

Estudo da Expressão Imuno-Histoquímica da Wnt-5a em Displasias Epiteliais Bucais

Immunohistochemical Study of Wnt-5a Expression in Oral Epithelial Dysplasias

Allan Ulisses Carvalho de Melo^I | Cyntia Ferreira Ribeiro^{II} | Thiago de Santana Santos^{III} | Flávia Caló de Aquino Xavier^V | Marize Raquel Diniz da Rosa^V | Luciana Maria Pedreira Ramalho^{VI}

RESUMO

Alterações na expressão das proteínas Wnt no carcinoma espinocelular bucal, permitiram a construção de hipóteses sobre o papel da Wnt-5a em distúrbios potencialmente malignos. Objetivo: Avaliar a expressão imuno-histoquímica da proteína Wnt-5a em displasias epiteliais bucais. Metodologia: Foram analisados 18 casos de displasia epitelial bucal e 05 casos de tecido bucal sadio oriundos do Serviço de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia da UFBA. A expressão da Wnt-5a foi avaliada de acordo com a localização celular (membranoso, citoplasmático e/ou nuclear) e o índice de marcação estabelecendo-se a intensidade de expressão (ausente, fraca, moderada e forte). Resultados: Não houve maior prevalência entre os gêneros, sendo que a maioria dos pacientes encontrava-se na faixa etária entre 20 e 49 anos (50%). Não houve casos de displasia severa, sendo a maior parte de displasia leve (72,2%). A expressão da proteína Wnt-5a aconteceu principalmente como citoplasmática/nuclear, com a intensidade forte sendo a mais prevalente. Conclusão: O aumento da imuno-expressão da proteína Wnt-5a, observadas nas displasias epiteliais bucais, difere significativamente do padrão da mucosa bucal normal e denota a mudança fenotípica das células epiteliais como parte dos eventos precursores da carcinogênese bucal. Não foi possível verificar a relação entre graduação histológica da displasia epitelial bucal e expressão da Wnt-5a.

Descritores: Imuno-histoquímica; Proteínas; Epitélio.

ABSTRACT

Introduction: Changes in the expression of Wnt proteins in oral squamous cell carcinoma allowed the construction of hypothesis about the role of Wnt-5a in potential malignant disorders. Objective: To evaluate the immunohistochemistry expression of the protein wnt-5a in oral epithelial dysplasia. Method: It was analyzed 18 cases of oral epithelial dysplasia from the Department of Oral Pathology, School of Dentistry (UFBA). The expression of Wnt-5a protein was evaluated as membranous, cytoplasmatic and/or nuclear. The labeling index established the intensity of expression (absent, low, moderate and strong). Results: There was no gender prevalence, being the majority of patients aged between 20 and 49 years (50%). There were no cases of severe dysplasia and mostly was mild dysplasia (72.2%). The cytoplasmic / nuclear expression

I Doutor em Estomatologia pela Universidade Federal da Paraíba. Professor Doutor Titular da Faculdade de Ciências Humanas e Sociais (AGES), Paripiranga/BA, Brasil.

II Doutora em Odontologia (Prótese Dentária) pela Universidade de Taubaté. Professora Doutora Titular da Faculdade de Ciências Humanas e Sociais (AGES), Paripiranga/BA, Brasil.

III Mestre em Cirurgia e Traumatologia Buco Maxilo Facial pela Faculdade de Odontologia de Pernambuco (FOP-UPE). Programa de Pós-Graduação em Odontologia (Doutorado), Universidade de São Paulo, Brasil

IV Pós-Doutora em Patologia Bucal pela Universidade de São Paulo. Professora Adjunta da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador/BA, Brasil

V Doutora em Odontopediatria pela Faculdade de Odontologia de Pernambuco (FOP-UPE). Professora Associada da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Disciplina de Patologia Oral e Maxilofacial.

