

ENVOLVIMENTO DA MATRIZ EXTRACELULAR NO TUMOR MAMÁRIO CANINO

(Extracellular matrix involvement in canine mammary tumor)

Belarmino Eugênio Lopes NETO¹; Virginia Cláudia Carneiro GIRÃO²;
Diana Célia Sousa Nunes PINHEIRO^{1*}

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Av. Silas Manguba, 1700 - Campus Itaperi, Fortaleza-Ce, CEP: 60.740-000. *E-mail: diana.pinheiro@uece.br; ²Programa de Pós-Graduação em Ciências Morfofuncionais, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ce.

RESUMO

A glândula mamária (GM) é um tecido dinâmico, derivado da epiderme e o seu desenvolvimento depende da interação entre as células mamárias e o estroma. A matriz extracelular (MEC) representa o principal conteúdo extracelular, responsável pela sustentação do tecido conjuntivo, da membrana basal e serve como reservatório para muitos fatores de crescimento. MEC é constituída por fibras proteicas insolúveis, como colágenos, lamininas, fibronectinas, e polímeros solúveis, como proteoglicanos e glicosaminoglicanos. Essas moléculas que compõem a MEC são importantes, tanto durante a morfogênese da GM, como para a sua manutenção conferindo-lhe a sustentação e o armazenamento de substratos necessários para seu crescimento. A desorganização da MEC na GM pode ser um indicio necessário para o início e a progressão do tumor de mama. O Tumor mamário canino (TMC) é referido como um complexo de neoplasias que tem a participação de diversos fatores para seu desenvolvimento, incluindo os componentes da MEC. Desta forma, a investigação da MEC no diagnóstico dos TMC torna-se importante, para estabelecer a correlação entre os seus componentes e as células neoplásicas, além de fornecer informações sobre o comportamento biológico e o estadiamento clínico dos TMC. O entendimento da participação dessas moléculas da MEC para o desenvolvimento do TMC pode favorecer abordagens terapêuticas mais específicas, tendo como alvo elementos da MEC. Portanto, esta revisão tem como foco a participação dos componentes da MEC nos processos que contribuem para o estabelecimento do TMC, o que pode favorecer abordagens terapêuticas que visem elementos da MEC.

Palavras-chave: Glândula mamária, Matriz extracelular, Microambiente, Tumor mamário canino.

*Endereço para correspondência:
diana.pinheiro@uece.br

ABSTRACT

Mammary gland (MG) is a dynamic tissue derived from the epidermis and your development depends on the interaction between mammary cells and stroma. Extracellular matrix (ECM) is the major extracellular content of tissues responsible for supporting connective tissue and basement membrane, and serves as a reservoir for many growth factors. ECM is comprised of insoluble protein fibers as collagens, laminins, fibronectins and soluble polymers as proteoglycans, and glycosaminoglycans. The ECM components are important both during morphogenesis of MG as to maintain this fabric giving support and storage of substrates needed for the growth. ECM disorder in GM may be the progression trigger of the breast tumor. Canine mammary tumor (CMT) is a complex of malignancies that have the participation of several factors for its development, including ECM components. Therefore an investigation of ECM in the diagnosis of CMT becomes important to establish a relationship between componentes of matrix and neoplastic cells, including information on the biological behavior and clinical staging of CMT. The knowledge of ECM molecules participation in the development of CMT may further therapeutic approaches targeting elements of ECM. Thus, this review has a focus on the ECM components participation in the processes that contribute to CMT establishment, which may favor therapeutic approaches targeting elements of ECM.

Key words: Mammary gland. Extracellular matrix. Microenvironment. Canine mammary tumor.

INTRODUÇÃO

A matriz extracelular (MEC) participa da manutenção de todas as células, sendo constituída por fibras proteicas e polissacarídeos, numa combinação que confere resistência aos órgãos, principalmente os tecidos conjuntivos (MOUW *et al.*, 2014). O conceito de MEC evoluiu na última década, pois era considerada uma estrutura inerte, constituída por várias proteínas e polissacarídeos sintetizados e secretados pelas células para o preenchimento do espaço extracelular (ROZARIO *et al.*, 2010). Entretanto, a função da MEC ultrapassa muito o aspecto meramente

estrutural, pois influencia as células que secretam informações essenciais para a diferenciação e atividade dos tecidos (LU *et al.*, 2012).

Neste sentido, a glândula mamária (GM) tem como participante da sua morfogênese os componentes da MEC, principalmente na orientação das ramificações dos dutos e lóbulos mamários (FATA *et al.*, 2004). O estroma da GM, composto por células e a MEC, representa o microambiente desse tecido e a quebra da homeostase desses componentes pode ser responsável pelas alterações patológicas desse tecido, inclusive o câncer (BONNANS *et al.*, 2014).

