

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Potenciais mecanismos de regulação da fosfatase PTEN pelas proteínas
SET e PP2A e seu envolvimento na predisposição ao carcinoma bucal**

Camila Sayuri Matsumoto

Ribeirão Preto

2016

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Potenciais mecanismos de regulação da fosfatase PTEN pelas proteínas
SET e PP2A e seu envolvimento na predisposição ao carcinoma bucal**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências Aplicadas à Farmácia para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Biociências Aplicadas à Farmácia.

Orientada: Camila Sayuri Matsumoto

Orientadora: Profa. Dra. Andréia Machado Leopoldino

Co-Orientadora: Profa. Dra. Cristiane Helena Squarize

Versão corrigida da Tese de Doutorado Direto apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências Aplicadas à Farmácia no dia 25/04/2016 (Data da Defesa). A versão original encontra-se disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP.

Ribeirão Preto

2016

RESUMO

MATSUMOTO, C.S. Potenciais mecanismos de regulação da fosfatase PTEN pelas proteínas SET e PP2A e seu envolvimento na predisposição ao carcinoma bucal. 2016. 115f. Tese (Doutorado) Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2016.

O câncer é a segunda doença com maior índice de mortalidade no Brasil e ainda é responsável por um elevado número de óbitos em todo o mundo. Durante a tumorigênese ocorrem diversas alterações no genoma, transcriptoma, proteoma, e interactoma que permitem o desenvolvimento da célula maligna. Alterações descritas na via de sinalização PI3K-Akt, tais como ganho de função da quinase PI3K ou perda de função da fosfatase PTEN, levam ao aumento de PIP3 com ativação constitutiva dos alvos *downstream*, como da quinase Akt. A regulação negativa da Akt pode ser realizada pela fosfatase PP2A, que é inibida pela proteína SET (ou inibidor 2 da PP2A). Existem diversos mecanismos que podem contribuir para a desregulação da sinalização celular e o aumento na quantidade de uma única proteína pode levar ao desequilíbrio no processo. Recentemente, nosso grupo identificou o aumento da proteína SET em diversas amostras de pacientes com carcinoma bucal, que foi associado à ativação da Akt. Sendo assim, o objetivo geral deste trabalho foi caracterizar os potenciais mecanismos de regulação da fosfatase PTEN pelas proteínas SET e PP2A e o papel de PTEN na predisposição ao carcinoma bucal. Para isso, através de vetores de expressão foi identificada dentre outras, a subunidade B56Δ da PP2A capaz de reduzir os níveis de PTEN fosforilado no resíduo de S380; a interação das proteínas PTEN e PP2A foi confirmada por co-immunoprecipitação (co-IP) e imunofluorescência; a atividade de PP2A e PTEN foram avaliadas frente a expressão de SET e regiões da SET na presença ou não de mutações sítio-específicas; e os níveis de expressão de PTEN foram relacionados ao acúmulo ou silenciamento (siRNA e shRNA) de SET em CECPs e no tratamento com agente hiperacetilante (TSA) e desmetilante (5aza-deoxicidina). Também foi avaliado o papel de PTEN na expressão de BMAL1 *in vitro* e *in vivo*, utilizando animais geneticamente modificados com deleção de PTEN tecido-condicional ao epitélio. Os resultados obtidos sugerem a participação da SET em mecanismos de controle da expressão gênica de PTEN e a participação de PTEN no controle da expressão de BMAL.

Palavras-chave: 1. PTEN. 2. PP2A. 3. I₂PP2A. 4. Câncer. 5. Sinalização Celular. 6. Fosforilação.

ABSTRACT

MATSUMOTO, C.S. Potential regulation of PTEN phosphatase by PP2A and SET proteins and its role in oral cancer predisposition. 2016. 115f. Thesis (Doctorate Degree) Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2016.

Cancer is the second cause of death in Brazil and the oral cancer is among the most predominant cancers worldwide. During tumorigenesis several changes occur in the genome, transcriptome, proteome and interatoma leading to malignant cells development. Some of the more important modifications occur in the PI3K-Akt pathway, such as the loss of PTEN phosphatase function, which increase PIP3 and results in the constitutive activation of downstream targets, including the kinase Akt. PP2A is responsible for the negative regulation of Akt and is inhibited by SET (or Inhibitor 2 of PP2A). Many mechanisms can lead to deregulation of these signaling pathways and the increase in one protein can result in pathway loss of balance. Recently Leopoldino et.al. (2009) identified SET levels increased in oral cancer tissue samples, associate to Akt activation. The main objective of this project is evaluating how PP2A and SET regulate PTEN and its relation to cancer predisposition. For this, expression vectors were used to identify, among others, B56Δ subunit of PP2A reducing levels of p-PTEN S380; the interaction between PP2A and PTEN was confirmed by co-immunoprecipitation (co-IP) and immunofluorescence; PP2A and PTEN activity were evaluated against expression of SET and SET regions in the presence or not of site-specific mutations; and PTEN expression levels were related to the accumulation or silencing (siRNA and shRNA) of SET in CECs and the treatment with agents for hyperacetylation (TSA) and demethylation (5-aza-deoxycytidine). The role of PTEN on BMAL1 expression was evaluated *in vitro* and *in vivo*, using transgenic animals with tissue-specific deletion of PTEN for epithelium. The results suggest the involvement of SET in control of PTEN gene expression and participation of PTEN in the control of BMAL expression.

Keywords: 1. PTEN. 2. PP2A. 3. I₂PP2A. 4. Cancer. 5. Cellular Signaling. 6. Phosphorylation.

RESUMEM

MATSUMOTO, C.S. Potenciales mecanismos de regulación de la fosfatasa PTEN por las proteínas SET y PP2A: Sus implicaciones en la predisposición al carcinoma bucal. 2016. 115f. Tesis (Doctorado). Facultad de Ciencias Farmacéuticas de Ribeirão Preto-Universidad de São Paulo, Ribeirão Preto, 2016.

El cáncer constituye en la actualidad un problema de salud mundial por su elevada tasa de morbi/mortalidad. Basado en estos criterios en Brasil ocupa el segundo lugar basado en estos criterios. Durante la tumorigénesis ocurren diversas alteraciones a nivel del genoma, transcriptoma, proteoma e interactoma que desencadenan en la aparición de células malignas. Alteraciones descritas en la vía de señalización PI3K-Akt, tales como el incremento en la actividad de la quinasa PI3K o la pérdida de la función de la fosfatasa PTEN, conllevan al aumento de PIP3 asociada a la activación constitutiva de receptores (downstream) y de la quinasa Akt. La regulación negativa de la Akt puede ser realizada por la fosfatasa PP2A, la cual es inhibida por la proteína SET (2do inhibidor de PP2A). Existen diversos mecanismos que favorecen la disregulación de la señalización celular y el aumento de los niveles de una única proteína pueden conducir a un desequilibrio del proceso. Recientemente nuestro grupo identificó el incremento en los niveles de SET asociado a la inducción de actividad Akt en varias muestras de pacientes con carcinoma oral. En este sentido, el objetivo del presente estudio fue caracterizar los posibles mecanismos de regulación de la fosfatasa PTEN por las proteínas SET y PP2A, así como el rol de PTEN en la predisposición al carcinoma oral.

Para este fin, através de vectores de expresión ha sido identificado, la subunidad de PP2A B56 Δ puede reducir los niveles de p-PTEN S380; la interacción de PP2A y PTEN fue confirmada por co-inmunoprecipitación (co-IP) e inmunofluorescencia; la actividad de PP2A y PTEN se evaluaron contra la expresión de SET y regiones del SET con o sin mutaciones sitio-específicas; y los niveles de expresión de PTEN se relacionaron con la acumulación o el silenciamiento del SET (siRNA y shRNA) en CECPs y de tratamiento hiperacetilante (TSA) y desmetilante (5-aza-desoxicidina). También se evaluó el papel de PTEN en la expresión de BMAL1 *in vitro* e *in vivo*, usando animal transgénico con delección sitio-específica de PTEN en epitelio.

Palabras clave: 1. PTEN. 2. PP2A. 3. I2PP2A. 4. Cáncer. 5. Señalización Celular. 6. Fosforilación.

Introdução

1. Introdução

1.1. Carcinoma Bucal

Segundo a Agência Internacional para Pesquisa em Câncer (IARC/OMS), o câncer é a maior causa de morte no mundo. No ano de 2012, foram estimados 14,1 milhões de novos casos e 8,2 milhões de mortes em decorrência ao câncer (World Cancer Report 2014, 2014). No Brasil, o câncer é a segunda doença com maior índice de mortalidade, sendo superada apenas pelas doenças arteriais e cardíacas. As estimativas do Instituto Nacional de Câncer (INCA/Ministério da Saúde) para o ano de 2016 foram de 596.000 casos novos, sendo 295.200 em homens e 300.800 em mulheres (Estimativa: Incidência de Câncer no Brasil, 2016).

Os carcinomas de cabeça e pescoço relacionam-se a tumores de cavidade oral, seios paranasais, faringe e laringe. Anualmente, ocorrem aproximadamente 686.000 novos casos de câncer de cabeça e pescoço no mundo (World Cancer Report 2014, 2014). O carcinoma de cabeça e pescoço se origina no epitélio também conhecido como epitélio estratificado, o qual apresenta alta expressão de proteínas chamadas citoqueratinas que fazem parte dos filamentos intermediários. Embora o consumo de álcool e tabaco seja apontada como principal causa desse tipo de câncer, responsável pelo desenvolvimento de 88% dos casos de câncer de cabeça e pescoço no mundo, nas últimas décadas o HPV vem se destacando com crescente participação entre os fatores de predisposição ao desenvolvimento de cânceres de orofaringe e base de língua (World Cancer Report 2014, 2014).