VI Doutora em Estomatologia pela Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Professora Associada do Departamento de Propedêutica e Clínica Odontológica da Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador/BA, Brasil

of Wnt-5a was the most frequent, with the strong intensity being the most prevalent. Conclusion: The increased immuno-expression of the protein Wnt-5a observed in oral epithelial dysplasias, differ significantly from the normal pattern of healthy oral mucosa and shows a phenotypic change of epithelial cells as part of the events precursors of oral carcinogenesis. It was not possible to verify the relation between histological grading of oral epithelial dysplasia and expression of Wnt-5a.

Descriptors: Immunohistochemistry; Proteins; Epithelium

INTRODUÇÃO

Diversas pesquisas têm se voltado para o estudo das bases moleculares da carcinogênese, inclusive na tentativa de se estabelecer uma técnica laboratorial capaz de indicar quais desordens potencialmente malignas possuiriam real capacidade de transformação maligna, sendo a perda de adesividade celular uma das características avaliadas¹⁻⁴.

Para a plena formação e funcionamento do organismo é necessária a comunicação celular e para tanto são necessárias moléculas sinalizadoras extracelulares e sistemas protéicos que vão desde receptores de superfície celular até proteínas sinalizadoras intracelulares. Algumas das rotas de sinalização são dependentes de proteólise regulada, dentre as quais encontra-se a ativada por glicoproteínas hidrofóbicas chamadas Wnt, que são moléculas sinalizadoras fortemente relacionadas com a β -catenina, que está envolvida com a perda de adesividade celular^{5,6}.

Alterações na expressão das proteínas Wnt em células cancerosas de diversos tecidos e órgãos, inclusive no carcinoma espinocelular bucal, permitem a construção de hipóteses sobre o papel da Wnt em lesões cancerizáveis⁷⁻¹².

Nos vertebrados são conhecidos pelo menos 19 genes Wnt. Até o momento, foram descritas quatro vias de sinalização Wnt nos mamíferos que são classificadas como vias canônica (Wnt/ β -catenina) ou não-canônica¹³⁻¹⁵.

A proteína Wnt-5a foi classificada como um ligante não-canônico visto que está associada geralmente com a via de sinalização não-canônica,

sendo que a Wnt 4 e Wnt 11 também fazem parte desta via. Os efeitos da Wnt-5a na migração, invasão e angiogênese de tecidos adultos são importantes tanto para a homeostase da reparação tecidual como para a progressão do câncer⁷.

Estudos apontam ao menos duas funções da proteína Wnt-5a: regular a migração celular e as vias de sinalização envolvendo a β -catenina. Segundo Pukrop, Binder⁷ (2008) existem fortes evidências de que a Wnt-5a possui propriedades oncogênicas e está envolvida no desenvolvimento do câncer na fase de iniciação e principalmente na progressão, entretanto, também pode agir como supressor de tumor. Seu papel como promotor ou supressor depende do contexto individual inter e intra-celular, baseado na presença de receptores, inibidores e na interação entre diferentes tipos celulares (fibroblastos, linfócitos, macrófagos, entre outros) e substâncias da matriz extra-celular.

A sinalização da Wnt tem recebido atenção considerável nas pesquisas de câncer nos últimos anos devido a muitos de seus componentes desempenharem importantes funções na carcinogênese. O papel do Wnt-5a tem sido verificado em relação a carcinomas de diversos sítios anatômicos como fígado, mama, tireóide e pâncreas, bem como em outras formas de câncer com melanoma¹⁶⁻²¹.

Uraguchi et al.¹² observaram que o CEC da cavidade oral expressa 11 membros dos 19 existentes da família Wnt (3, 3a, 4, 5a, 5b, 6, 7a, 7b, 10b, 11 e 14), além de um grupo de sinais de ativação, sugerindo que esses sinais sejam predominantemente ativados em células de carcinoma na porção

tumoral invasiva.

Ishida et al.³ avaliaram a expressão de diversos marcadores (β -catenina, Wnt3, Wnt-5a, Wnt-7a, Ciclina D1 e c-myc) em epitélio bucal normal (n=6), em leucoplasias bucais com displasias (n=12) e sem displasia (n=17), bem como em carcinomas espinocelulares bucais (n=15). Encontraram Wnt-5a em tecido normal, leucoplásico e em carcinomas espinocelulares.