O Tumor mamário canino (TMC) é a neoplasia mais frequente nas cadelas e a grande maioria tem características de tumor maligno (OLIVEIRA FILHO *et al.*, 2010). A etiologia do TMC ainda não está bem esclarecida, sendo atribuída a múltiplos fatores, como raça do animal, a ausência de receptores de estrogênio e progesterona e o uso de drogas contraceptivas; além de dieta inadequada e idade avançada (FERGUSON, 1985). Além dos fatores carcinogênicos da própria célula da glândula mamária, fatores extracelulares estão sendo apontados por contribuir para criação de um microambiente que pode auxiliar na iniciação, progressão e metástase das neoplasias mamárias (HANAHAN e WEINBERG, 2011).

Sendo assim, o microambiente tumoral é de grande relevância para o estudo das neoplasias da GM em cadelas. Portanto, esta revisão tem como foco a participação dos componentes da MEC nos processos que contribuem para o estabelecimento do TMC.

Composição da MEC

A MEC representa o conteúdo extracelular dos tecidos, sendo responsável pela sustentação dos tecidos conjuntivos e da membrana basal; auxilia na ligação e ou interação das células para formação dos

tecidos e serve como reservatório para muitos fatores de crescimento (MOUW *et al.*, 2014). Um conjunto de fibras proteicas insolúveis e polímeros solúveis constituem a MEC. As fibras insolúveis são formadas por proteínas estruturais de diferentes tipos, como colágenos, lamininas, fibronectinas, além dos proteoglicanos (PGs) e glicosaminoglicanos (GAGs), que constituem os componentes solúveis (HYNES, 2009).

A arquitetura da MEC é organizada por elementos insolúveis, que conferem tanto rigidez como elasticidade aos tecidos. Os colágenos formam cerca de 30% das proteínas do corpo e são classificados como tipo fibrilar e não fibrilar (KULAR *et al.*, 2014). Os diferentes tipos de colágeno (Tab. 1) podem ser produzidos tanto por fibroblastos, como também por células epiteliais e endoteliais e, juntamente com as fibronectinas, lamininas e elastinas, participam na proteção dos tecidos e ancoragem das membranas basais (SINGH *et al.*, 2010; HALPER e KAJAER, 2014; IORIO *et al.*, 2015).

A MEC também é composta por polímeros solúveis, que são formados por três famílias de macromoléculas, sendo estas: glicosaminoglicanos (GAGs), proteoglicanos (PGs) e moléculas de adesão celular (CAMs). Estas macromoléculas são compostas por longas

cadeias de carboidratos, ligadas a proteínas e água, formando um gel hidrofílico, que

formam interações entre si e as fibras insolúveis da MEC (KIM *et al.*, 2011).

Tabela 1: Principais componentes insolúveis da matriz extracelular

Componente estromal	Função	
Colágeno	Tipo fibrilar: I, II, III, V e VI	Proteção aos tecidos da ação mecânica de tensão, corte e pressão (KULAR <i>et al.</i> , 2014)
	Tipo não fibrilar: IV e VII	Ancoragem das fibras colágenas e da membrana basal (GORDON e HAHN, 2010)
Elastina	Flexibilidade aos tecidos, parede das grandes artérias e nos ligamentos elásticos (HALPER e KAJAER, 2014)	
Fibronectina	Proteína dentro da membrana basal relacionada a adesão celular e a resposta cicatricial (MOUW <i>et al.</i> , 2014)	
Laminina	Proteínas dentro da membrana basal envolvida na adesão, diferenciação e migração celular, através da ligação com as integrinas (IORIO <i>et al.</i> , 2015)	

Em conjunto, estes componentes fornecem um ambiente extracelular que regulam a proliferação e diferenciação das células (Tab. 2).

MEC e TMC

A GM é um tecido dinâmico, derivado da epiderme e que atinge a maturidade completa somente após a puberdade. O desenvolvimento dos dutos mamários depende da interação entre as células epiteliais e o estroma (HUMPHREY *et al.*, 2014). O estroma tem a capacidade de modular o desenvolvimento normal da GM, mas também participa ativamente na transformação maligna do tecido, favorecendo a carcinogênese

(KLOPFLEISCH *et al.*, 2011). Os ductos mamários são formados por células luminiais associadas às células mioepiteliais, envolvidas pela membrana basal, que separa o epitélio do estroma (KASS *et al.*, 2007).

Dessa forma, a MEC compreende um dos componentes estromais responsáveis pela sustentação da GM, também participando ativamente do desenvolvimento deste tecido, tanto armazenando fatores que promovam o crescimento, como fornecendo substrato para esse processo (LU *et al.*, 2012). Dada a importância crucial da MEC para o desenvolvimento e manutenção da homeostase dos tecidos, a desregulação dos constituintes da MEC pode contribuir para várias condições patológicas, tais

como a fibrose e o câncer (BONNANS *et al.*, 2014).