Os diferentes Carcinomas Espinocelulares de Cabeça e Pescoço (CECPs) apresentam em comum o caminho de progressão de células hiperplásicas para células displásicas que podem progredir para o desenvolvimento do carcinoma *in situ* e, caso haja aumento de seu potencial metastático, se tornar um carcinoma invasivo (Figura 1). Esse caminho de progressão é caracterizado pelo acúmulo de alterações genéticas e epigenética em oncogenes, proto-oncogenes e supressores tumorais responsáveis por alterações de vias de sinalização relacionadas a maior malignidade da doença (World Cancer Report 2014, 2014).

Os tumores de CECPs podem ser classificados também como HPV positivos ou negativos. Nos tumores positivos para HPV a perda de supressores tumorais (p53) resulta do efeito das proteínas E6 e E7 do vírus. Os tumores negativos para HPV se caracterizam pelo aumento da instabilidade cromossômica e consequente acúmulo de alterações genéticas e mutações em supressores tumorais e oncogenes. A perda dos supressores tumorais e o acúmulo de oncogenes determina o surgimento de uma célula transformada com maior potencial

proliferativo e, conforme se acumulam as alterações, crescimento anormal dessa célula alterada até que esta tenha tomado todo um campo do tecido e o desenvolvimento do tumor (Leemans *et al.*, 2011). Desse modo, o acúmulo de alterações cromossômicas e mutações resulta em perda de controle de crescimento e/ou ganho de fatores de crescimento (Figura 1).

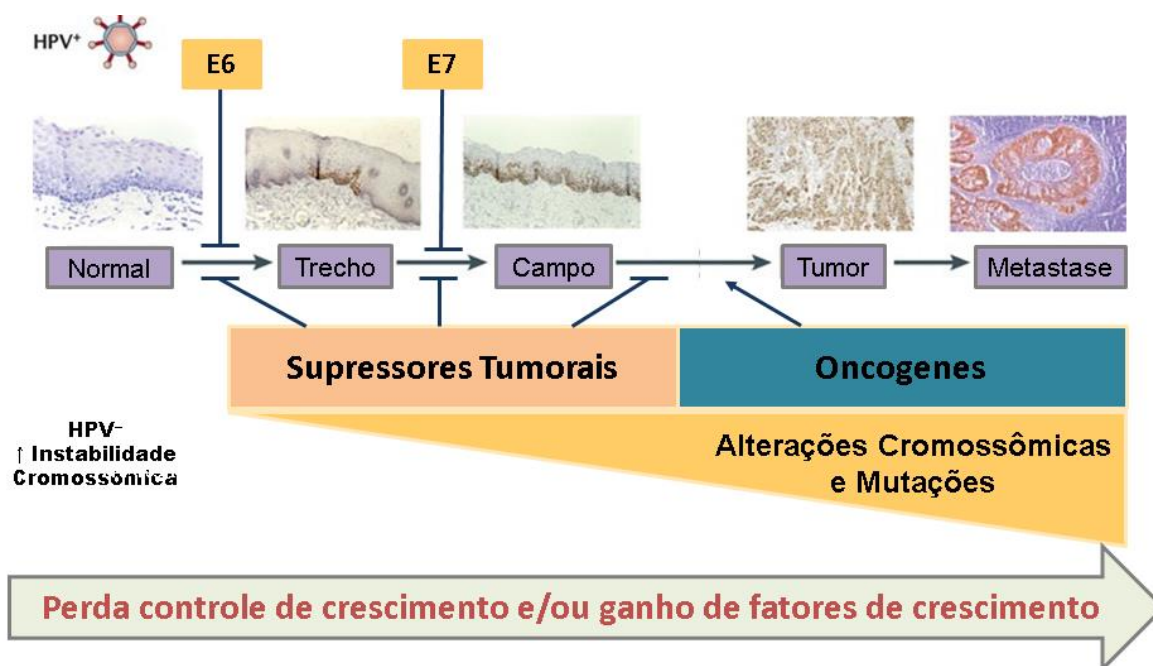


Figura 1. Caminho de proliferação do câncer em CECPs. Os cânceres de CECP podem ser classificados como HPV positivo (HPV⁺), onde as proteínas E6 e E7 são as principais efetoras da perda de genes supressores tumorais e que resultaram no desenvolvimento do tumor, ou HPV negativo (HPV⁻), caracterizados por um aumento na instabilidade cromossômica. O acúmulo de alterações cromossômicas e mutações com perda de supressores tumorais e aumento de oncogenes resulta em perda de controle de crescimento e/ou ganho de fatores de crescimento, e determina o surgimento de uma célula alterada com capacidade proliferativa maior que das células normais até o surgimento do tumor (modificado de Leemans *et al.*, 2011).

Trabalhos recentes empregando técnicas de sequenciamento em larga escala para mapear o genoma de CECPs, identificaram os genes *TP53*, *NOTCH*, *PTEN* e *PIK3CA* alterados na maioria dos tumores analisados (Stransky *et al.*, 2011), reforçando dados anteriores que relacionavam alterações nesses genes ao desenvolvimento de CECPs (Cully *et al.*, 2006; Klein e Grandis, 2010).

Os avanços na compreensão da biologia molecular do câncer de cabeça e pescoço têm aberto novas direções na ciência. O aumento das pesquisas foi direcionado para o desenvolvimento de terapias contra alvos moleculares específicos ou a predição de tratamentos baseadas nas características dos tumores após análise de marcadores moleculares e seleção de pacientes para terapias moleculares específicas (Ang *et al.*, 2002). Ainda, a maioria das

alterações genéticas que ocorrem durante este processo ainda não é conhecida ou não estão totalmente compreendidas (Awada e Lalami, 2005).

Estes dados evidenciam a alta incidência de câncer na população e fortalece a necessidade de pesquisas direcionadas para o melhor entendimento da tumorigênese, bem como do estabelecimento de diagnósticos para escolha de tratamentos, prognósticos, e acompanhamento dos pacientes. Nosso grupo de pesquisa identificou e validou o aumento da proteína I2PP2A/SET (Inhibitor 2 of PP2A) em amostras de CECP (Leopoldino, Squarize, Garcia, Almeida, Pestana, Sobral, *et al.*, 2012).

1.2. PTEN-PI3K

O sistema fosfoinosítídeo de sinalização celular é uma rede de enzimas e mensageiros fosfolípidos, responsável pela regulação da maioria dos processos celulares.

As proteínas PI3K (*Phosphoinositide Kinase-3*) e PTEN (*Phosphatase and Tensin Homolog Deleted on Chromosome 10*) são responsáveis pela regulação dos níveis de Fosfatidilinositol 3,4,5-Trifosfato (PtdIns(3,4,5)P ou PIP3), e frequentemente estas proteínas são encontradas mutadas no câncer (Eng, 2003; Pedrero *et al.*, 2005; Cully *et al.*, 2006; Jiang e Liu, 2009; Ohgaki e Kleihues, 2009; Bunney e Katan, 2010; Morris *et al.*, 2010).

O Fosfatidilinositol é um fosfolípido de membrana que pode ter as posições 3, 4 e 5 do anel inositol alternadamente fosforiladas, resultando em sete diferentes fosfoinosítídeos. Estes fosfoinosítídeos podem ser usados como substrato para a formação de vários segundos mensageiros e seu anel inositol fosforilado pode se ligar e regular a atividade de várias proteínas. Alterações no metabolismo de PIP3 estão relacionadas a processos inflamatórios, diabetes e câncer (Jiang e Liu, 2009; Bunney e Katan, 2010).

Como o PIP3 participa ativamente dos processos regulatórios de sobrevivência, proliferação e crescimento celular, a perda de controle na sinalização de PIP3 e sua consequente exacerbação podem levar ao desenvolvimento de câncer (Bunney e Katan, 2010).

O gene *PTEN* foi identificado como supressor tumoral em 1997 por Li *et al.* e, em trabalho independente, por Steck *et al.* (1997) e, desde então, tem sido relacionado a diversos tipos de cânceres, inclusive os de cabeça e pescoço (Squarize *et al.*, 2002; Pedrero *et al.*, 2005). O gene *PTEN* se localiza no cromossomo 10q23.3 e codifica uma proteína de 403 resíduos com atividade fosfatase, também conhecida como MMAC (*Mutated in Multiple Advanced Cancers*) ou TEP1 (*Transforming growth factor- β -regulated and Epithelial-cell Enriched Phosphatase*

1), capaz de hidrolisar o grupamento fosfato da posição 3 em PIP3, para formação de PIP2, e regular negativamente a via de sinalização PIP3 (Maehama e Dixon, 1998).

O principal alvo de PIP3 para regulação da viabilidade, proliferação e crescimento celular é a proteína Akt (Stambolic *et al.*, 1998) (Figura 2). O produto da quinase PI3K, PIP3, ao se ligar a Akt provoca o seu recrutamento para a membrana e ao mesmo tempo sua ligação a PDK1, que é responsável pela fosforilação de Akt em seu domínio quinase (T308).

