



Microambiente tumoral nas neoplasias mamárias em cadelas – Revisão de literatura

Tumor microenvironment in canine mammary tumors - Literature review

Gabriela Noronha de Toledo¹, Marcus Antônio Rossi Feliciano², Ricardo Andres Ramirez Uscategui¹,
Geórgia Modé Magalhães³, Wilter Ricardo Russiano Vicente¹

¹Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal, SP, Brasil.

²Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Cruz das Almas, BA, Brasil.

³Instituto Federal do Sul de Minas, Muzambinho, MG, Brasil.

⁴Correspondência: bitoledo@hotmail.com

Resumo

Nos últimos anos, o microambiente tumoral foi associado à evolução de doenças crônicas, incluindo as neoplasias mamárias. Um crescente conjunto de evidências foi compilado para demonstrar o papel importante deste processo envolvendo as neoplasias mamárias caninas. A maneira pela qual as interações entre o tumor e o estroma participam ativamente do desenvolvimento neoplásico deve ser elucidada. Apesar de desempenhar função de contribuição na oncogênese, ainda não sabemos se este é um efeito direto ou indireto. A seguinte revisão descreve e esclarece algumas das principais evidências para a interação com o estroma tumoral e a evolução da progressão neoplásica.

Palavras-Chave: cadelas, oncologia veterinária, tumor de mama canino.

Abstract

In the recent years, the tumor microenvironment has been associated with the evolution of chronic diseases, including the mammary tumors. The evidence was compiled to demonstrate the important role of this process involving the canine mammary tumors. The way that the interactions between the tumor and the stroma actively participate in tumor's development must be elucidated. Despite playing a role of contribution in the oncogenesis, we still do not know if this is a direct or indirect effect. The following review describes and clarifies some of the key evidence for the role of the interaction with the tumor stroma and the evolution of neoplastic progression.

Keywords: *bitches, canine mammary tumor, veterinary oncology.*

Introdução

As neoplasias mamárias apresentam elevada prevalência em cadelas não gonadectomizadas e aproximadamente 40 a 50% dos tumores são considerados histologicamente malignos (Visan et al., 2016). Tais neoplasias possuem comportamento biológico variável e as metástases em locais distantes são causas comuns de morte dos pacientes (Klopfleisch et al., 2010; Santos et al., 2013). Assim, estas lesões mamárias caninas têm sido o foco de intensa investigação por oncologistas e patologistas veterinários nas últimas décadas (Peña et al., 2014), além de serem consideradas como modelo animal relevante para estudo dos tumores mamários em mulheres (Jensen-Jarolim et al., 2015; Visan et al., 2016).

A glândula mamária exibe diversas propriedades associadas às neoplasias e vários fatores relacionados ao estroma que, além de necessários para o desenvolvimento mamário, podem tanto promover quanto evitar a evolução do processo neoplásico (Bryony et al., 2002). O estroma tumoral não é mais visto apenas como suporte físico para células epiteliais mutadas, mas como um modulador importante e até mesmo como condutor da oncogênese (Gascard e Tlsty, 2016).

Estudos realizados nas áreas de genética e biologia celular indicam que as células presentes na resposta à lesão crônica e na angiogênese, tais como células endoteliais e fibroblastos, exercem atividade relevante na progressão, crescimento e propagação de neoplasias (Gascard e Tlsty, 2016). Com isso, a contribuição de fibroblastos associados ao tumor (CAFs), que estão presentes em todas as fases da progressão neoplásica, está sendo investigada. A produção de fatores de crescimento, quimiocinas e matriz extracelular (MEC) facilitam o recrutamento de células endoteliais e angiogênicas. Os fibroblastos e a sua respectiva função são, portanto, fatores determinantes para a progressão neoplásica maligna e representam importante alvo terapêutico (Kalliuri e Zeisberg, 2006; Gascard e Tlsty, 2016).

Esta revisão traz informações de como o microambiente tumoral e os CAFs interagem entre si, formando uma complexa rede de interações celulares levando à progressão do processo neoplásico nas neoplasias mamárias caninas.

Fibroblastos associados ao tumor (CAFs)

Conceitualmente, os fibroblastos são definidos como células não vasculares, não epiteliais e não inflamatórias e são o principal componente celular do tecido conjuntivo. Estão incorporados dentro da matriz celular do tecido conectivo que, em grande parte, é responsável pela sua síntese. As funções mais importantes dos fibroblastos incluem a deposição de MEC, regulação da diferenciação epitelial e da inflamação, além da participação na cicatrização de feridas. Os fibroblastos sintetizam muitos dos componentes da MEC, tais como colágeno (tipo I, tipo III, tipo IV, tipo V), fibronectina e laminina. Além disso, os fibroblastos são importantes na manutenção da homeostase do epitélio adjacente pela secreção de fatores de crescimento e interações mesenquimais-epiteliais diretamente nas células (Bryony et al., 2002; Kalluri e Zeisberg, 2006).