Tabela 2: Principais componentes solúveis da matriz extracelular

Componente estromal	Tipo	Função
GAGs	Sulfatada (sulfato de condroitina, sulfato de dermatano, queratan sulfato, heparina e heparan sulfato)	Inibir ou regular a passagem de outras moléculas através da membrana basal, controlar o acesso de macromoléculas à superfície celular, afetar o crescimento, migração, adesão e a diferenciação celular (SHAM <i>et al.</i> , 2014).
	Não sulfatada (ácido hialurônico)	
PGs	Secretadas na MEC: Perlecan, Agrin, Agrecan, Versican, Brevican e Neurocan)	Organização da MEC, filtração iônica, modulação dos fatores de crescimento, multiplicação e diferenciação celular, regulação da fibrinogênese e resistência da pele (AFRATIS <i>et al.</i> , 2012)
	Superfície celular: Sindecans e Glipicans	
	Intracelular: Serglican	
CAMs	Caderinas: E-caderina (epitelial) N-caderina (neuronal) P-caderina (placenta) R-caderina (retina)	Ligada diretamente à catenina, componente citoplasmático responsável pelo reconhecimento das células (ALBERGARIA <i>et al.</i> , 2011).
	Integrinas	Ligação das células à matriz, auxiliam na ligação das células às proteínas, fatores de crescimento, citocinas e proteases que degradam a MEC (SALMI e JALKANEM, 2005; BARCZYK <i>et al.</i> , 2010; KIM, 2014)
	Selectinas: P-selectina E-selectina L-selectina	Moléculas de adesão vascular aos leucócitos e plaquetas (SALMI e JALKANEM, 2005; LEY <i>et al.</i> , 2007).
	Superfamília das imunoglobulinas (IgSF): ICAM-1 ICAM-2 VCAM PECAM-1 N-CAM	Processo de migração dos leucócitos dentro dos vasos para o tecido alvo, durante a resposta inflamatória (SALMI e JALKANEM, 2005).

O câncer de mama é um tumor de grande complexidade, composto por componentes que se assemelham à

glândula mamária, embora seja estruturalmente e funcionalmente anormal (KLOPFLEISCH *et al.*, 2011). O TMC

contêm vários tipos de células e componentes da MEC que podem desenvolver funções semelhantes às realizadas nos tecidos normais, como fornecer sustentação, rigidez e substratos para o crescimento tumoral (EGEBLAD *et al.*, 2010).

Componentes insolúveis envolvidos no TMC

O colágeno é um dos principais componentes responsáveis pela arquitetura da MEC. Uma característica comum entre os carcinomas mamários é que em alguns tumores pode ser observada a deposição intensa de colágeno, processo conhecido como desmoplasia (WALKER, 2001). As fibras colágenas podem sofrer alteração na sua arquitetura, durante o processo de carcinogênese, transformando seu formato helicoidal e se tornando mais linear, deixando o estroma tumoral mais rígido. Essa transformação pode auxiliar o processo de invasão celular, através das fibras colágenas ou pelo aumento da sinalização das integrinas associadas à MEC (CONKLIN e KEELY, 2012).

O colágeno tipo IV é o principal componente da MB, sendo a primeira barreira para a invasão das células tumorais (GORDON e HAHN, 2010). As células do carcinoma mamário canino apresentam alta expressão citoplasmática

da molécula colagenase IV, responsável pela degradação do colágeno, o qual poderia auxiliar no processo de disseminação do tumor (PAPPARELLA *et al.*, 1997). Outra característica dos TMC é a formação de diferentes tipos de matriz, matriz óssea, cartilaginosa e mixóide, tanto em adenomas como em carcinomas mamários (CASSALI *et al.*, 2012). Este processo de metaplasia ocorre a partir da transformação das células mioepiteliais do TMC, observando-se a produção de colágeno tipo II e IV na matriz cartilaginosa, nos estágios mais avançados dos tumores mistos (ARAI *et al.*, 1989).

Os TMC mistos são os tipos histológicos mais frequentes de neoplasia da glândula mamária, e foram identificadas alterações genéticas nas células mioepiteliais, que podem estar relacionadas com a formação dessa nova matriz, o que poderia inibir a atividade supressora desenvolvida por essas células (MARTINS *et al.*, 2002; PANDEY, 2011).

A fibronectina é uma proteína importante para a glândula mamária, participando no controle da proliferação das células epiteliais durante a diferenciação acinar. Durante a formação dos tumores de mama, as alterações na MEC são acompanhadas pelo aumento da rigidez desse tecido e pelo aumento da produção de fibronectina (WILLIAMS *et al.*, 2009). Em TMC mistos, a fibronectina

não está presente na composição condroide, diferente das células mioepiteliais, que podem estar ligadas a superfície dessas células (ARAI *et al.*, 1994). Tanto no estroma, como nas células epiteliais e mioepiteliais dos TMC, ocorre um aumento na expressão das fibronectinas, já não observado nas regiões de metástases (PEÑA *et al.*, 1994). Em linhagens celulares do TMC, o aumento da expressão da fibronectina foi estimulada pelo fator de crescimento de hepatócitos (HGF), mediado pelo fator de transcrição Twist (YOSHIDA *et al.*, 2014).