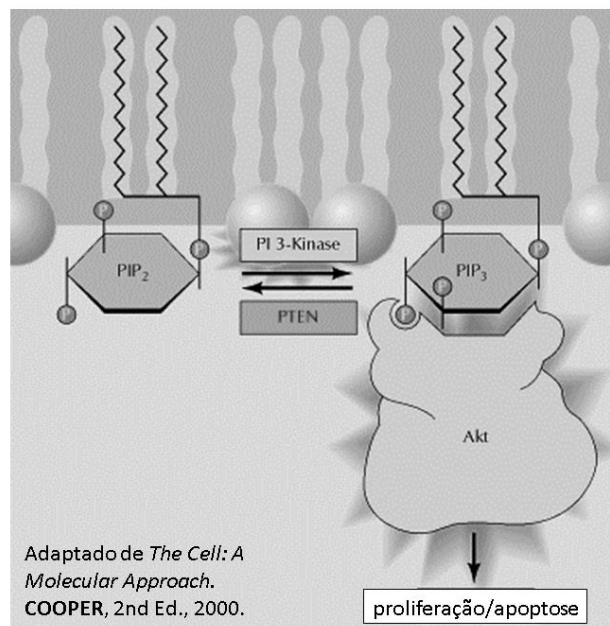


Figura 2. Esquema de sinalização de PIP3. PTEN é responsável pela desfosforilação de PIP3 em PIP2, enquanto, PI3K realiza a fosforilação de PIP2 em PIP3. Quando fosforilado, PIP3 ativa a proteína Akt que controla a proliferação e apoptose celular (adaptado de *The Cell: A molecular Approach*, COOPER, 2nd Ed., 2000).

Diversos estudos frequentemente mostraram PTEN mutado ou perdido em diversos tipos de cânceres, principalmente, gliomas, de próstata, endometrial, pulmonar, de cólon e de mama (Li *et al.*, 1997; Eng, 2003; Ohgaki e Kleihues, 2009). Atualmente, mutações no gene *PTEN* são consideradas o segundo tipo de mutação mais frequente em genes supressores tumorais, sendo ultrapassadas apenas pelas mutações em *TP53* (Keniry e Parsons, 2008). A perda de PTEN leva ao acúmulo de PIP3 promovendo o recrutamento de PDK1 e Akt (Bononi *et al.*, 2011).

A metilação do promotor de PTEN tem sido descrita em vários tipos de tumores (Baeza *et al.*, 2003), inclusive em carcinoma epidermóide oral (Kurasawa *et al.*, 2008). Existem claras evidências genéticas do papel de PI3K e PTEN na tumorigênese: mutações somáticas em câncer

que alteram PTEN (Eng, 2003) e a subunidade catalítica alpha de PI3K (PIK3CA) (Ligresti *et al.*, 2009) provocam o aumento da atividade da via de sinalização PIP3. O aumento da atividade das proteínas PI3K mutantes resulta em atividade oncogênica. A redução na atividade de PTEN leva ao acúmulo de PIP3 nas células e ativação irrestrita dos seus alvos secundários (*downstream*). Além disso, a perda de função de PTEN tem sido associada às Síndromes de Predisposição ao Câncer Hereditário como a Síndrome de Cowden, a Doença de Lhermitte-Duclos assim como a ocorrência de cânceres esporádicos (Eng, 2003; Cully *et al.*, 2006).

Outro mecanismo proposto por Vazquez *et al.* (2000) refere-se a fosforilação dos resíduos S380, T382 e T383, presentes na cauda C-terminal da proteína, resultando numa conformação mais estável, porém menos ativa, por outro lado a desfosforilação desses resíduos resulta numa maior atividade e menor estabilidade da proteína, que é degradada pelo sistema ubiquitina-proteassomo (Trotman, *et al.*, 2007; Wang, *et al.*, 2007; Fouladkou, *et al.*, 2008; Ahmed *et al.*, 2012).

Recentemente, estudos com Ressonância Magnética Nuclear (RNM) demonstraram que a fosforilação dos resíduos da cauda C-terminal ocorre em dois eventos em cascata independentes. Em um deles, a proteína Caseína Quinase 2 (CK2) fosforila os resíduos de S385, S380, T381 e T382. No segundo *cluster*, a proteína CK2 fosforila o resíduo de S370, em seguida, a quinase Glicogênio Sintase 3 Beta (GSK3 β) fosforila os resíduos de T366 e S362, e ao final, a proteína CK2 fosforila S361 e T363. Outras quinases, como a Polo-like Quinase 3 (Xu *et al.*), Serina/Treonina Quinase 11 (STK11) (Mehenni *et al.*, 2005) e Caseína Quinase 1 (CK1) (Vazquez *et al.*, 2000b), têm sido relacionadas à fosforilação de PTEN, mas ainda não se conhece de que maneira atuam sobre a fosfatase (Cordier *et al.*, 2012).

Diversos estudos relacionaram modificações pós-transcricionais de PTEN com sua sublocalização celular.

Destes, vários estudos têm corroborado a teoria de que a calda N-terminal se liga especificamente à PIP2 presente na membrana celular e determina alterações na conformação de PTEN, resultando na ativação alostérica e, juntamente, com a fosfatidilserina induz alterações na estrutura e a sua ligação ao substrato PIP3 (Leslie *et al.*, 2008).

Apesar de ser uma proteína de membrana, PTEN também é encontrada no núcleo (Liu *et al.*, 2005; Shen *et al.*, 2007; Fouladkou *et al.*, 2008; Planchon *et al.*, 2008; Jacob *et al.*, 2009; Song *et al.*, 2011; Horita *et al.*, 2016) onde mantém seu potencial de supressor tumoral. Trotman *et al.* (2007) mostraram que o resíduo de Lisina 289 é essencial para a migração de PTEN para o núcleo celular, esse resíduo pode ser monoubiquitinado e direcionar a

internalização de PTEN no núcleo, ou poliubiquitinado, e nesse caso será direcionado para a degradação via proteassomo (Trotman *et al.*, 2007).

Os resíduos de Serina 380 e Treonina 382, 383 determinam, além da atividade de PTEN, sua ligação a membrana plasmática. Das *et al.* (2003), mostraram que quando estes resíduos são desfosforilados, ocorre a ligação de PTEN a membrana e ao serem desfosforilados se tornam disponíveis no citoplasma. Segundo Odriozola *et al.* (2007), a desfosforilação dos resíduos de S380A e S385A determinam maior ligação de PTEN a membrana, mas a fosforilação de S380E mostrou menor ligação de PTEN a membrana quando comparada com a fosforilação do resíduo de S385E.

Na presença de Espécies Reativas de Oxigênio (EROS), ocorre rompimento da ponte de enxofre formada na região catalítica da fosfatase PTEN e perda da estrutura terciária da proteína, essa modificação na estrutura do sítio catalítico leva a inativação da fosfatase (Figura 3).

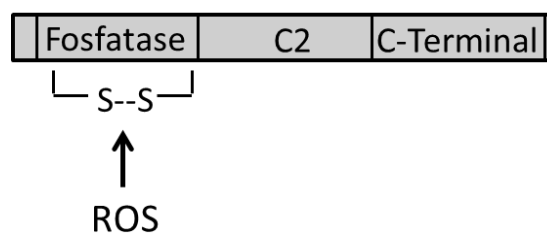


Figura 3. Mecanismo de Inativação de PTEN pelo estresse oxidativo. Na presença de (EROS), a ligação de uma ponte de enxofre presente na região catalítica da fosfatase é rompida e a perda da estrutura terciária leva a perda de atividade.

Além desses mecanismos de controle bioquímico, pode ocorrer, ainda, acetilação do sítio catalítico e da calda C-terminal (Figura 4).

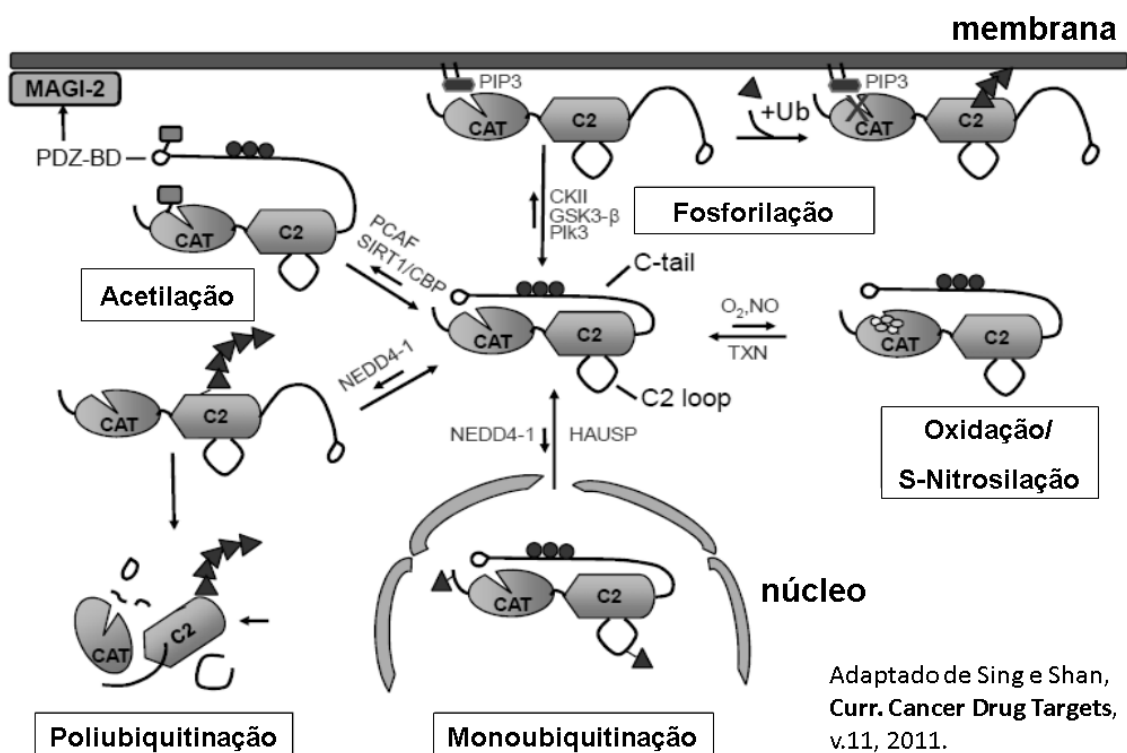


Figura 4. Representação esquemática da regulação bioquímica de PTEN através de modificações pós-transcricionais. A proteína PP2A pode ter sua atividade regulada pela fosforilação da sua calda C-terminal ou por oxidação ou S-nitrosilação de sua região catalítica na presença de estresse oxidativo; ser translocado para o núcleo através de monoubiquitinação ou degradado após poliubiquitinação; e sofrer acetilação em sua região catalítica e/ou calda C-terminal. (modificado de Singh e Chan, 2011).

