP-dependent interaction between phospholipase D and dynamin modulates fibronectin-induced cell spreading. **Cellular Signalling**, v. 27, n. 12, p. 2363–2370, 2015.
- LINDER, S.; AEPFELBACHER, M. Podosomes: adhesion hot-spots of invasive cells. **Trends in cell biology**, v. 13, n. 7, p. 376–85, jul. 2003.
- LINDER, S.; WIESNER, C.; HIMMEL, M. Degrading Devices: Invadosomes in Proteolytic Cell Invasion. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, v. 27, n. 1, p. 185–211, 10 nov. 2011.
- LUCAS, J. T. et al. Regulation of invasive behavior by vascular endothelial growth factor is HEF1-dependent. **Oncogene**, v. 29, n. 31, p. 4449–4459, 5 ago. 2010.
- LYDON, M. J.; HUGHES, R. C. Fibronectin synthesis and surface expression is correlated with cell morphology and adhesiveness in a cold-sensitive, G1-defective mutant of CHO cells. **Experimental cell research**, v. 135, n. 2, p. 347–54, out. 1981.
- MAASER, K. et al. Functional hierarchy of simultaneously expressed adhesion receptors: integrin alpha2beta1 but not CD44 mediates MV3 melanoma cell migration and matrix reorganization within three-dimensional hyaluronan-containing collagen matrices. **Molecular biology of the cell**, v. 10, n. 10, p. 3067–79, out. 1999.
- MADER, C. C. et al. An EGFR-Src-Arg-Cortactin Pathway Mediates Functional Maturation of Invadopodia and Breast Cancer Cell Invasion. **Cancer Research**, v. 71, n. 5, p. 1730–1741, 1 mar. 2011.
- MAGNUSSON, M. K.; MOSHER, D. F. Fibronectin : Structure, Assembly, and Cardiovascular Implications. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 18, n. 9, p. 1363–1370, 1 set. 1998.
- MCNIVEN, M. A. et al. The dynamin family of mechanoenzymes: pinching in new places. **Trends in biochemical sciences**, v. 25, n. 3, p. 115–20, mar. 2000.
- MENG, X. N. et al. Characterisation of fibronectin-mediated FAK signalling pathways in lung cancer cell migration and invasion. **British journal of**