A laminina, juntamente com outras moléculas, compõe a MB e é responsável por fazer a ligação das células epiteliais à matriz adjacente (IORIO *et al.*, 2015). Além disso, a laminina participa no estabelecimento da polarização das células epiteliais dos dutos mamários e sua perda pode favorecer a diminuição da sua atividade supressora e ruptura da MB, auxiliando no processo de invasão tumoral (GUDJONSSON *et al.*, 2002). Uma baixa ou ausência na expressão da laminina-332 cadeia gama-2 foi relacionada a um pior prognóstico para os animais acometidos com TMC, indicando a participação dessa glicoproteína na atividade supressora dos tumores (ZUCCARI *et al.*, 2011).

Outra glicoproteína de adesão da MEC é a tenascina (Tn). Assim como as fibronectinas, as tenascinas interagem com

as células, a partir das integrinas, sendo composta por diferentes membros, principalmente tenascina-C (Tn-C) (CHIQUET-EHRISMANN e CHIQUET, 2003). Esta molécula está envolvida na formação e no processo de regeneração dos tecidos, porém, no câncer, as Tn-C podem ser expressas e relacionadas com a malignidade do tipo tumoral (OREND e CHIQUET-EHRISMANN, 2006). Desta forma, a presença da Tn nos tecidos dos TMC está aumentada, em áreas de remodelação da MEC e em lesões neoplásicas, embora não seja associada com transformação maligna desses tecidos (FAUSTINO *et al.*, 2002). Também foi observado que Tn-C associada aos miofibroblastos estromais de TMC está significativamente correlacionada a carcinomas mamários de alto grau, indicando que a Tn pode estar relacionada a malignidade tumoral, dependente do tipo de célula que a produz (SAKAKURA *et al.*, 1991).

Componentes solúveis envolvidos no TMC

Nos últimos anos, estudos de biologia celular revelaram que as GAGs e PGs estão entre as macromoléculas essenciais, que afetam as propriedades das

células e suas funções, através da interação direta com os receptores celulares ou através de interações com fatores de crescimento (AFRATIS *et al.*, 2012). Essa interação desempenha papel importante na proliferação celular, principalmente por mediar a ligação dos fatores de crescimento com seus receptores, como a ligação do fator de crescimento de fibroblastos (FGF2) e seu receptor. Quando ocorrem disfunções nesse processo, as células podem sofrer estímulos de proliferação ininterruptos e ocorrer a iniciação das neoplasias (THEOCHARIS *et al.*, 2016).

Dentro da família das GAGs não sulfatadas, o ácido hialurônico (AH) pode estar presente na MEC dos tecidos (GANDHI e MANCERA, 2008). O principal receptor de membrana para o AH é o CD44, uma glicoproteína de membrana expressa por vários tipos celulares, incluindo as células mioepiteliais, epiteliais, fibroblastos, células dos vasos sanguíneos e linfáticos, além dos linfócitos presentes no estroma (PONTA *et al.*, 2003). Foi demonstrado que a presença dos receptores de CD44 é maior nos TMC benignos, comparado com os TMC malignos (PALTIAN *et al.*, 2009), o que nos faz inferir que ocorre uma diminuição na formação do AH com a progressão da malignidade do tumor.

As proteínas sulfatadas das GAGs podem participar no processo de adesão e extravasamento dos leucócitos para os locais de agressão. Dessa forma, as GAGs sulfatadas já foram relacionadas a vários processos patológicos, incluindo doenças inflamatórias, infecções bacterianas e desenvolvimento de tumores (LEY *et al.*, 2007; SCHDIN e KEELY, 2011). As principais GAGs encontradas nos TMC foram o sulfato de condroitina (SC) e heparan sulfato, sendo que o SC estava presente difusamente nos histotipos de TMC mistos, pois existe um predomínio de matriz condróide nesses tumores (HINRICHS *et al.*, 1999).

Outros estudos com TMC mistos avaliaram a presença do versican, um PG de sulfato de condroitina secretado na MEC, estando presente, tanto na matriz condróide, como nas células mioepiteliais, auxiliando no processo de remodelação tecidual dos tumores (ERDÉLY *et al.*, 2005; DAMASCENO *et al.*, 2012; DAMASCENO *et al.*, 2014). O versican regula diversas atividades da célula ligadas a adesão (DU *et al.*, 2013), contudo foi demonstrado relação entre a expressão de versican e a invasão das células tumorais nos TMC (DAMASCENO *et al.*, 2012).