Dentre alguns componentes produzidos pela MEC, a secreção de quimiocinas e fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de crescimento do tecido conjuntivo (CTGF), interleucinas (IL-6, IL-13) e células inflamatórias promovem a ativação da deposição de fibroblastos e colágeno em diversas patologias. Complementarmente, estimulam a liberação do fator de transformação de crescimento (TGF- β), a citocina profibrogênica mais potente, que desempenha papel importante na regulação de relevantes processos biológicos, entre eles, a proliferação celular, produção de MEC e transição epitélio-mesênquima (Morry et al., 2017).

Um dos mecanismos para demonstrar tal função dos fibroblastos na defesa do hospedeiro é a modulação da resposta imune. Os fibroblastos são considerados fontes conceituadas de citocinas imunomoduladoras como interferon- γ (IFN γ), IL-6 e fator de necrose tumoral- α (TNF α) dentre outras. Essas citocinas influenciam na mobilização de linfócitos T citotóxicos, células natural killer (NK) e macrófagos. Além disso, foi relatado que os fibroblastos auxiliam a prevenir apoptose de células T (Kalluri e Zeisberg, 2006).

Devido à localização específica, os fibroblastos encontrados no estroma tumoral são referidos como fibroblastos associados ao tumor (CAFs) que diferem dos seus homólogos normais no "fenótipo ativado". Neste contexto, ao contrário dos fibroblastos normais, os CAFs são caracterizados por propriedades distintas incluindo taxa de proliferação mais rápida, produção aumentada de colágeno, fatores de crescimento e moduladores da MEC e efeito promotor de tumores (Raffaghello e Dazzi, 2015).

A interação entre fibroblastos e o microambiente deve ser explorada, não só para prevenir ou tratar a evolução patológica, mas também para interferir nas alterações observadas durante este processo (Kalluri e Zeisberg, 2006).

Em relação ao estroma tumoral nas neoplasias mamárias, os CAFs são o tipo celular mais abundante e são responsáveis pela produção de quimiocinas, fatores de crescimento e proteínas da MEC, o que pode contribuir para o aumento da disseminação e metástase (Folgueira et al., 2013). A presença de fibroblastos atípicos no estroma tumoral, especialmente em focos fibróticos, está significativamente associada à recidiva tumoral e ao óbito de pacientes com carcinoma mamário ductal invasivo (Ahn et al., 2012).

Diversos estudos recentes descreveram diferentes subpopulações de fibroblastos estromais dentro de tumores identificados apenas por expressão de marcadores, incluindo actina de músculo liso- α (α -SMA), PDGF e fibroblastos proteína específica (FSP) -1 (Anderberg e Pietras, 2009; Pietras e Ostman, 2010). Em outro estudo realizado por meio de injeção de células neoplásicas juntamente com células mesenquimais de diferentes fontes têm demonstrado conclusivamente a importância dos fibroblastos do estroma para a iniciação, crescimento e disseminação metastática (Anderberg e Pietras, 2009; Pietras e Ostman, 2010).

Os CAFs estimulam diretamente a proliferação de células neoplásicas por meio da provisão de vários fatores de crescimento, hormônios e citocinas de maneira dependente do local onde estão inseridos. O fator de crescimento de hepatócitos (HGF), membros do fator de crescimento epidérmico (EGF), fator de crescimento de fibroblastos (FGF) e da via de sinalização intracelular Wnt, que está associada à proliferação celular, bem como citocinas tais como fator derivado do estroma (SDF) -1 α e IL-6, são todos altamente expressos por CAFs em diferentes tipos de neoplasias (Bhowmick et al., 2004). Curiosamente, muitos destes fatores que atuam isoladamente são suficientes para induzir a transformação de células epiteliais, indicando assim, a capacidade de iniciação neoplásica pelos CAFs (Pietras e Ostman, 2010). No estudo realizado por Demehri e Kopan (2009), o gene Notch1 foi eliminado em queratinócitos epidérmicos em ratos. Consequentemente, a barreira de proteção da pele foi prejudicada e em seguida ocorreu uma resposta crônica da cicatrização da ferida que conduziu à formação de papilomas e subsequentes carcinomas invasivos, demonstrando que a ativação prolongada de um estroma normal pode ser um fator causal no desenvolvimento neoplásico (Pietras e Ostman, 2010).

Em outro estudo, análises genéticas determinaram fenótipos de fibroblastos ou padrões de resposta fibroblástica e foi constatado que neoplasias com diferentes características fibroblásticas podem representar diferentes estados de ativação ou subtipos diferentes de células do estroma (West et al., 2005). O tipo de estroma tumoral mostrou uma correlação específica com o fenótipo de imunexpressão tumoral. Este achado sugere que o tipo de estroma dominante pode refletir características intrínsecas do tumor e seu comportamento final (Ahn et al., 2012).