Embora diversos processos de regulação de expressão gênica, eventos pós-transcricionais e pós-traducionais tenham sido descritos, o completo entendimento da regulação de PTEN ainda não foi elucidado.

1.3. Proteína PP2A

A proteína fosfatase 2A (PP2A), uma serina/treonina fosfatase, foi descoberta por Chernoff *et al.* (1983). Posteriormente, a PP2A foi identificada como uma holoenzima formada por diversas subunidades regulatórias (Figura 5), as quais determinam diferentes especificidades pelos substratos e diferentes atividades (Janssens e Goris, 2001). A holoenzima é constituída por uma subunidade catalítica (subunidade C, 36 kDa) comum a todas as fosfatases desse grupo, uma subunidade regulatória (subunidade B, de 50 a 130 kDa) e uma terceira subunidade estrutural variável (subunidade A α ou A β) que permite a formação da holoenzima heterotrimérica devido a sua capacidade de ligação às diferentes subunidades regulatórias (Mumby, 2007). As

diferentes subunidades B são expressas diferencialmente de acordo com o tipo de tecido e em determinado estágio durante a diferenciação e o desenvolvimento celular (Bononi *et al.*, 2011).

Até o momento, foram descritas 3 famílias para as subunidades regulatórias (B, PR72 e B56) e a família B56 possui 8 isoformas descritas (Mumby, *et. al.*, 2007) (Figura 5).

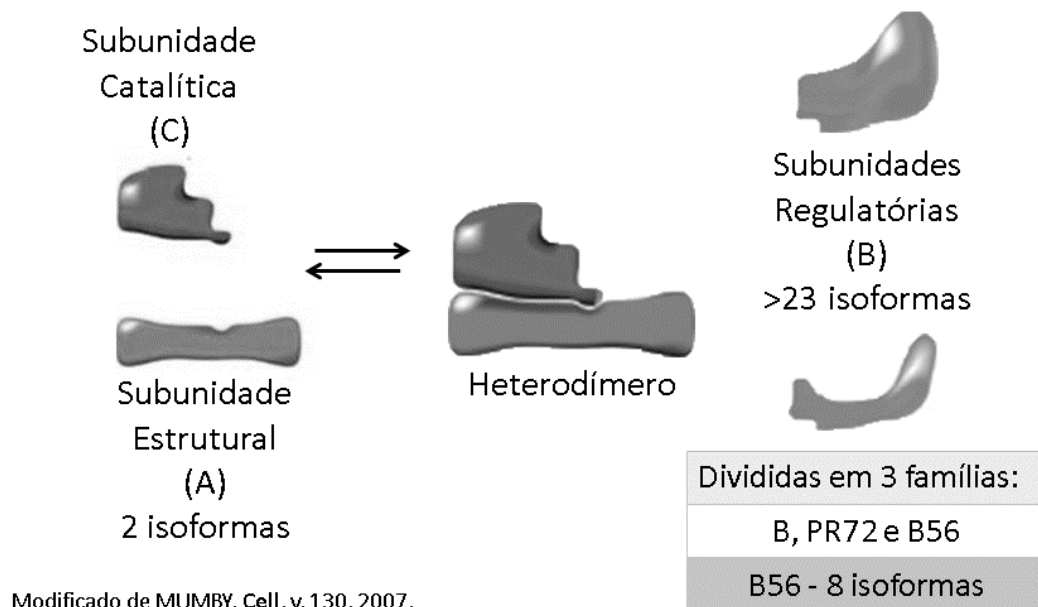


Figura 5. Representação esquemática para a formação da holoenzima de PP2A. O heterodímero formado pela interação entre as subunidades catalítica (C) e estrutural (A) irá determinar qual subunidade regulatória se ligará para a formação da holoenzima (modificado de Mumby *et.al.*, 2007).

Devido à variedade de substratos que a PP2A pode desfosforilar, um grande número de fosfoproteínas e vias de sinalização podem ser afetadas pela PP2A (tais como Akt, c-Myc, RalA). Algumas subunidades regulatórias de PP2A tiveram sua atividade relacionada a uma determinada via de sinalização: a subunidade B56 α foi associada à Bcl2 (Ruvolo *et al.*, 2002) e à regulação de c-Myc e β -catenina (Arnold e Sears, 2008); B56 β parece participar da degradação de Pim-1 (Ma *et al.*, 2007); B56 γ parece atuar na regulação de p53, paxilina, mdm2/Hdm2 e p300; B56 Δ teve sua atividade descrita na regulação de Cdc25C, HAND1 e DARP-32 (Arnold e Sears, 2008). A PP2A formada pela subunidade B55 α teve sua atividade relacionada à desfosforilação dos resíduos T308 e S473 de Akt (Kuo *et al.*, 2008b). A subunidade B56 Δ teve sua atividade relacionada ao controle do ciclo celular através da inibição de Cdc25C (Forester *et al.*, 2007), assim como à ativação de GSK3 β (Yu *et al.*, 2014). Apesar desses dados, existem diversas funções da proteína PP2A que ainda não foram relacionadas a uma subunidade regulatória.

Alguns estudos têm relacionado a atividade de PTEN e PP2A (Mistafa *et al.*, 2010; Nho e Kahm, 2010; Bononi *et al.*, 2011; Xu *et al.*, 2011), em estudo de proteômica desenvolvido por Crockett *et al.* (2005) os únicos grupos de fosfatases identificadas como ligantes a PTEN foram as Fosfatases Transmembrana com Homologia a Tensina (TPTE) e a família B56 da subunidade regulatória de PP2A. Contudo, o mecanismo de interação destas permanece desconhecido.

1.4. Proteína SET

O gene humano SET foi originalmente identificado a partir de estudos em Leucemia Indiferenciada Aguda por Von Lindern *et al.* (1992). A proteína SET (TAF-I beta ou I2PP2A), um potente e altamente seletivo inibidor de PP2A (Li *et al.*, 1996), foi identificada em altos níveis no câncer de cabeça e pescoço (Leopoldino, Squarize, Garcia, Almeida, Pestana, Sobral, *et al.*, 2012), câncer de próstata (Hu *et al.*, 2015), de mama (Janghorban *et al.*, 2014), pancreático (Farrell *et al.*, 2014) e em tumor de Wilm's (Carlson *et al.*, 1998).

Recentemente, alguns trabalhos apresentaram a regulação negativa de SET como alternativa terapêutica para diversos tipos de cânceres através do aumento de atividade de PP2A e indução de degradação de c-MYC (Mukhopadhyay *et al.*, 2013; Farrell *et al.*, 2014; Janghorban *et al.*, 2014).

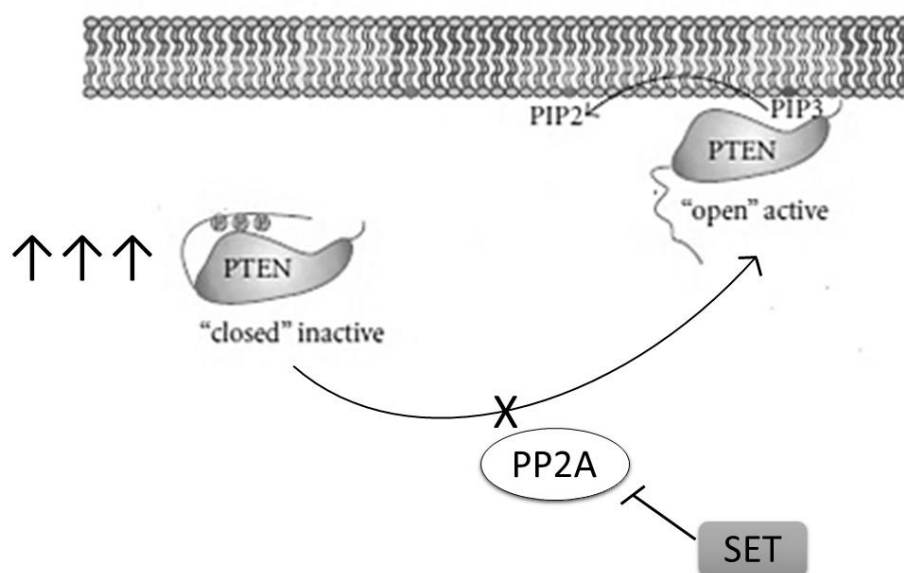
Segundo os estudos desenvolvidos, a SET aumenta a atividade de p53 através da fosforilação do resíduo S46 via p38 MAPK (Liu *et al.*, 2012). Como Akt apresenta função oposta a p53 (promove aumento da sobrevivência celular) a ativação simultânea da Akt pela SET pode conter a apoptose induzida por p53 hiperativado. Este mecanismo de regulação pode explicar a neurodegeneração crônica observada nos neurônios afetados pela Doença de Alzheimer (Liu *et al.*, 2012).