Outra família de glicoproteínas que participa na adesão celular são as caderinas. Essas proteínas de membrana são importantes no desenvolvimento e

manutenção dos tecidos, pois participam na sinalização de diferenciação e regeneração das células, além de garantir a adesão celular, mantendo a plasticidade das junções intercelulares (VESTWEBER, 2015). Na composição dos dutos mamários a E-caderina participa na adesão das células epiteliais, enquanto que as células mioepiteliais têm as P-caderinas como moléculas ligantes (PIEKARZ *et al.*, 2008). Na avaliação de TMC, foi observada uma redução da expressão de E-caderina, a qual foi fortemente associada a todos os critérios de malignidade das neoplasias, enquanto a redução de P-caderina foi associada somente ao critério de invasão. Esse resultado demonstra a ação essencial da E-caderina como um agente supressor de tumor e forte marcador de invasão (GAMA *et al.*, 2008).

As caderinas ligam-se às cateninas intracitoplasmáticas, formando a ligação caderina/catenina, importante para sinalização de diversas atividades nas células. A diminuição desses componentes nas células dos TMC pode significar um pior prognóstico para os animais (GAMA *et al.*, 2012), embora as células tumorais possam produzir β -catenina, essa produção aparenta ser de moléculas defeituosas (RESTUCCI *et al.*, 2007).

As CAMs são essenciais para a integridade da GM, inclusive a família das integrinas. A expressão de β -integrina foi

estudada, tanto na GM normal, displásica e neoplásica em cadelas e foi relatado que essa molécula está mais presente nas neoplasias benignas do que nas neoplasias malignas. Entre os diferentes carcinomas, a β -integrina é melhor expressa nas neoplasias bem diferenciadas, em relação aquelas com pouca diferenciação. Dessa forma, a perda da referida integrina pode estar relacionada com a capacidade de invasão e metástase tumoral (RESTUCCI e MAIOLINO, 1995). Também foi observado um aumento na expressão dessas integrinas na superfície das células tumorais na metástase nodal, o que daria novamente a condição das células neoplásicas migrarem para outros tecidos (RESTUCCI e MAIOLINO, 1995). As integrinas contêm duas subunidades principais formando diferentes moléculas, sendo descrito a participação de outras integrinas, necessárias para a adesão entre as células do tumor de mama em humanos (DESGROSELLIER e CHERESH, 2010).

As moléculas que contrapõem a adesão celular e regulam a remodelação da MEC são as metaloproteinases (MMPs), as quais são responsáveis por degradar a matriz, sendo controladas fortemente pelos inibidores teciduais de metaloproteinases (TIMPs). A expressão imprópria dessas moléculas pode conduzir ao aparecimento de alterações aberrantes na GM (FATA *et al.*, 2004). Uma expressão dez vezes maior

da MMP-9 nos carcinomas mamários foi relatada, em relação a glândula normal (YOKOTA *et al.*, 2001). Por outro lado, uma alta atividade das enzimas MMP-2 e MMP-9 foi detectada em carcinomas mamários, enquanto a baixa atividade das enzimas TIMP-1, TIMP-2 e TIMP-3 foi detectada nos TMC, podendo esses dados estarem diretamente correlacionados com a malignidade do tumor (KAWAI *et al.*, 2005; ARESU *et al.*, 2011). Contudo, divergências nos resultados apontam que a alta expressão da enzima TIMP-2 está relacionada com a malignidade e aumento do potencial metastático dos TMC, além de um pior prognóstico (SANTOS *et al.*, 2011).

Outra molécula envolvida na degradação da MEC é o ativador de plasminogênio tipo uroquinase (uPA), que controla essa degradação através da conversão do plasminogênio em plasmina. A uPa foi expressa significativamente nos TMC malignos, em relação aos benignos, e que sua alta expressão estromal está diretamente correlacionada aos critérios de malignidade e um pior prognóstico para o animal (SANTOS *et al.*, 2013). Sendo assim, as proteases são substâncias importantes no processo de invasão e metástase no TMC.

CONCLUSÃO

A investigação da MEC no diagnóstico dos TMC torna-se importante para estabelecer a relação entre os seus componentes e as células neoplásicas, além de fornecer informações sobre o comportamento biológico e o estadiamento clínico do TMC. O entendimento da participação destas moléculas da MEC no desenvolvimento do TMC pode favorecer abordagens terapêuticas tendo como alvo elementos da MEC.

REFERÊNCIAS

- AFRATIS, N.; GIALELLI, C.; NIKITOVIC, D.; TSEGENIDIS, T.; KAROUSOU, E.; THEOCHARIS, A.D.; PAVÃO, M.S.; TZANAKAKIS, G.N.; KARAMANOS, N.K. Glycosaminoglycans: key players in cancer cell biology and treatment. *FEBS Journal*, v.279, n.7, p.1177–1197, 2012.
- ALBERGARIA, A.; RIBEIRO, A.; VIEIRA, A.; SOUSA, B. P-cadherin role in normal breast development and cancer. *International Journal of Developmental Biology*, v.55, p.811–822, 2011.
- ARAI, K.; UEHARA, K.; NAGAI, Y. Expression of type II and XI collagens in canine mammary complex tumors and demonstration of collagen production of tumor cells in collagen gel culture.