- cancer**, v. 101, n. 2, p. 327–34, 21 jul. 2009.
- MITRA, A.; MISHRA, L.; LI, S. Technologies for deriving primary tumor cells for use in personalized cancer therapy. **Trends in Biotechnology**, v. 31, n. 6, p. 347–354, jun. 2013.
- MONSKY, W. L. et al. A potential marker protease of invasiveness, seprase, is localized on invadopodia of human malignant melanoma cells. **Cancer research**, v. 54, n. 21, p. 5702–10, 1 nov. 1994.
- MOREAU, V. et al. Actin can reorganize into podosomes in aortic endothelial cells, a process controlled by Cdc42 and RhoA. **Molecular and cellular biology**, v. 23, n. 19, p. 6809–22, out. 2003.
- MOTT, J. D.; WERB, Z. Regulation of matrix biology by matrix metalloproteinases. **Current Opinion in Cell Biology**, v. 16, n. 5, p. 558–564, out. 2004.
- MURPHY, D. A.; COURTNEIDGE, S. A. The “ins” and “outs” of podosomes and invadopodia: characteristics, formation and function. **Nature reviews. Molecular cell biology**, v. 12, n. 7, p. 413–26, jul. 2011.
- NAKAHARA, H. et al. Involvement of Cdc42 and Rac small G proteins in invadopodia formation of RPMI7951 cells. **Genes to cells : devoted to molecular & cellular mechanisms**, v. 8, n. 12, p. 1019–27, dez. 2003.
- NARGIS, N. N.; ALDREDGE, R. C.; GUY, R. D. The influence of soluble fragments of extracellular matrix (ECM) on tumor growth and morphology. **Mathematical Biosciences**, v. 296, n. November 2016, p. 1–16, 2018.
- NASCIMENTO, C. F. et al. Laminin-111 derived peptides AG73 and C16 regulate invadopodia activity of a human adenoid cystic carcinoma cell line. **Experimental cell research**, v. 317, n. 18, p. 2562–72, 1 nov. 2011.
- NIENHUIS, H. H. et al. Targeting breast cancer through its microenvironment: Current status of preclinical and clinical research in finding relevant targets. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 147, p. 63–79, mar. 2015.
- NØRGAARD, M. et al. Skeletal Related Events, Bone Metastasis and Survival of Prostate Cancer: A Population Based Cohort Study in Denmark (1999 to 2007). **The Journal of Urology**, v. 184, n. 1, p. 162–167, jul. 2010.
- OSER, M. et al. Cortactin regulates cofilin and N-WASp activities to control the stages of invadopodium assembly and maturation. **The Journal of Cell Biology**, v. 186, n. 4, p. 571–587, 24 ago. 2009.
- OTEY, C. A.; BURRIDGE, K. Patterning of the membrane cytoskeleton by the extracellular matrix. **Seminars in cell biology**, v. 1, n. 5, p. 391–9, out. 1990.
- PAN, Y.-R.; CHEN, C.-L.; CHEN, H.-C. FAK is required for the assembly of podosome rosettes. **The Journal of Cell Biology**, v. 195, n. 1, 2011.
- PANKOV, R.; YAMADA, K. M. Fibronectin at a glance. **Journal of cell science**, v. 115, n. Pt 20, p. 3861–3, 15 out. 2002.
- PAREKH, A.; WEAVER, A. M. Regulation of invadopodia by mechanical signaling. **Experimental Cell Research**, v. 343, n. 1, p. 89–95, 2016.
- PAYNE, H. Management of locally advanced prostate cancer. **Asian journal of andrology**, v. 11, n. 1, p. 81–7, jan. 2009.
- PEEHL, D. M. Primary cell cultures as models of prostate cancer development. **Endocrine-related cancer**, v. 12, n. 1, p. 19–47, mar. 2005.
- PENTYALA, S. N. et al. Androgen induction of urokinase gene expression in LNCaP cells is dependent on their interaction with the extracellular matrix. **Cancer letters**, v. 130, n. 1–2, p. 121–6, 14 ago. 1998.
- PIGNATELLI, J. et al. Hic-5 promotes invadopodia formation and invasion during TGF- β -induced epithelial–mesenchymal transition. **The Journal of Cell Biology**, v. 197, n. 3, 2012.
- PROVENZANO, P. P. et al. Contact guidance mediated three-dimensional cell migration is regulated by Rho/ROCK-dependent matrix reorganization. **Biophysical journal**, v. 95, n. 11, p. 5374–84, dez. 2008.
- RABINOVITZ, I.; MERCURIO, A. M. The Integrin $\alpha 6 \beta 4$ Functions in Carcinoma Cell Migration on Laminin-1 by Mediating the Formation and Stabilization of Actin-containing Motility Structures. **The Journal of Cell Biology**, v. 139, n. 7, p. 1873–1884, 29 dez. 1997.
- REVACH, O.-Y.; GEIGER, B. The interplay between the proteolytic, invasive, and adhesive domains of invadopodia and their roles in cancer invasion. **Cell adhesion & migration**, v. 8, n. 3, p. 215–25, 2014.
- RISBRIDGER, G. P. et al. Breast and prostate cancer: more similar than different. **Nature Reviews Cancer**, v. 10, n. 3, p. 205–212, 11 mar. 2010.
- RODRÍGUEZ-HERNANDEZ, C. O. Cell culture : History , Development and Prospects International