Tanimukai *et al.* (2005) mostraram que a proteína SET que apresenta peso molecular aparente de 39 kDa, pode ser clivada em um fragmento de 20 kDa (NAP) e é translocada do núcleo para o citosol de células cerebrais de pacientes com Alzheimer. O fragmento identificado nesse trabalho apresentou perda da calda C-terminal (Ácida). Uma vez no citoplasma, ambos os fragmentos NAP e Ácido interagem com PP2A e inibem sua atividade (Arnaud *et al.*, 2011).

De acordo com Ten Klooster *et al.* (2007), quando a SET está localizada na membrana plasmática ela estimula a migração celular de maneira dependente de Rac1, pois Rho GTPase Rac1 controla a adesão e a mobilidade celular, e a região C-terminal de Rac1 liga ao oncogene nuclear SET/I2PP2A translocando-o para membrana plasmática e assim induzindo a metástase

celular. Nesse trabalho foram descritos 2 importantes domínios para a proteína SET, domínio NAP, que apresenta homologia com a família NAP (Nucleosome Assembly Protein) e o domínio C-terminal ácido (Ácido). O domínio NAP se mostrou essencial para a interação com Rac1.

Nosso grupo de pesquisa encontrou a fosforilação da proteína PTEN aumentada em células superexpressando a proteína SET (Leopoldino *et al.*, 2011). Tendo em vista esse dado e as informações previamente descritas sobre os mecanismos de regulação das proteínas PTEN e SET, o estudo e a caracterização da possível interação entre as proteínas PTEN e PP2A com participação da SET pode ser um novo caminho para o entendimento dos processos de tumorigênese com alteração na via de sinalização PI3K/Akt (Figura 6).



Modificado de BONONI, *et al.*, *Enzyme Res*, V2011, 2011.

Figura 6. Esquema de inibição da via de PP2A pela SET. De acordo com dados previamente, desenvolvemos a hipótese de que ao inibir a atividade de fosfatase de PP2A, a proteína SET promove aumento nos níveis de PTEN fosforilado (modificado de Bononi, *et al.*, 2011).

1.5. PTEN e BMAL

A IARC qualifica distúrbios no ciclo circadiano como carcinógeno de Grupo 2A e vários estudos epidemiológicos demonstraram que distúrbios no ciclo circadiano podem estar relacionados ao aumento na predisposição a câncer de mama, cólon, próstata, pulmão, ovários e câncer hepático (Hansen, 2001; Schernhammer *et al.*, 2001; Conlon *et al.*, 2007; Baan *et al.*, 2009).

As oscilações características do ciclo circadiano são oriundas de loops transcricionais e pós-transcricionais autorregulatórios. O loop positivo é formado pelos fatores de transcrição BMAL1 (*Brain and muscle Arnt-like protein-1*), CLOCK e NPAS2. Os complexos BMAL1-CLOCK ou BMAL1-NPAS2 formam heterodímeros com genes membros do loop negativo, tais como os genes *Cryptochromo* (CRY) e *Period* (PER), aumentando os níveis de expressão desses genes. O acúmulo de CRY e PER permite a formação dos complexos responsáveis pela regulação negativa de BMAL1-CLOCK ou BMAL1/NPAS2 e portando autorregulando negativamente os níveis de CRY e PER. Quando os níveis de CRY e PER reduzem o suficiente, um novo ciclo de CRY e PER se inicia (Lee *et al.*, 2001) (Figura 7).

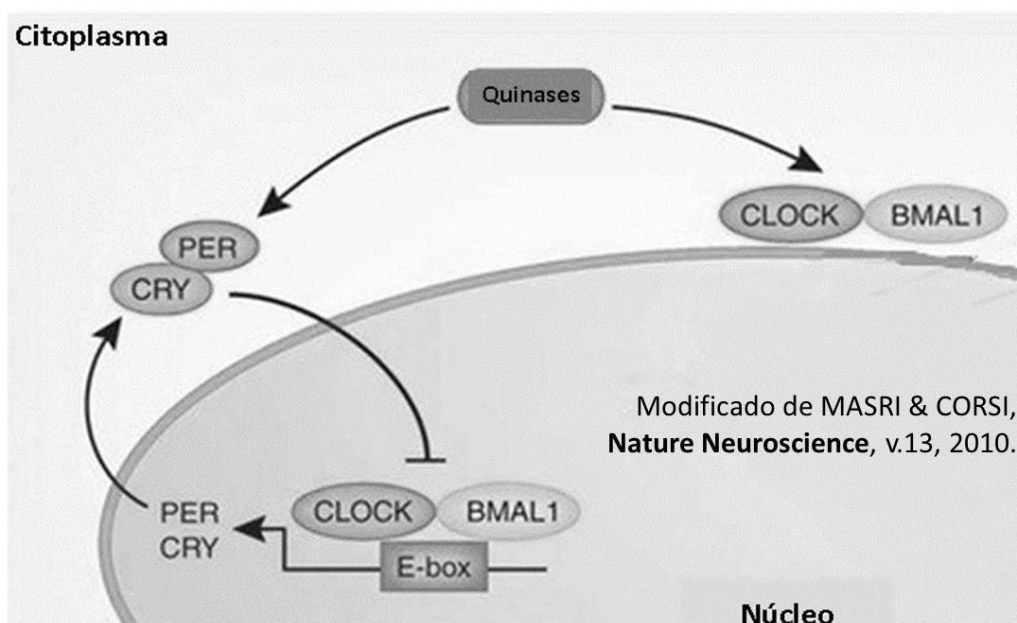


Figura 7. Esquema representativo do loop autoregulatório de CLOCK/BMAL1 e PER/CRY. No núcleo, o complexo CLOCK/BMAL1 induz a transcrição de PER e CRY que ao atingirem níveis elevados no citoplasmas podem inibir a atividade de BMAL e CLOCK no núcleo celular. Os complexos PER/CRY e CLOCK/BMAL1 podem ser regulados também por quinases que ainda não são completamente conhecidas (modificado de Masri e Sassone-Corsi, 2010).

PER2 foi proposto como supressor tumoral por Fu *et al.*, 2002) e teve sua diminuição relacionada a diversos cânceres (Chen *et al.*, 2005; Gery *et al.*, 2005; Xia *et al.*, 2010). Perturbações no funcionamento do ciclo circadiano podem ser provocadas por fatores ambientais (como o transtorno do ciclo vigília-sono) ou por mutações genéticas. Por exemplo, a inativação de Per2 induz a tumorigênese em camundongos (Fu *et al.*, 2002).

Camundongos com deleção de BMAL1 apresentam envelhecimento acelerado e redução do tempo de vida desses animais, assim como aumento nos níveis de espécies reativas de oxigênio produzidas (Kondratov *et al.*, 2006). Entretanto, ao serem tratados com rapamicina, um inibidor do complexo mTOR (Proteína Alvo da Rapamicina), apresentaram aumento da expectativa de vida, uma vez que a deleção de BMAL1 induz a ativação de mTOR e aumento no metabolismo que acelera o envelhecimento desses animais (Khapre *et al.*, 2014).

mTOR é um complexo de 6 (mTORC1) ou sete (mTORC2) proteínas que formam uma Serina/Treonina Quinase que pode ser ativada por vários componentes da via PI3K, entre elas por Akt (Laplante e Sabatini, 2012), na redução dos níveis de PTEN mTOR é altamente ativado (Xu *et al.*, 2014).

Camundongos com deleção de PTEN no tecido epitelial apresentam inúmeras lesões e o desenvolvimento de tumores na derme (K14Cre Pten^{F/F}) assim como tumores nas mamas e tireóide, os quais regredem com o controle da ativação de mTOR pelo tratamento com rapamicina (Squarize *et al.*, 2008).

7. Conclusão

2. Conclusão

Os mecanismos de regulação de PTEN estudados neste trabalho sugerem que a proteína SET e a PP2A estão envolvidas na regulação de PTEN, mas para determinar os mecanismos moleculares mais estudados precisam ser realizados.

Os resultados obtidos sugerem que a perda de função de PTEN (oxidação) assim como a sua deleção (*siRNA* e camundongos com deleção de PTEN) resulta no aumento de expressão de BMAL1 e que este efeito pôde ser revertido pelo tratamento com rapamicina em animais com knockout para PTEN e PER2. Além disso, a redução dos complexos mTOR-Raptor e mTOR-Rictor resultou na redução de BMAL1. Esses resultados sugerem que a regulação de BMAL1 pela via de PI3K/mTOR ocorre *downstream* às proteínas PTEN e mTOR.

8. Referências

3. Referências

ANG, K. et al. Impact of epidermal growth factor receptor expression on survival and pattern of relapse in patients with advanced head and neck carcinoma. **Cancer Res**, v. 62, n. 24, p. 7350-6, Dec 2002. ISSN 0008-5472. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12499279 >.

ARNAUD, L. et al. Mechanism of inhibition of PP2A activity and abnormal hyperphosphorylation of tau by I2(PP2A)/SET. **FEBS Lett**, v. 585, n. 17, p. 2653-9, Sep 2011. ISSN 1873-3468. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21806989> >.

ARNOLD, H.; SEARS, R. A tumor suppressor role for PP2A-B56alpha through negative regulation of c-Myc and other key oncoproteins. **Cancer Metastasis Rev**, v. 27, n. 2, p. 147-58, Jun 2008. ISSN 0167-7659. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=18246411 >.

AWADA, A.; LALAMI, Y. Molecular markers, molecular-targeted therapies and taxanes: how to integrate the progress into clinical research and practice for the management of head and neck cancers. **Curr Opin Oncol**, v. 17, n. 3, p. 209-11, May 2005. ISSN 1040-8746 (Print). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=15818162 >.