- Japanese Journal of Cancer Research, v.80, n.9, p.840-847, 1989.
- ARAI, K.; NAOI, M.; UEHARA, K. Immunohistochemical examination of neural cell adhesion molecule (NCAM), tenascin and fibronectin on the development of cartilaginous tissue in canine mammary mixed tumors. Japanese Journal of Cancer Research, v.56, n.4, p.809-811, 1994.
- ARESU, L.; GIANTIN, M.; MORELLO, E.; VASCELLARI, M.; CASTAGNARO, M.; LOPPARELLI, R.; ZANCANELLA, V.; GRANATO, A.; GARBISA, S.; ARICÓ, A.; BRADASCHIA, A.; MUTINELLI, F.; DACASTO, M. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in canine mammary tumors. BMC Veterinary Research, v.7, n.1, p.33, 2011
- BARCZYK, M.; CARRACEDO, S.; GULLBERG, D.. Integrins. Cell Tissue Research, v.339, n.1, p.269-80, 2010.
- 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, 2014.
- CHIQUET-EHRISMANN, R.; CHIQUET, M. Tenascins: regulation and putative functions during pathological stress. Journal of Pathology, v.200, n.4, p.488-499, 2003
- CONKLIN, M.W.; KEELY, P.J. Why the stroma matters in breast cancer Insights into breast cancer patient outcomes through the examination of stromal biomarkers. Cell Adhesion & Migration, v.6, n.3, p.249-260, 2012.
- DAMASCENO, K.A.; BERTAGNOLLI, A.C.; ESTRELA-LIMA, A.; RABELO, B.S.; CAMPOS, L.C.; RIBEIRO, L.G.R.; CASSALI, G.D. Versican expression in myoepithelial cells from carcinomas in canine mixed mammary tumors. The Veterinary Journal, v.200, n.1, p.146-151, 2014.
- DAMASCENO, K.A.; BERTAGNOLLI, A.C.; ESTRELA-LIMA, A.; RIBEIRO, L.G.; RABELO, B.S.; CAMPOS, C.B.; BARROS, A.L.B.; CASSALI, G.D. Versican expression in canine carcinomas in benign mixed tumours: is there an association with clinical pathological factors, invasion and overall survival? BMC Veterinary Research, v.8, p.195-203, 2012.
- DESGROSELLIER, J.S.; CHERESH, D.A. Integrins in cancer: biological implications and therapeutic opportunities Nature Reviews Cancer, v.10, p.9-22, 2010.
- DU, W.W.; YANG, W.; YEE, A.J. Roles of versican in cancer biology - tumorigenesis, progression and metastasis.

- Histology and Histopathology, v.28, p.701-713, 2013.
- EGEBLAD, M.; NAKASONE, E.S.; WERB, Z. Tumors as organs: Complex tissues that interface with the entire organism. *Developmental Cell*, v.18, p.884-901, 2010.
- ERDELY, V.A.; DIJK, M.V.; NEDERBRAGT, J.H. Expression of versican in relation to chondrogenesis-related extracellular matrix components in canine mammary tumors. *Histochemical Cell Biology*, v.124, p.139-149, 2005.
- FATA, J.E.; WERB, Z.; BISSELL, M.J. Regulation of mammary gland branching morphogenesis by the extracellular matrix and its remodeling enzymes. *Breast Cancer Research*, v.6, p.1-11, 2004.
- FAUSTINO, A.M.R.; VAN GARDEREN, E.; SCHALKEN, J.A.; NEDERBRAGT, H. Tenascin expression in normal, hyperplastic, dysplastic and neoplastic canine mammary tissues. *Journal of Comparative Pathology*, v.126, n.1, p.1-8, 2002.
- FERGUSON, H. R. Canine mammary gland tumors. *The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v.15, n.3, p.501-511, 1985.
- GAMA, A.; PAREDES, J.; GÄRTNER, F.; ALVES, A.; SCHMITT, F. Expression of E-cadherin, P-cadherin and beta-catenin in canine malignant mammary tumours in relation to clinicopathological parameters, proliferation and survival. *The Veterinary Journal*, v.77, n.1, p.45-53, 2008.
- GAMA, A.; SCHMITT, F. Cadherin cell adhesion system in canine mammary cancer: a review. *Veterinary Medicine International*, p.1-8, 2012.
- GANDHI, N.S.; MANCERA, R.L. The structure of glycosaminoglycans and their interactions with proteins. *Chemical Biology & Drug Design*, v.72, n.6, p.455-482, 2008.
- GORDON, M.K.; HAHN, R.A. Collagens. *Cell Tissue Research*, v.339, p.247-257, 2010.
- GUDJONSSON, T.; VILLADSEN, R.; NIELSEN, H.L.; RØNNOV-JESSEN, L.; BISSELL, M.J.; PETERSEN, O.W. Isolation, immortalization, and characterization of a human breast epithelial cell line with stem cell properties. *Genes & Development*, v.16, p.693-706, 2002.
- HALPER, J.; KJAER, M. Progress in heritable soft connective tissue Diseases. Halper J, editor. Dordrecht: Springer Netherlands, p.802, 2014
- HANAHAN, D.; WEINBERG, R.A. Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*, v. 144, n.4, p. 646-674, 2011.