Diante destas informações, o presente estudo teve como objetivo analisar a expressão imunohistoquímica da Wnt-5a em displasias epiteliais bucais com vistas ao melhor entendimento da carcinogênese bucal.

METODOLOGIA

A amostra consistiu de peças oriundas de biópsias excisionais ou incisionais com diagnóstico histopatológico de displasia epitelial bucal e peças de tecido normal, dos arquivos do Laboratório de Anatomia Patológica da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Bahia. As peças de tecido normal eram da região de trígono retromolar de terceiros molares inclusos ou semi-inclusos.

Foram recuperados os blocos de parafina correspondentes às lesões das quais foram obtidos cortes histológicos de 5 μ m de espessura e processados rotineiramente para a coloração por Hematoxilina/Eosina (HE). As lâminas coradas por HE foram avaliadas por uma única examinadora e as lesões foram graduadas como displasia leve, moderada ou severa, de acordo com os critérios da Organização Mundial da Saúde²².

Nos mesmos blocos de parafina utilizados para fazer a gradação histológica de displasia em HE, foram processados cortes de cinco μ m de espessura para a coloração imuno-histoquímica. Os cortes histológicos foram estendidos em lâminas carregadas positivamente (Immunoslide, EasyPath) processadas pelo método da estreptavidina-biotina.

Em seguida, foram realizados os procedimentos para recuperação antigênica, bloqueio da peroxidase endógena e incubação para a marcação do anticorpo monoclonal β -catenina e Wnt-5a.

Para a quantificação das marcações positivas de cada anticorpo, foi utilizado um microscópio óptico binocular na objetiva de 40x. Nele estava acoplada câmera digital que permitiu a captura das imagens posteriormente transferidas a um computador no qual estava instalado o software IMAGELAB (Sistema de Processamento e Análise de Imagem) que possibilitou a contagem celular.

A seleção dos campos, dentro de cada zona analisada, foi feita da esquerda para a direita da lâmina, de baixo para cima até que fossem contabilizadas no mínimo 1000 células. Assim como Ishida et al.³, foram considerados positivos os casos nos quais pelo menos 10% das células apresentaram marcação positiva.

O padrão de expressão da proteína β -catenina e do Wnt-5a foi avaliado de acordo com a localização celular da imunomarcação podendo ser membranoso, citoplasmático e/ou nuclear, sendo considerado da seguinte forma: (1) padrão membranoso, quando a imunoreatividade estava presente na membrana de pelo menos 10% das células; (2) padrão citoplasmático, quando a imunoreatividade estava presente no citoplasma de pelo menos 10% das células e (3) padrão nuclear, quando a imunoreatividade estava presente no núcleo de pelo menos 10% das células. Tal avaliação foi feita por dois examinadores (orientador e orientando) em dois momentos distintos. Primeiro avaliaram de forma separada e depois numa segunda avaliação entraram num consenso quanto aos casos nos quais a primeira classificação foi discordante.

Também foi calculado um índice de marcação dividindo-se o número de células positivas pelo número total de células contadas estabelecendo-se a seguinte classificação de intensidade de expressão: ausente (expressão em menos de 10%); fraca (expressão em 10-30% das

células); moderada (expressão em 31-74% das células) e forte (expressão em 75% ou mais das células).

RESULTADOS

Em relação ao número de casos de displasia bucal analisados ($n=18$), houve 50% (09/18) de pacientes do sexo feminino e as idades dos pacientes variaram entre 24 e 78 anos, com média de 51,6 anos, sendo a faixa etária preponderante aquela situada entre 20 e 49 anos ($n=09$, 50,0%). Mais de um terço das biópsias foram feitas em lesões localizadas no palato ($n=07$; 38,9%). Não houve casos de displasia severa, sendo a maior parte de displasia leve ($n=13$, 72,2%).

Quase todas as amostras de tecido bucal normal ($n=5$) apresentaram um padrão de expressão negativo para Wnt-5a, com exceção de apenas uma, cujo padrão foi citoplasmático. Essa expressão da Wnt-5a em tecido bucal sadio pode ser visualizada na figura 1.