- Journal of Current Research. n. September 2016, 2014.
- ROHATGI, R. et al. The interaction between N-WASP and the Arp2/3 complex links Cdc42-dependent signals to actin assembly. **Cell**, v. 97, n. 2, p. 221–31, 16 abr. 1999.
- ROSENTHAL, S. A.; SANDLER, H. M. Treatment strategies for high-risk locally advanced prostate cancer. **Nature Reviews Urology**, v. 7, n. 1, p. 31–38, jan. 2010.
- SABEH, F. et al. Tumor cell traffic through the extracellular matrix is controlled by the membrane-anchored collagenase MT1-MMP. **The Journal of Cell Biology**, v. 167, n. 4, p. 769–781, 22 nov. 2004.
- SCHAEFER, L.; REINHARDT, D. P. Special issue: Extracellular matrix: Therapeutic tools and targets in cancer treatment. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 97, p. 1–3, fev. 2016.
- SCHENK, S.; QUARANTA, V. Tales from the crypt[ic] sites of the extracellular matrix. **Trends in cell biology**, v. 13, n. 7, p. 366–75, jul. 2003.
- SCHOUMACHER, M. et al. Actin, microtubules, and vimentin intermediate filaments cooperate for elongation of invadopodia. **The Journal of Cell Biology**, v. 189, n. 3, p. 541–556, 3 maio 2010.
- SCHULTZ, G. S. et al. Dynamic reciprocity in the wound microenvironment. **Wound Repair and Regeneration**, v. 19, n. 2, p. 134–148, mar. 2011.
- SCHWARZBAUER, J. E.; DESIMONE, D. W. Fibronectins, their fibrillogenesis, and in vivo functions. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, v. 3, n. 7, 1 jul. 2011.
- SEALS, D. F. 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**, v. 7, n. 2, p. 155–165, fev. 2005.
- SHARMA, V. P. et al. Tks5 and SHIP2 Regulate Invadopodium Maturation, but Not Initiation, in Breast Carcinoma Cells. **Current Biology**, v. 23, n. 21, p. 2079–2089, nov. 2013.
- SIQUEIRA, A. S. et al. Laminin-111 peptide C16 regulates invadopodia activity of malignant cells through $\beta 1$ integrin, Src and ERK 1/2. **Oncotarget**, v. 7, n. 30, p. 47904–47917, 26 jul. 2016.
- SOUZA, A. G. et al. Advances in Cell Culture: More than a Century after Cultivating Cells. **Journal of Biotechnology & Biomaterials**, v. 6, n. 2, 29 set. 2016.
- STURGE, J.; CALEY, M. P.; WAXMAN, J. Bone metastasis in prostate cancer: emerging therapeutic strategies. **Nature Reviews Clinical Oncology**, v. 8, n. 6, p. 357–368, 10 jun. 2011.
- SUNG, B. H. et al. Cortactin controls cell motility and lamellipodial dynamics by regulating ECM Secretion. **Current Biology**, v. 21, n. 17, p. 1460–1469, 2011.
- TAGUE, S. E.; MURALIDHARAN, V.; D’SOUZA-SCHOREY, C. ADP-ribosylation factor 6 regulates tumor cell invasion through the activation of the MEK/ERK signaling pathway. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, n. 26, p. 9671–6, 29 jun. 2004.
- TANG, Y. et al. MT1-MMP-Dependent Control of Skeletal Stem Cell Commitment via a $\beta 1$ -Integrin/YAP/TAZ Signaling Axis. **Developmental Cell**, v. 25, n. 4, p. 402–416, maio 2013.
- TATIN, F. et al. A signalling cascade involving PKC, Src and Cdc42 regulates podosome assembly in cultured endothelial cells in response to phorbol ester. **Journal of Cell Science**, v. 119, n. 4, p. 769–781, 15 fev. 2006.
- TECHNOLOGIES, L. S. Cell Culture Enters the Third Dimension. p. 1–3, 2012.
- THEOCHARIS, A. D. et al. Extracellular Matrix Structure. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 97, p. 4–27, nov. 2015.
- TOLDE, O. et al. The structure of invadopodia in a complex 3D environment. **European Journal of Cell Biology**, v. 89, n. 9, p. 674–680, set. 2010.
- URTREGER, A. J. et al. Fibronectin is distinctly downregulated in murine mammary adenocarcinoma cells with high metastatic potential. **Oncology reports**, v. 16, n. 6, p. 1403–10, dez. 2006.
- VALYI-NAGY, K. An emerging role of biorepositories in personalized medicine: isolation and processing of primary tumor cells for the establishment of 3D tumor cultures from solid tumor specimens. **Journal of Oncology and Biomarker Research**, v. 1, p. 1–3, 6 ago. 2014.
- WEBB, B. A. et al. PAK1 induces podosome formation in A7r5 vascular smooth muscle cells in a PAK-interacting exchange factor-dependent manner. **AJP: Cell Physiology**, v. 289, n. 4, p. C898–C907, 25 maio 2005.
- WELCH, M. D.; MULLINS, R. D. Cellular control of actin nucleation. **Annual review of cell and developmental biology**, v. 18, p. 247–88, jan. 2002.
- WHITE, E. S.; BARALLE, F. E.; MURO, A. F. New insights into form and function of fibronectin splice variants. **The Journal of pathology**, v. 216,

n. 1, p. 1–14, set. 2008.

WOLF, K. et al. Compensation mechanism in tumor cell migration. **The Journal of Cell Biology**, v. 160, n. 2, p. 267–277, 20 jan. 2003.

WOLF, K. et al. Multi-step pericellular proteolysis controls the transition from individual to collective cancer cell invasion. **Nature Cell Biology**, v. 9, n. 8, p. 893–904, 8 ago. 2007.

WYCKOFF, J. B. et al. ROCK- and Myosin-Dependent Matrix Deformation Enables Protease-Independent Tumor-Cell Invasion In Vivo. **Current Biology**, v. 16, n. 15, p. 1515–1523, ago. 2006.

YAMAGUCHI, H. et al. Molecular mechanisms of invadopodium formation: the role of the N-WASP-Arp2/3 complex pathway and cofilin. **The Journal of cell biology**, v. 168, n. 3, p. 441–52, 31 jan. 2005.

ZAMAN, M. H. The role of engineering approaches in analysing cancer invasion and metastasis. **Nature Reviews Cancer**, v. 13, n. 8, p. 596–603, 18 ago. 2013.

ZAMIR, E. et al. Dynamics and segregation of cell-matrix adhesions in cultured fibroblasts. **Nature cell biology**, v. 2, n. 4, p. 191–6, abr. 2000.

ZHANG, X. et al. Up-regulated microRNA-143 transcribed by nuclear factor kappa B enhances hepatocarcinoma metastasis by repressing fibronectin expression. **Hepatology (Baltimore, Md.)**, v. 50, n. 2, p. 490–9, ago. 2009.