- HINRICHS, U.; RUTTEMAN, G.R.; NEDERBRAGT, H. Stromal accumulation of chondroitin sulphate in mammary tumours of dogs. *British Journal of Cancer*, v.80, p.1359–1365, 1990.
- HUMPHREY, J.D.; DUFRESNE, E.R.; SCHWARTZ, M.A. Mechanotransduction and extracellular matrix homeostasis. *Nature Reviews: Molecular Cell Biology*, v.15, n.12, p.802–812, 2014.
- HYNES, R.O. The extracellular matrix: not just pretty fibrils. *Science*, v.326, p.1216–1219, 2009.
- IORIO, V.; TROUGHTON, L.D.; HAMILL, K.J. Laminins: roles and utility in wound repair. *Advances in Wound Care*, v.4, n.4, p.250–263, 2015.
- KASS, L.; ERLER, J.T.; DEMBO, M.; WEAVER, V.M. Mammary epithelial cell: influence of extracellular matrix composition and organization during development and tumorigenesis. *International Journal of Biochemical Cell Biology*, v.39, n.11, p.1987–1994, 2007.
- KAWAI, K.; UETSUKA, K.; DOI, K.; NAKAYAMA, H. The activity of matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) in mammary tumors of dogs and rats. *Journal of Veterinary Medicine Science*, v.68, n.2, p.105–111, 2005.
- KIM, C.H. Crawling of effector T cells on extracellular matrix: role of integrins in interstitial migration in inflamed tissues. *Cellular & Molecular Immunology*, v.11, p.1–4, 2014.
- KLOPFLEISCH R., KLOSE, P.; GRUBER, A.D. The combined expression pattern of *BMP2*, *LTBP4*, and *DERL1* discriminates malignant from benign canine mammary tumors. *Veterinary Pathology*, v.47, n.3, p. 446–454, 2010.
- KULAR, J.K.; BASU, S.; SHARMA, R.I. The extracellular matrix: Structure, composition, age-related differences, tools for analysis and applications for tissue engineering. *Journal of Tissue Engineering*, v.5, p.1–7, 2014.
- LEY, K.; LAUDANNA, C.; CYBULSKY, M.I.; NOURSHARGH, S. Getting to the site of inflammation: the leukocyte adhesion cascade updated. *Nature Review Immunology*, v.7, n.9, p.678–89, 2007.
- LU, P.; WEAVER, V.M.; WERB, Z. The extracellular matrix: a dynamic niche in cancer progression. *Journal of Cell Biology*, v.196, n.4, p.395–406, 2012.
- MARTINS, A.M.; TAMASO, E.; GUERRA, J.L. Retrospective review and systematic study of mammary tumors in dogs and characteristics of the extracellular matrix. *Brazilian Journal of Veterinary*