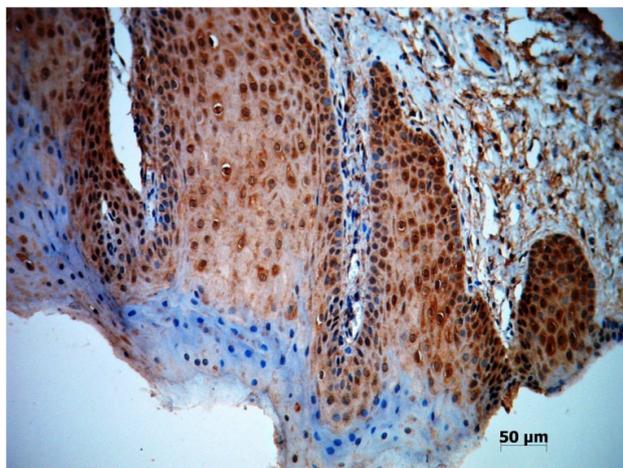


Figura 1 - Fotomicrografia de tecido bucal normal (amostra 4). Expressão imunohistoquímica da Wnt-5a demonstrando um padrão citoplasmático em aumento de 40X.

A expressão da proteína Wnt-5a aconteceu principalmente como citoplasmática/nuclear, sendo que a intensidade forte prevaleceu. Os dados relacionados à expressão da Wnt-5a em displasias epiteliais bucais estão descritos na tabela 1 e podem ser visualizados na figura 2.

Os padrões de expressão da Wnt-5a na mucosa bucal normal e displásica estão presentes na tabela 2.

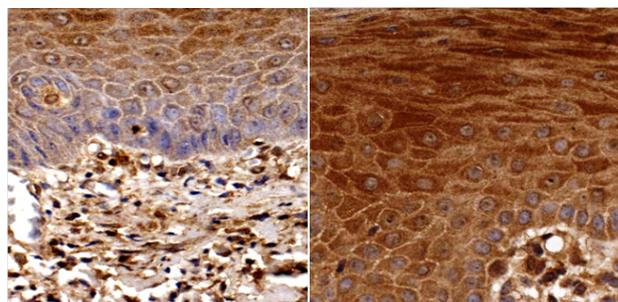
Houve uma diferença entre o padrão de expressão do Wnt-5a em tecido bucal sadio e em displasia epitelial bucal, visto que neste último verificou-se a existência do padrão citoplasmático e/ou nuclear.

Nas displasias leves e moderadas da presente pesquisa, não houve expressão membranosa da Wnt-5a, seja de modo exclusivo ou em adição a outros padrões. Os padrões de expressão, exclusivamente citoplasmático ($n=6$; 33,3%) e citoplasmático/nuclear ($n=7$; 38,8%) foram observados quase que na mesma frequência.

A ausência de expressão da Wnt-5a ($n=5$, 27,7%), bem como o padrão citoplasmático/nuclear ($n=7$, 38,8%) ocorreram principalmente nas displasias leves. O componente de expressão citoplasmático esteve presente em quase toda a amostra ($n=13$; 72,2%). A expressão exclusivamente citoplasmática foi detectada na mesma frequência ($n=3$) nas displasias leves e moderadas.

Entre as displasias leves ($n=13$) e moderadas ($n=5$) o componente de expressão mais prevalente foi o citoplasmático apresentando-se em nove (69,2%) e quatro casos (80%), respectivamente.