Em um estudo realizado no tecido mamário, a mudança mais dramática na expressão entre o fibroblasto normal e populações de CAFs foi a repressão de uma proteína de superfície celular, o CD36. Surpreendentemente, o CD36 é tipicamente expresso em todos os componentes das células do estroma,

adipócitos, fibroblastos, células endoteliais e células do sistema imunológico. Quando são expressos nas células estromais que expressam CD36 estão no estado antitumoral. No entanto, se a expressão estiver reduzida, cada componente estromal adquire um estado pró-tumoral distinto. Assim, fibroblastos com baixa expressão de CD36 sintetizam maior quantidade de colágeno e fibronectina do que fibroblastos com alta expressão de CD36. Do mesmo modo, as células endoteliais com baixa expressão de CD36 apresentam aumento da angiogênese, os pré-adipócitos com baixa expressão de CD36 não se diferenciam em adipócitos e, finalmente, as células do sistema imunológico com baixa expressão de CD36 estão num estado M2 (pró-tumoral) e não M1 (antitumoral). Este estudo também documenta que o CD36 controla um programa multicelular coordenado e que o CD36 é necessário e suficiente para controlar uma ampla gama de fenótipos pró-tumorais (Defilippis et al., 2014; Gascard e Tlsty, 2016).

Nos últimos anos, estudos recentes mostraram que o direcionamento de CAFs pode resultar em efeitos pró-tumorais dependendo do alvo e do contexto tecidual (Koliaraki et al., 2015). Conceituar os CAFs como estruturas emergentes que constituem um componente principal de uma estrutura em progressão mais abrangente (malignidade) pode ajudar a compreensão de como os CAFs contribuem para a biologia da malignidade nas neoplasias mamárias (Gascard e Tlsty, 2016).

Estroma tumoral

A glândula mamária de fêmeas adultas é um órgão secretor composto por células epiteliais e mesenquimais interdependentes. Hormônios sistêmicos, fatores de crescimento autócrinos e parácrinos e as citocinas regulam praticamente todas as fases do desenvolvimento da glândula mamária. Durante a organogênese, as células epiteliais e mesenquimais interagem para formar precursores do parênquima e estroma na glândula madura através dos ciclos de proliferação celular, diferenciação e involução. Além disso, respostas fisiológicas, como inflamação e eventos patológicos, tais como a tumorigênese é notável por suas semelhanças com a morfogênese embrionária (Sakakura et al., 2013). A membrana basal, diversas células do sistema imunológico, capilares, fibroblastos e a MEC adjacente constituem o estroma tumoral (Ronnov-Jessen et al., 1996). A membrana basal é constituída por uma camada de glicoproteínas (laminina, colágeno do tipo IV e entactina) e proteoglicanas secretadas pelas células epiteliais (Ronnov-Jessen et al., 1996).

Atualmente, existe interesse constante em entender as diferenças entre o estroma normal e o reativo. O estroma normal na maioria dos órgãos contém um número mínimo de fibroblastos associados a MEC fisiológica (Ronnov-Jessen et al., 1996). O estroma reativo está associado ao aumento do número de fibroblastos, maior densidade capilar, colágeno do tipo II e deposição de fibrina. Isso demonstra que o estroma reativo promove sinalização para facilitar a oncogênese (Dolberg et al., 1985).

Além de influenciar a migração de células neoplásicas, a MEC também atua em diversas vias por meio da modulação da liberação de fatores de crescimento e de interações diretas entre células e integrinas (Hynes, 1992). Alguns estudos indicam que os fibroblastos podem afetar a progressão neoplásica pela secreção e organização da MEC alterada dentro do estroma tumoral. Entretanto, os efeitos da MEC alterada nos tumores e os CAFs na angiogênese durante a progressão neoplásica ainda é pobremente compreendido (Fig. 1; Kaliuri e Zeisberg, 2006).

Os tecidos saudáveis e tumores sólidos possuem duas regiões distintas denominado parênquima (o leito tumoral nos tumores sólidos) e região estromal (parte do microambiente tumoral). Nos estágios iniciais do desenvolvimento tumoral, as células neoplásicas estão incorporadas neste microambiente por meio do epitélio, mas estão separados do tecido conjuntivo adjacente pelo limite da membrana basal (Hanahan e Weinberg, 2000). No entanto, a membrana basal que normalmente separa estas duas regiões em tecidos saudáveis é tipicamente incompleta e possui demarcação mal definida entre estas duas áreas nas neoplasias sólidas. Dessa maneira, elementos do microambiente tumoral podem interagir com as células neoplásicas e afetar seu crescimento em diversas maneiras, como por exemplo, fatores de crescimento presentes no microambiente tumoral podem influenciar a sobrevivência das células neoplásicas, favorecendo a invasão e disseminação destas células (Nakasome et al., 2012; Turley et al., 2015). O processo é dinâmico e a relação entre as células neoplásicas e seu microambiente é formada precocemente na transformação maligna (Turley et al., 2015).