BAAN, R. et al. A review of human carcinogens--Part F: chemical agents and related occupations. **Lancet Oncol**, v. 10, n. 12, p. 1143-4, Dec 2009. ISSN 1474-5488. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19998521> >.

BAEZA, N. et al. PTEN methylation and expression in glioblastomas. **Acta Neuropathol**, v. 106, n. 5, p. 479-85, Nov 2003. ISSN 0001-6322. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12904991 >.

BENESH, E. C. et al. Maternal high-fat diet induces hyperproliferation and alters Pten/Akt signaling in prostates of offspring. **Sci Rep**, v. 3, p. 3466, 2013. ISSN 2045-2322. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24322661> >.

BIELER, J. et al. Robust synchronization of coupled circadian and cell cycle oscillators in single mammalian cells. **Mol Syst Biol**, v. 10, p. 739, 2014. ISSN 1744-4292. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25028488> >.

BONONI, A. et al. Protein kinases and phosphatases in the control of cell fate. **Enzyme Res**, v. 2011, p. 329098, 2011. ISSN 2090-0414. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21904669> >.

BOUKAMP, P. et al. Normal keratinization in a spontaneously immortalized aneuploid human keratinocyte cell line. **J Cell Biol**, v. 106, n. 3, p. 761-71, Mar 1988. ISSN 0021-9525. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2450098> >.

BUNNEY, T.; KATAN, M. Phosphoinositide signalling in cancer: beyond PI3K and PTEN. **Nat Rev Cancer**, v. 10, n. 5, p. 342-52, May 2010. ISSN 1474-1768. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=20414202 >.

CARDINALI, M. et al. Tyrosine phosphorylation as a marker for aberrantly regulated growth-promoting pathways in cell lines derived from head and neck malignancies. **Int J Cancer**, v. 61, n. 1, p. 98-103, Mar 1995. ISSN 0020-7136. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7705939> >.

CARLSON, S. et al. Expression of SET, an inhibitor of protein phosphatase 2A, in renal development and Wilms' tumor. **J Am Soc Nephrol**, v. 9, n. 10, p. 1873-80, Oct 1998. ISSN 1046-6673. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9773788 >.

CASTILHO, R. M. et al. Rac1 is required for epithelial stem cell function during dermal and oral mucosal wound healing but not for tissue homeostasis in mice. **PLoS One**, v. 5, n. 5, p. e10503, 2010. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20463891> >.

CHEN, S. T. et al. Deregulated expression of the PER1, PER2 and PER3 genes in breast cancers. **Carcinogenesis**, v. 26, n. 7, p. 1241-6, Jul 2005. ISSN 0143-3334. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15790588> >.

CHEN, W. et al. Identification of specific PP2A complexes involved in human cell transformation. **Cancer Cell**, v. 5, n. 2, p. 127-36, Feb 2004. ISSN 1535-6108. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=14998489 >.

CHERNOFF, J. et al. Characterization of a phosphotyrosyl protein phosphatase activity associated with a phosphoserine protein phosphatase of Mr = 95,000 from bovine heart. **J Biol Chem**, v. 258, n. 12, p. 7852-7, Jun 1983. ISSN 0021-9258. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=6305959 >.

CONLON, M.; LIGHTFOOT, N.; KREIGER, N. Rotating shift work and risk of prostate cancer. **Epidemiology**, v. 18, n. 1, p. 182-3, Jan 2007. ISSN 1044-3983. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17179764> >.

COOMBES, M. M. et al. Resetting the histone code at CDKN2A in HNSCC by inhibition of DNA methylation. **Oncogene**, v. 22, n. 55, p. 8902-11, Dec 2003. ISSN 0950-9232. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14654786> >.

CORDIER, F. et al. Ordered Phosphorylation Events in Two Independent Cascades of the PTEN C-tail Revealed by NMR. **J Am Chem Soc**, v. 134, n. 50, p. 20533-43, Dec 2012. ISSN 1520-5126. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23171049> >.

CORPET, F. Multiple sequence alignment with hierarchical clustering. **Nucleic Acids Res**, v. 16, n. 22, p. 10881-90, Nov 1988. ISSN 0305-1048. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2849754> >.

CROCKETT, D. K. et al. Analysis of phosphatase and tensin homolog tumor suppressor interacting proteins by in vitro and in silico proteomics. **Proteomics**, v. 5, n. 5, p. 1250-62, Apr 2005. ISSN 1615-9853. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15717329> >.

CULLY, M. et al. Beyond PTEN mutations: the PI3K pathway as an integrator of multiple inputs during tumorigenesis. **Nat Rev Cancer**, v. 6, n. 3, p. 184-92, Mar 2006. ISSN 1474-175X. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=16453012 >.

DAS, S.; DIXON, J. E.; CHO, W. Membrane-binding and activation mechanism of PTEN. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 100, n. 13, p. 7491-6, Jun 2003. ISSN 0027-8424. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12808147> >.

ENG, C. PTEN: one gene, many syndromes. **Hum Mutat**, v. 22, n. 3, p. 183-98, Sep 2003a. ISSN 1098-1004. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12938083 >.

_____. PTEN: one gene, many syndromes. **Hum Mutat**, v. 22, n. 3, p. 183-98, Sep 2003b. ISSN 1098-1004. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12938083 >.

Estimativa: Incidência de Câncer no Brasil. INCA/MS 2016.

FARRELL, A. S. et al. Targeting Inhibitors of the Tumor Suppressor PP2A for the Treatment of Pancreatic Cancer. 2014-06-01 2014. Disponível em: < <http://mcr.aacrjournals.org/content/12/6/924> >.

FORESTER, C. et al. Control of mitotic exit by PP2A regulation of Cdc25C and Cdk1. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 104, n. 50, p. 19867-72, Dec 2007. ISSN 1091-6490. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=18056802 >.

FOULADKOU, F. et al. The ubiquitin ligase Nedd4-1 is dispensable for the regulation of PTEN stability and localization. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 105, n. 25, p. 8585-90, Jun 2008. ISSN 1091-6490. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18562292> >.

FU, L. et al. The circadian gene Period2 plays an important role in tumor suppression and DNA damage response in vivo. **Cell**, v. 111, n. 1, p. 41-50, Oct 2002. ISSN 0092-8674. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12372299> >.

GASTEIGER, E. et al. ExPASy: The proteomics server for in-depth protein knowledge and analysis. **Nucleic Acids Res**, v. 31, n. 13, p. 3784-8, Jul 2003. ISSN 1362-4962. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12824418> >.

GERY, S. et al. Transcription profiling of C/EBP targets identifies Per2 as a gene implicated in myeloid leukemia. **Blood**, v. 106, n. 8, p. 2827-36, Oct 2005. ISSN 0006-4971. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15985538> >.

GIOANNI, J. et al. Two new human tumor cell lines derived from squamous cell carcinomas of the tongue: establishment, characterization and response to cytotoxic treatment. **Eur J Cancer Clin Oncol**, v. 24, n. 9, p. 1445-55, Sep 1988. ISSN 0277-5379. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3181269> >.

GRAHAM, F. et al. Characteristics of a human cell line transformed by DNA from human adenovirus type 5. **J Gen Virol**, v. 36, n. 1, p. 59-74, Jul 1977. ISSN 0022-1317. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=886304 >.

HANSEN, J. Increased breast cancer risk among women who work predominantly at night. **Epidemiology**, v. 12, n. 1, p. 74-7, Jan 2001. ISSN 1044-3983. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11138824> >.

HORITA, H. et al. Nuclear PTEN functions as an essential regulator of SRF-dependent transcription to control smooth muscle differentiation. **Nat Commun**, v. 7, p. 10830, 2016. ISSN 2041-1723. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26940659> >.

HU, X. et al. Inhibition of Pten deficient Castration Resistant Prostate Cancer by Targeting of the SET - PP2A Signaling axis. **Scientific Reports, Published online: 13 November 2015; | doi:10.1038/srep15182**, 2015-09-15 2015. Disponível em: < <http://www.nature.com/articles/srep15182> >.

JACOB, A. I. et al. Nuclear PTEN levels and G2 progression in melanoma cells. **Melanoma Res**, v. 19, n. 4, p. 203-10, Aug 2009. ISSN 1473-5636. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19478684> >.

JANGHORBAN, M. et al. Targeting c-MYC by antagonizing PP2A inhibitors in breast cancer. 2014-06-24 2014. Disponível em: < <http://www.pnas.org/content/111/25/9157> >.

JANSSENS, V.; GORIS, J. Protein phosphatase 2A: a highly regulated family of serine/threonine phosphatases implicated in cell growth and signalling. **Biochem J**, v. 353, n. Pt 3, p. 417-39, Feb 2001. ISSN 0264-6021. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11171037 >.

JIANG, B.; LIU, L. PI3K/PTEN signaling in angiogenesis and tumorigenesis. **Adv Cancer Res**, v. 102, p. 19-65, 2009. ISSN 0065-230X. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=19595306 >.

KENIRY, M.; PARSONS, R. The role of PTEN signaling perturbations in cancer and in targeted therapy. **Oncogene**, v. 27, n. 41, p. 5477-85, Sep 2008. ISSN 1476-5594. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18794882> >.

KHAPRE, R. V. et al. BMAL1-dependent regulation of the mTOR signaling pathway delays aging. **Aging (Albany NY)**, v. 6, n. 1, p. 48-57, Jan 2014. ISSN 1945-4589. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24481314> >.

KIM, D. W. et al. Negative regulation of neuronal cell differentiation by INHAT subunit SET/TAF-I β . **Biochem Biophys Res Commun**, v. 400, n. 3, p. 419-25, Sep 2010. ISSN 1090-2104. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20800572> >.