A



B

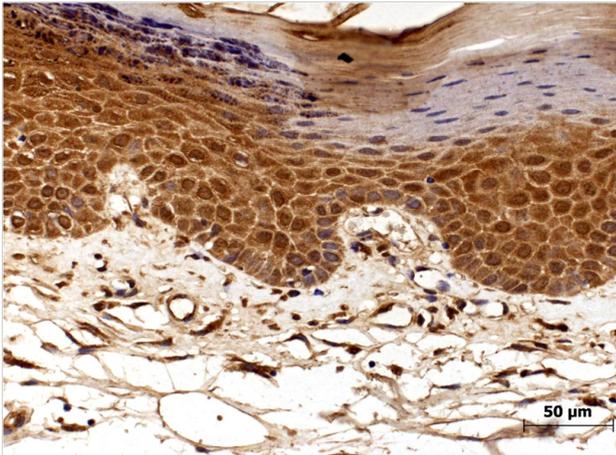


Figura 2- Fotomicrografias de displasias epiteliais bucais leves. Expressão imunohistoquímica da Wnt-5a demonstrando um padrão citoplasmático em aumento de 40X (A) e um padrão citoplasmático e nuclear em aumento de 40X (B).

Tabela 1 – Padrão e intensidade da expressão da Wnt-5a em displasias epiteliais bucais.

Caso	Displasia	Expressão Wnt-5a				
		Padrão	Posit	Negat	IM	Intens
45/05	Leve	C	1069	08	99,3%	Forte
83/05	Leve	C / N	1154	11	99,1%	Forte
87/02	Leve	C	1101	10	99,1%	Forte
102/04	Leve	Negativa	---	---	---	Ausente
137/04	Leve	Negativa	---	---	---	Ausente
138/02	Moderada	C	1151	00	100%	Forte
140/05	Leve	C	1086	12	98,9%	Forte
192/05	Moderada	Negativa	---	---	---	Ausente
276/07	Leve	Negativa	---	---	---	Ausente
1357/06-1	Moderada	C / N	1050	00	100%	Forte
1357/06-2	Leve	Negativa	---	---	---	Ausente
2183/05	Moderada	C	1014	00	100%	Forte
2332/05-1	Moderada	C	1031	00	100%	Forte
2332/05-2	Leve	C / N	1002	00	100%	Forte
P 508.447	Leve	C / N	1056	00	100%	Forte
P 510.955	Leve	C / N	1012	00	100%	Forte
PC 010.08	Leve	C / N	1007	00	100%	Forte
PC 036.107	Leve	C / N	1051	00	100%	Forte

IM=Índice de Marcação; M=Membranoso; C=Citoplasmático; N=Nuclear; Posit=Positivo; Negat=Negativo; Intens=Intensidade

Tabela 2 – Padrão de expressão da Wnt-5a na mucosa bucal normal e displásica.

Tecido (n)	Negativa	Membrana	Citoplasma	Núcleo
Normal (n=5)	04	00	01	00
Displasia Leve (n=13)	04	00	09	06

DISCUSSÃO

No que diz respeito à expressão da proteína Wnt-5a em tecido bucal sadio apenas um artigo foi publicado. Nele, Ishida et al.³ relataram ter encontrado a referida proteína em tecido normal, mas não apontaram qual o padrão de expressão. Mesmo as pesquisas que lidam com a Wnt-5a em tecidos outros como pâncreas, mama, tireóide, fígado etc., relataram apenas que há um aumento ou diminuição da expressão dessa proteína, sem discorrer maiores detalhes. Diante da escassez de pesquisas à respeito das proteínas da via não-canônica a não publicação deste dado é algo realmente frustrante.

A ausência da expressão de Wnt-5a em tecido bucal normal, verificada na presente pesquisa, também poderia ser considerada como algo “esperado” devido ao seu papel na comunicação celular. Seja pela via canônica ou não-canônica, a Wnt-5a entra em ação apenas quando há uma função específica a ser executada, ela não faz parte da arquitetura celular fisiológica, sendo assim os tecidos normais realmente deveriam não expressar esta proteína⁷.

Dentre as diversas formas de se analisar a expressão imuno-histoquímica da Wnt-5a aquelas que contêm menor subjetividade advêm da contagem de células e da observação de duas características: estrato epitelial (basal, parabasal, espinhosa, córnea etc.) e estrutura celular (membrana, citoplasma ou núcleo) que apresentam expressão. Mesmo a análise do estrato epitelial ainda é bastante discutível, pois numa mesma peça, metade dela pode apresentar expressão em camada basal e parabasal e a outra metade em toda a espessura epitelial, como aconteceu em pelo menos um dos casos da presente pesquisa. Se o que se busca com o uso desses marcadores protéicos é diminuir a subjetividade e facilitar a análise da displasia, os critérios a serem utilizados deveriam ser muito objetivos e facilmente reproduzíveis^{3,12}.