- Research and Animal Science, v.29, n.1, p.38-42, 2002.
- MOUW, J.K.; OU, G.; WEAVER, V.M. Extracellular matrix assembly: a multiscale deconstruction. *Nature Reviews: Molecular Cell Biology*, v.15, n.12, p.771-85, 2014.
- OLIVEIRA FILHO, J.C.; KOMMERS, G.D.; MASUDA, E.K.; MARQUES, B.M.F.P.P.; FIGHERA, R.A.; IRIGOYEN, L.F.; BARROS, C.S.L. Estudo retrospectivo de 1.647 tumores mamários em cães. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.30, n.2, p.177-185, 2010.
- OREND, G.; CHIQUET-EHRISMANN, R. Tenascin-C induced signaling in cancer. *Cancer Letters*, v.244, n.2, p.143-63, 2006.
- PALTIAN, V.; ALLDINGER, S.; BAUMGÄRTNER, W.; WOHLSEIN, P. Expression of CD44 in canine mammary tumours. *Journal of Comparative Pathology*, v.141, n.4, p.237-47, 2009.
- PANDEY, P.R.; SAIDOU, J.; WATABE, K. Role of myoepithelial cells in breast tumor progression. *Frontiers in Bioscience*, v.15, p.226-36, 2011.
- PAPPARELLA, S.; RESTUCCI, B.; MAIOLINO, P.; DE VICO, G. Immunohistochemical distribution of type IV collagenase in normal, dysplastic and neoplastic canine mammary gland. *Journal of Comparative Pathology*, v.117, n.3, p.277-82, 1997.
- PEÑA, L.; NIETO, A.; PEREZ, M.D.; RODRIGUEZ, A.; SANCHES, M.A.; CASTAÑO, M. Expression of fibronectin and its integrin receptor $\alpha 5\beta 1$ in canine mammary tumours. *Research in Veterinary Science*, v.57, n.3, p.358-64, 1994.
- PIEKARZ, C.H.; BIONDO, A.W.; AMORIM, R.L.; RODASKI, S.; BARROS FILHO, I.R.; DE NARDI, A.B. Expressão das caderinas nos tumores mamários em cadelas. *Archives of Veterinary Science*, v.13, n.1, p.13-21, 2008.
- PONTA, H.; SHERMAN, L.; HERLICH, A. CD44: from adhesion molecules to signaling regulators. *Molecular Cell Biology*, v.4, p.33-45, 2003.
- RESTUCCI, B.; DE VICO, G.; MAIOLINO, P. Expression of β -integrin in normal, dysplastic and neoplastic canine mammary gland. *Journal of Comparative Pathology*, v.113, n.2, p.165-173, 1995.
- RESTUCCI, B.; MAIOLINO, P.; MARTANO, M.; ESPOSITO, G.; FILIPPIS, D.; BORZACCHIELLO, G.; MUZIO, L. Expression of β -catenin, E-cadherin and APC in canine mammary tumors. *Anticancer Research*, v.27, n.5A, p.3083-3089, 2007.
- ROZARIO, T.; DESIMONE, D.W. The extracellular matrix in development and

- morphogenesis: A dynamic view. *Developmental Biology*, v.341, p.126–140, 2010.
- SALMI, M.; JALKANEM, S. Cell-surface enzymes in control of leukocyte trafficking. *Nature Review in Immunology*, v.5, p. 760-771, 2005.
- SAKAKURA, T.; ISHIHARA, A.; YATANI, R. Tenascin in mammary gland development: from embryogenesis to carcinogenesis. *Cancer Treat Research*, v.53, p.383-400, 1991.
- SANTOS, A.; LOPES, C.; FRIAS, C.; AMORIM, I.; VICENTE, C.; GÄRTNER, F.; MATOS, A. Immunohistochemical evaluation of MMP-2 and TIMP-2 in canine mammary tumours: a survival study. *The Veterinary Journal*, v.190, n.3, p.396–402, 2011.
- SCHEDIN, P.; KEELY, P.J. Mechanosignaling in Normal Development and Tumor Progression. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, v.3, p.1–22, 2011.
- SHAM, M.M.; AZMI, N.S.; HASBI, M.; RAHIM, A.; PAHANG, D.M. Review: Glycosaminoglycans (GAGs) versus Cancer. *Journal Environmental Bioremediation & Toxicology*, v.2, n.2, p.58–61, 2014.
- SINGH, P.; CARRAHER, C.; SCHWARZBAUER, J.E. Assembly of fibronectin extracellular matrix. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, v.26, p.397–419, 2010.
- THEOCHARIS, A.D.; SKANDALIS, S.S.; GIALELI, C.; KARAMANOS, N.K. Extracellular matrix structure. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v.7, p.4–27, 2016.
- VESTWEBER, D. Cadherins in tissue architecture and disease. *Journal of Molecular Medicine*, v.93, n.1, p.5–11, 2015.
- WALKER, R.A. The complexities of breast cancer desmoplasia. *Breast Cancer Research*, v.3, n.3, p.143–45, 2001.
- WILLIAMS, C.M.; ENGLER, A.J.; SLONE, R.D.; GALANTE, L.L.; JEAN, E. Fibronectin expression modulates mammary epithelial cell proliferation during acinar differentiation. *Cancer Research*, v.68, n.9, p.3185–92, 2009.
- YOKOTA, H.Y.; KUMATA, T.; TAKETABA, S.; KOBAYASHI, T. High expression of 92 kDa type IV collagenase. *Biochimica et Biophysica Acta*, v.1568, p.7–12, 2001.
- YOSHIDA, K.; YOSHIDA, S.; CHOISUNIRACHON, N.; SAITO, T.; MATSUMOTO, K.; SAEKI, K.; MOCHIZUKI, M.; NISHIMURA, R.; SASAKI, M.; NAKAGAWA, T. The relationship between clinicopathological features and expression of epithelial and

mesenchymal markers in spontaneous canine mammary gland tumors. *Journal of Veterinary Medicine Science*, v.76, n.10, p.1321-7, 2014.

ZUCCARI, D.A.P.C.; CASTRO, R.; GELALETI, G.B.; MANCINI, U.M.;

Interleukin-8 expression associated with canine mammary tumors. *Genetics and Molecular Research*, v.10, n.3, p.1522-1532, 2011.