KITAGISHI, Y.; MATSUDA, S. Redox regulation of tumor suppressor PTEN in cancer and aging (Review). **Int J Mol Med**, v. 31, n. 3, p. 511-5, Mar 2013. ISSN 1791-244X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23313933> >.

KLEIN, J. D.; GRANDIS, J. R. The molecular pathogenesis of head and neck cancer. **Cancer Biol Ther**, v. 9, n. 1, p. 1-7, Jan 2010. ISSN 1538-4047 (Print)1555-8576 (Electronic). Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

KONDRATOV, R. V. et al. Early aging and age-related pathologies in mice deficient in BMAL1, the core component of the circadian clock. **Genes Dev**, v. 20, n. 14, p. 1868-73, Jul 2006. ISSN 0890-9369. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16847346> >.

KUO, Y. et al. Regulation of phosphorylation of Thr-308 of Akt, cell proliferation, and survival by the B55alpha regulatory subunit targeting of the protein phosphatase 2A holoenzyme to Akt. **J Biol Chem**, v. 283, n. 4, p. 1882-92, Jan 2008a. ISSN 0021-9258. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=18042541 >.

_____. Regulation of phosphorylation of Thr-308 of Akt, cell proliferation, and survival by the B55alpha regulatory subunit targeting of the protein phosphatase 2A holoenzyme to Akt. **J Biol Chem**, v. 283, n. 4, p. 1882-92, Jan 2008b. ISSN 0021-9258. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=18042541 >.

KURASAWA, Y. et al. PTEN expression and methylation status in oral squamous cell carcinoma. **Oncol Rep**, v. 19, n. 6, p. 1429-34, Jun 2008. ISSN 1021-335X. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=18497947 >.

LAPLANTE, M.; SABATINI, D. M. mTOR signaling in growth control and disease. **Cell**, v. 149, n. 2, p. 274-93, Apr 2012. ISSN 1097-4172. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22500797> >.

LEE, C. et al. Posttranslational mechanisms regulate the mammalian circadian clock. **Cell**, v. 107, n. 7, p. 855-67, Dec 2001. ISSN 0092-8674. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11779462> >.

LEE, S. R. et al. Reversible inactivation of the tumor suppressor PTEN by H₂O₂. **J Biol Chem**, v. 277, n. 23, p. 20336-42, Jun 2002. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11916965> >.

LEEMANS, C. R.; BRAAKHUIS, B. J.; BRAKENHOFF, R. H. The molecular biology of head and neck cancer. **Nat Rev Cancer**, v. 11, n. 1, p. 9-22, Jan 2011. ISSN 1474-1768. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21160525> >.

LEOPOLDINO, A. M. et al. Accumulation of the SET protein in HEK293T cells and mild oxidative stress: cell survival or death signaling. **Mol Cell Biochem**, Dec 2011a. ISSN 1573-4919. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22143534> >.

_____. Accumulation of the SET protein in HEK293T cells and mild oxidative stress: cell survival or death signaling. **Mol Cell Biochem**, Dec 2011b. ISSN 1573-4919. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22143534> >.

_____. Accumulation of the SET protein in HEK293T cells and mild oxidative stress: cell survival or death signaling. **Mol Cell Biochem**, v. 363, n. 1-2, p. 65-74, Apr 2012. ISSN 1573-4919. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22143534> >.

_____. SET protein accumulates in HNSCC and contributes to cell survival: antioxidant defense, Akt phosphorylation and AVOs acidification. **Oral Oncol**, v. 48, n. 11, p. 1106-13, Nov 2012. ISSN 1368-8375. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22739068> >.

LESLIE, N. R. et al. Understanding PTEN regulation: PIP₂, polarity and protein stability. **Oncogene**, v. 27, n. 41, p. 5464-76, Sep 2008. ISSN 1476-5594. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18794881> >.

LI, J. et al. PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer. **Science**, v. 275, n. 5308, p. 1943-7, Mar 1997a. ISSN 0036-8075. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9072974 >.

_____. PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer. **Science**, v. 275, n. 5308, p. 1943-7, Mar 1997b. ISSN 0036-8075. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9072974 >.

LI, M.; MAKKINJE, A.; DAMUNI, Z. The myeloid leukemia-associated protein SET is a potent inhibitor of protein phosphatase 2A. **J Biol Chem**, v. 271, n. 19, p. 11059-62, May 1996. ISSN 0021-9258. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8626647 >.

LIGRESTI, G. et al. PIK3CA mutations in human solid tumors: role in sensitivity to various therapeutic approaches. **Cell Cycle**, v. 8, n. 9, p. 1352-8, May 2009. ISSN 1551-4005. Disponível em: <

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=19305151 >.

LIM, S.; CLÉMENT, M. V. Phosphorylation of the survival kinase Akt by superoxide is dependent on an ascorbate-reversible oxidation of PTEN. **Free Radic Biol Med**, v. 42, n. 8, p. 1178-92, Apr 2007. ISSN 0891-5849. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17382199> >.

LIU, F. et al. PTEN enters the nucleus by diffusion. **J Cell Biochem**, v. 96, n. 2, p. 221-34, Oct 2005a. ISSN 0730-2312. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=16088943 >.

_____. PTEN enters the nucleus by diffusion. **J Cell Biochem**, v. 96, n. 2, p. 221-34, Oct 2005b. ISSN 0730-2312. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=16088943 >.

LIU, G. P. et al. I(2)(PP2A) regulates p53 and Akt correlatively and leads the neurons to abort apoptosis. **Neurobiol Aging**, v. 33, n. 2, p. 254-64, Feb 2012. ISSN 1558-1497. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20138402> >.

MA, J. et al. Negative regulation of Pim-1 protein kinase levels by the B56beta subunit of PP2A. **Oncogene**, v. 26, n. 35, p. 5145-53, Aug 2007. ISSN 0950-9232. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=17297438 >.

MACCARIO, H. et al. PTEN is destabilized by phosphorylation on Thr366. **Biochem J**, v. 405, n. 3, p. 439-44, Aug 2007. ISSN 1470-8728. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17444818> >.

MAEHAMA, T.; DIXON, J. The tumor suppressor, PTEN/MMAC1, dephosphorylates the lipid second messenger, phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate. **J Biol Chem**, v. 273, n. 22, p. 13375-8, May 1998. ISSN 0021-9258. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9593664 >.

MASRI, S.; SASSONE-CORSI, P. Plasticity and specificity of the circadian epigenome. **Nat Neurosci**, v. 13, n. 11, p. 1324-9, Nov 2010. ISSN 1546-1726. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20975756> >.

MCCUBREY, J. A. et al. GSK-3 as potential target for therapeutic intervention in cancer. **Oncotarget**, v. 5, n. 10, p. 2881-911, May 2014. ISSN 1949-2553. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24931005> >.

MEHENNI, H. et al. LKB1 interacts with and phosphorylates PTEN: a functional link between two proteins involved in cancer predisposing syndromes. **Hum Mol Genet**, v. 14, n. 15, p. 2209-19, Aug 2005. ISSN 0964-6906. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15987703> >.

MISTAFA, O. et al. Purinergic receptor-mediated rapid depletion of nuclear phosphorylated Akt depends on pleckstrin homology domain leucine-rich repeat phosphatase, calcineurin, protein phosphatase 2A, and PTEN phosphatases. **J Biol Chem**, v. 285, n. 36, p. 27900-10, Sep 2010. ISSN 1083-351X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20605778> >.

MORGULIS, A. et al. Database indexing for production MegaBLAST searches. 2008-08-15 2008. Disponível em: < <http://bioinformatics.oxfordjournals.org/content/24/16/1757.long> >.

MORRIS, L.; VEERIAH, S.; CHAN, T. Genetic determinants at the interface of cancer and neurodegenerative disease. **Oncogene**, v. 29, n. 24, p. 3453-64, Jun 2010. ISSN 1476-5594. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=20418918 >.

MUKHOPADHYAY, A. et al. Direct interaction between the inhibitor 2 and ceramide via sphingolipid-protein binding is involved in the regulation of protein phosphatase 2A activity and signaling. **FASEB J**, v. 23, n. 3, p. 751-63, Mar 2009. ISSN 1530-6860. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19028839> >.

_____. Targeting inhibitor 2 of protein phosphatase 2A as a therapeutic strategy for prostate cancer treatment. <http://dx.doi.org/10.4161/cbt.25943>, 2013-08-05 2013. Disponível em: < <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.4161/cbt.25943> >.

MUMBY, M. PP2A: unveiling a reluctant tumor suppressor. **Cell**, v. 130, n. 1, p. 21-4, Jul 2007a. ISSN 0092-8674. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=17632053 >.

_____. PP2A: unveiling a reluctant tumor suppressor. **Cell**, v. 130, n. 1, p. 21-4, Jul 2007b. ISSN 0092-8674. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=17632053 >.

NHO, R. S.; KAHM, J. beta1-Integrin-collagen interaction suppresses FoxO3a by the coordination of Akt and PP2A. **J Biol Chem**, v. 285, n. 19, p. 14195-209, May 2010. ISSN 1083-351X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20223831> >.

ODRIOZOLA, L. et al. Regulation of PTEN activity by its carboxyl-terminal autoinhibitory domain. **J Biol Chem**, v. 282, n. 32, p. 23306-15, Aug 2007. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17565999> >.

OHGAKI, H.; KLEIHUES, P. Genetic alterations and signaling pathways in the evolution of gliomas. **Cancer Sci**, v. 100, n. 12, p. 2235-41, Dec 2009. ISSN 1349-7006. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=19737147 >.