Além de escassa, a maior parte da literatura a respeito da Wnt-5a não aponta qual o padrão de expressão, se membranoso, citoplasmático ou nuclear, visto que identificam a metabolização desta proteína através de outras técnicas que não a utilizada nesta tese como hibridização, western-blot, análise com laser, entre outras. Além disso, as publicações sobre Wnt-5a apresentam objetivos distintos da presente tese como (1) entender de que forma esta proteína atua sobre a via da β -catenina/wnt23 ou (2) identificar uma nova etapa para a sinalização não-canônica²⁴. Por estas razões, fica bastante dificultada a comparação dos resultados apresentados com a literatura.

De modo geral, o que se observou como resultado da presente pesquisa foi que no tecido bucal sadio não há expressão da Wnt-5a. Nas displasias leves e moderadas, a Wnt-5a passa a se expressar em citoplasma (predominantemente) e núcleo. Essa diferença de imuno-expressão da Wnt-5a em tecido bucal sadio e displasias epiteliais bucais leves e moderadas denota a mudança fenotípica das células epiteliais como parte dos eventos precursores da carcinogênese bucal.

CONCLUSÃO

Com base nos resultados encontrados neste estudo, pode-se concluir que:

1- A presença de positividade para expressão da proteína Wnt-5a, observadas nas displasias epiteliais bucais leves e moderadas, diferem do padrão da mucosa bucal normal.

2- Em virtude do tamanho e perfil da amostra não foi possível verificar a relação entre graduação histológica da displasia epitelial bucal e expressão do Wnt-5a.

3- Pelas mesmas razões supracitadas, não foi possível verificar a relação entre a expressão imuno-histoquímica da Wnt-5a em displasia epitelial bucal.

REFERÊNCIAS

1. Melo AUCM, Rosa MRD, Xavier FCA, Ribeiro CF, Ramalho LMP, Santos TS. Estudo da expressão imuno-histoquímica da b-catenina e Wnt-5a em displasias epiteliais bucais. *Rev Bras Cancerol* 2010, 56(3): 381-390.
2. Melo AUCM, Rosa MRD, Ramalho LMP. Estudo da expressão imuno-histoquímica da b-catenina e Wnt-5a em displasias epiteliais bucais. *Rev Bras Cancerol* 2011, 57(2): 251-252.
3. Ishida K, Ito S, Wada N, Deguchi H, Hata T, Hosoda M, Nohno T. Nuclear localization of beta-catenin involved in precancerous change in oral leukoplakia. *Mol Cancer*, 62, 2007.
4. Lo Muzio L, Lo Russo L, Falaschini S, Ciavarella D, Pentenero M, Arduino P, Favia G, Maiorano E, Rubini C, Pieramici T, Gandolfo S. beta- and gamma-catenin expression in oral dysplasia. *Oral Oncol* 2009, 45(6):501-4.
5. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. *Biologia molecular da célula*. 4.ª ed. São Paulo: Artmed, 2006.
6. Nusse R. Wnt signaling in disease and in development. *Cell Res* 2005, 15(1):28-32.
7. Pukrop T, Binder C. The complex pathways of Wnt 5a in cancer progression. *J Mol Med* 2008, 86(3):259-266.
8. Pannone G, Bufo P, Santoro A, Franco R, Aquino G, Longo F, Botti G, Serpico R, Cafarelli B, Abbruzzese A, Caraglia M, Papagerakis S, Lo Muzio L. WNT pathway in oral cancer: epigenetic inactivation of WNT-inhibitors. *Oncol Rep*. 2010, 24(4):1035-41.
9. Xavier FC, Rodini CO, Ramalho LM, Mantesso A, Nunes FD. WNT-5A, but not matrix metalloproteinase 3 or beta-catenin protein, expression is related to early stages of lip carcinogenesis.