PEDRERO, J. et al. Frequent genetic and biochemical alterations of the PI 3-K/AKT/PTEN pathway in head and neck squamous cell carcinoma. **Int J Cancer**, v. 114, n. 2, p. 242-8, Mar 2005. ISSN 0020-7136. Disponível em: <

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=15543611 >.

PLANCHON, S. M.; WAITE, K. A.; ENG, C. The nuclear affairs of PTEN. **J Cell Sci**, v. 121, n. Pt 3, p. 249-53, Feb 2008. ISSN 0021-9533. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18216329> >.

RAHDAR, M. et al. A phosphorylation-dependent intramolecular interaction regulates the membrane association and activity of the tumor suppressor PTEN. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 106, n. 2, p. 480-5, Jan 2009. ISSN 1091-6490. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19114656> >.

REDDY, P. et al. Oocyte-specific deletion of Pten causes premature activation of the primordial follicle pool. **Science**, v. 319, n. 5863, p. 611-3, Feb 2008. ISSN 1095-9203. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18239123> >.

RUVOLO, P. et al. A functional role for the B56 alpha-subunit of protein phosphatase 2A in ceramide-mediated regulation of Bcl2 phosphorylation status and function. **J Biol Chem**, v. 277, n. 25, p. 22847-52, Jun 2002. ISSN 0021-9258. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11929874 >.

SAIKI, R. K. et al. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. **Science**, v. 230, n. 4732, p. 1350-4, Dec 1985. ISSN 0036-8075. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2999980> >.

SANGER, F.; NICKLEN, S.; COULSON, A. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 74, n. 12, p. 5463-7, Dec 1977. ISSN 0027-8424. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=271968 >.

SCHERER, W. F.; SYVERTON, J. T.; GEY, G. O. Studies on the propagation in vitro of poliomyelitis viruses. IV. Viral multiplication in a stable strain of human malignant epithelial cells (strain HeLa) derived from an epidermoid carcinoma of the cervix. **J Exp Med**, v. 97, n. 5, p. 695-710, May 1953. ISSN 0022-1007. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13052828> >.

SCHERNHAMMER, E. S. et al. Rotating night shifts and risk of breast cancer in women participating in the nurses' health study. **J Natl Cancer Inst**, v. 93, n. 20, p. 1563-8, Oct 2001. ISSN 0027-8874. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11604480> >.

SEELING, J. et al. Regulation of beta-catenin signaling by the B56 subunit of protein phosphatase 2A. **Science**, v. 283, n. 5410, p. 2089-91, Mar 1999. ISSN 0036-8075. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10092233 >.

SEO, S. B. et al. Regulation of histone acetylation and transcription by INHAT, a human cellular complex containing the set oncoprotein. **Cell**, v. 104, n. 1, p. 119-30, Jan 2001a. ISSN 0092-8674. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11163245> >.

_____. Regulation of histone acetylation and transcription by INHAT, a human cellular complex containing the set oncoprotein. **Cell**, v. 104, n. 1, p. 119-30, Jan 2001b. ISSN 0092-8674. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11163245> >.

SHARRARD, R.; MAITLAND, N. Alternative splicing of the human PTEN/MMAC1/TEP1 gene. **Biochim Biophys Acta**, v. 1494, n. 3, p. 282-5, Dec 2000. ISSN 0006-3002. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11121587 >.

SHEN, W. H. et al. Essential role for nuclear PTEN in maintaining chromosomal integrity. **Cell**, v. 128, n. 1, p. 157-70, Jan 2007. ISSN 0092-8674. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17218262> >.

SINGH, G.; CHAN, A. M. Post-translational modifications of PTEN and their potential therapeutic implications. **Curr Cancer Drug Targets**, v. 11, n. 5, p. 536-47, Jun 2011. ISSN 1873-5576. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21486223> >.

SONG, M. S. et al. Nuclear PTEN regulates the APC-CDH1 tumor-suppressive complex in a phosphatase-independent manner. **Cell**, v. 144, n. 2, p. 187-99, Jan 2011. ISSN 1097-4172. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21241890> >.

SQUARIZE, C.; CASTILHO, R.; SANTOS PINTO, D. J. Immunohistochemical evidence of PTEN in oral squamous cell carcinoma and its correlation with the histological malignancy grading system. **J Oral Pathol Med**, v. 31, n. 7, p. 379-84, Aug 2002. ISSN 0904-2512. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12224530 >.

SQUARIZE, C. H. et al. Accelerated wound healing by mTOR activation in genetically defined mouse models. **PLoS One**, v. 5, n. 5, p. e10643, 2010. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20498714> >.

SQUARIZE, C. H.; CASTILHO, R. M.; GUTKIND, J. S. Chemoprevention and treatment of experimental Cowden's disease by mTOR inhibition with rapamycin. **Cancer Res**, v. 68, n. 17, p. 7066-72, Sep 2008. ISSN 1538-7445. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18757421> >.

STAMBOLIC, V. et al. Negative regulation of PKB/Akt-dependent cell survival by the tumor suppressor PTEN. **Cell**, v. 95, n. 1, p. 29-39, Oct 1998. ISSN 0092-8674. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9778245 >.

STECK, P. et al. Identification of a candidate tumour suppressor gene, MMAC1, at chromosome 10q23.3 that is mutated in multiple advanced cancers. **Nat Genet**, v. 15, n. 4, p. 356-62, Apr 1997. ISSN 1061-4036. Disponível em: <

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9090379 >.

STRANSKY, N. et al. The mutational landscape of head and neck squamous cell carcinoma. **Science**, v. 333, n. 6046, p. 1157-60, Aug 2011. ISSN 1095-9203. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21798893> >.

TANIMUKAI, H.; GRUNDKE-IQBAL, I.; IQBAL, K. Up-regulation of inhibitors of protein phosphatase-2A in Alzheimer's disease. **Am J Pathol**, v. 166, n. 6, p. 1761-71, Jun 2005. ISSN 0002-9440. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15920161> >.

TEN KLOOSTER, J. et al. Rac1-induced cell migration requires membrane recruitment of the nuclear oncogene SET. **EMBO J**, v. 26, n. 2, p. 336-45, Jan 2007. ISSN 0261-4189. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=17245428 >.

TROTMAN, L. C. et al. Ubiquitination regulates PTEN nuclear import and tumor suppression. **Cell**, v. 128, n. 1, p. 141-56, Jan 2007. ISSN 0092-8674. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17218261> >.

VAZQUEZ, F. et al. Phosphorylation of the PTEN tail regulates protein stability and function. **Mol Cell Biol**, v. 20, n. 14, p. 5010-8, Jul 2000a. ISSN 0270-7306. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10866658 >.

_____. Phosphorylation of the PTEN tail regulates protein stability and function. **Mol Cell Biol**, v. 20, n. 14, p. 5010-8, Jul 2000b. ISSN 0270-7306. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10866658 >.

VON LINDERN, M. et al. Characterization of the translocation breakpoint sequences of two DEK-CAN fusion genes present in t(6;9) acute myeloid leukemia and a SET-CAN fusion gene found in a case of acute undifferentiated leukemia. **Genes Chromosomes Cancer**, v. 5, n. 3, p. 227-34, Oct 1992. ISSN 1045-2257. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=1384675 >.

WANG, W. et al. The acetylation of transcription factor HBP1 by p300/CBP enhances p16INK4A expression. **Nucleic Acids Res**, v. 40, n. 3, p. 981-95, Feb 2012. ISSN 1362-4962. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21967847> >.

WANG, X. et al. YY1 restrained cell senescence through repressing the transcription of p16. **Biochim Biophys Acta**, v. 1783, n. 10, p. 1876-83, Oct 2008. ISSN 0006-3002. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18558095> >.

World Cancer Report 2014. STEWART, B. A. W., CP. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer 2014.

XIA, H. C. et al. Deregulated expression of the Per1 and Per2 in human gliomas. **Can J Neurol Sci**, v. 37, n. 3, p. 365-70, May 2010. ISSN 0317-1671. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20481271> >.

XU, D. et al. Regulation of PTEN stability and activity by Plk3. **J Biol Chem**, v. 285, n. 51, p. 39935-42, Dec 2010. ISSN 1083-351X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20940307> >.

XU, J. et al. The molecular mechanism underlying morphine-induced Akt activation: roles of protein phosphatases and reactive oxygen species. **Cell Biochem Biophys**, v. 61, n. 2, p. 303-11, Nov 2011a. ISSN 1559-0283. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21626435> >.

_____. The molecular mechanism underlying morphine-induced Akt activation: roles of protein phosphatases and reactive oxygen species. **Cell Biochem Biophys**, v. 61, n. 2, p. 303-11, Nov 2011b. ISSN 1559-0283. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21626435> >.

XU, X. et al. Inhibition of mammalian target of rapamycin with rapamycin reverses hypertrophic cardiomyopathy in mice with cardiomyocyte-specific knockout of PTEN. **Hypertension**, v. 63, n. 4, p. 729-39, Apr 2014. ISSN 1524-4563. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24446058> >.

YEUDALL, W. A. et al. MTS1/CDK4I is altered in cell lines derived from primary and metastatic oral squamous cell carcinoma. **Carcinogenesis**, v. 15, n. 12, p. 2683-6, Dec 1994. ISSN 0143-3334. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8001221> >.

YU, U. Y.; YOO, B. C.; AHN, J. H. Regulatory B Subunits of Protein Phosphatase 2A Are Involved in Site-specific Regulation of Tau Protein Phosphorylation. **Korean J Physiol Pharmacol**, v. 18, n. 2, p. 155-61, Apr 2014. ISSN 1226-4512. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24757378> >.