- J Oral Pathol Med. 2009, 38(9):708-15.
10. Díaz Prado SM, Medina Villaamil V, Aparicio Gallego G, Blanco Calvo M, López Cedrún JL, Sironvalle Soliva S, Valladares Ayerbes M, García Campelo R, Antón Aparicio LM. Expression of Wnt gene family and frizzled receptors in head and neck squamous cell carcinomas. *Virchows Arch*. 2009, 455(1):67-75.
 11. Santos-Garcia A, Abad-Hernandez Mm, Fonseca-Sanchez E, Julian-Gonzalez R, Galindo-Villardón P, Cruz-Hernandez Jj, Bullón-Sopelana A. E-cadherin, laminin and collagen IV expression in the evolution from dysplasia to oral squamous cell carcinoma. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2006, 11(2): E100-105.
 12. Uraguchi M, Morikawa M, Shirakawa M, Sana-da K, Imai K. Activation of Wnt family expression and signaling in squamous cell carcinomas of the oral cavity. *J Dent Res* 2004, 83(4): 327-332.
 13. Janssens N, Janicot M, Perera T. The Wnt-dependent signaling pathways as target in oncology drug discovery. *Investigational New Drugs* 2006, 24(4):263–280.
 14. Johnson MI, Rajamannan N. Diseases of Wnt signaling. *Rev Endocr Metab Disord*. 2006, 7(1-2):41-49.
 15. Schambony A, Kunz M, Gradl D. Cross-regulation of Wnt signaling and cell adhesion. *Differenatiaton*; 72(7):307-318, 2004.
 16. Heller RS, Klein T, Ling Z, Heimberg H, Kato H, Madsen OD, Serup P. Expression of Wnt, Frizzled, sFRP, and DKK genes in adult human pancreas. *Gene Expr* 2003, 11(3-4):141-47.
 17. Kremenevskaja N, Von Wasielewski R, Rao AS, Schöfl C, Andersson T, Brabant G. Wnt-5a has tumor suppressor activity in thyroid carcinoma. *Oncogene* 2005, 24(13):2144-54.
 18. Liu XH, Pan MH, Lu ZF, Wu B, Rao Q, Zhou ZY, Zhou XJ. Expression of Wnt-5a and its clinicopathological significance in hepatocellular carcinoma. *Dig Liver Dis*. 2008, 40(7):560-567.
 19. Lustig B, Behrens J. The Wnt signaling pathway and its role in tumor development. *J Cancer Res Clin Oncol* 2003, 129(4):199-221.
 20. Pukrop T, Klemm F, Hagemann T, Gradl D, Schulz M, Siemes S, Trümper L, Binder C. Wnt 5a signaling is critical for macrophage-induced invasion of breast cancer cell lines. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006, 103(14):5454-9.
 21. Weeraratna AT, Jiang Y, Hostetter G, Rosenblatt K, Duray P, Bittner M, Trent JM. Wnt5a signaling directly affects cell motility and invasion of metastatic melanoma. *Cancer Cell* 2002, 1(3):279-288.
 22. Barnes L, Eveson J, Reichart P, Sidransky D. World Health Organization classification of tumours. Pathology and genetics of tumours of the head and neck. Lyon: IARC Press; 2005.
 23. Mikels AJ, Nusse R. Purified Wnt5a protein activates or inhibits beta-catenin-TCF signaling depending on receptor context. *PLoS Biol* 2006, 4(4):e115-0570-0582.
 24. Kurayoshi M, Yamamoto H, Izumi S, Kikuchi A. Post-translational palmitoylation and glycosylation of Wnt-5a are necessary for its signalling. *Biochem J*. 2007, 402(3):515-523.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Allan Ulisses Carvalho de Melo.
 Av. Acrízio Cruz, 147. Apt. 401.
 Salgado Filho.
 CEP 49020-210. Aracaju-SE-Brasil.
 Fone/fax: 55-79-3179-2185.
 Email: allanulisses@gmail.com