À medida que as células neoplásicas se dividem, ocorre a formação de nódulos neoplásicos e focos metastáticos. Estas modificações geram profundas alterações moleculares, celulares e físicas no tecido em que o crescimento ocorre. O microambiente tumoral emergente é composto por diferentes células não malignas, incluindo as BECs e células endoteliais linfáticas (LECs), células mesenquimais e sua progênie diferenciada, CAFs, pericitos e células do sistema imunológico, juntamente com a MEC e mediadores inflamatórios (Gascard e Tlsty, 2016; Turley et al., 2015). Assim, cada um dos componentes do estroma descrito acima é essencial para a homeostase adequada dos tecidos, mantendo a arquitetura e o mais importante, funções fisiologicamente apropriadas (Gascard e Tlsty, 2016). Além disso, também foram observadas em alguns tumores outras populações de células estromais mais raras, como neurônios, fibrócitos, adipócitos e células dendríticas foliculares (Gascard e Tlsty, 2016). Desse modo, é amplamente aceito que o sistema imunológico pode reconhecer e responder às células tumorais, naturalmente ou após intervenção terapêutica (Turley et al., 2015).

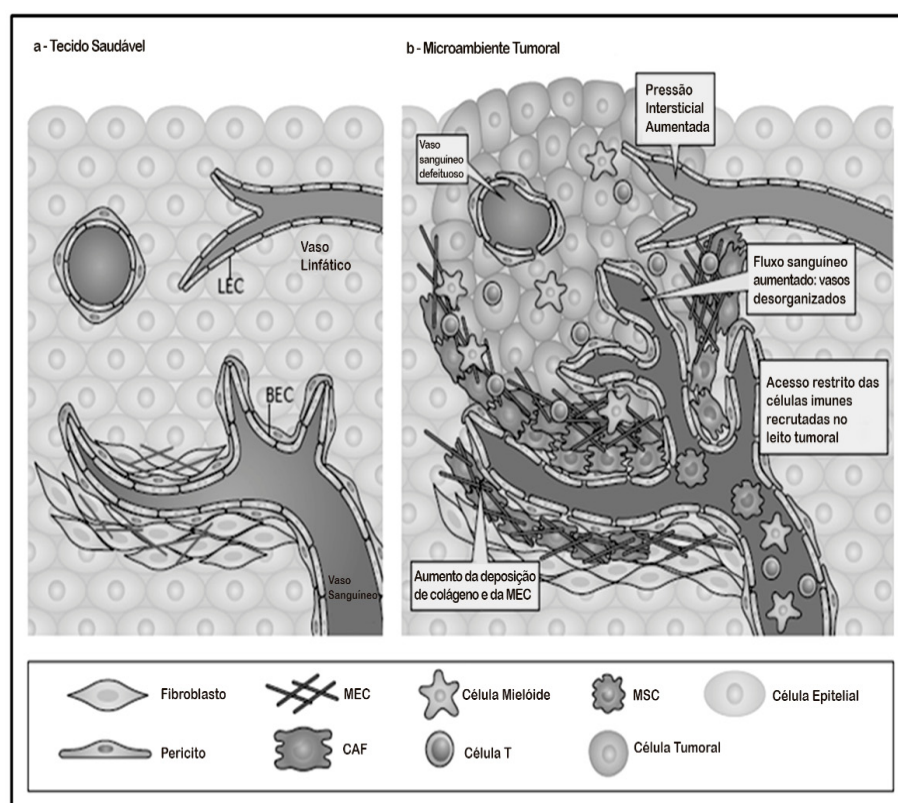


Figura 1. Alterações celulares e teciduais que ocorrem no microambiente tumoral. A: Células estromais presentes no espaço intersticial que envolvem o parênquima de vários órgãos promovendo a integridade dos tecidos, fornecendo fatores de crescimento e suporte estrutural. Células endoteliais de sangue (BECs) e pericitos mantêm a integridade dos vasos sanguíneos e garantem o fornecimento de oxigênio e outros nutrientes para o tecido. O fluido intersticial é drenado por vasos linfáticos. Os fibroblastos estão constantemente remodelando a MEC para lidar com o estresse mecânico dentro do tecido conjuntivo. B: Microambiente tumoral. A transformação maligna é acompanhada pela formação do tumor e alterações profundas ao redor. O desequilíbrio entre fatores pró e anti-angiogênicos resulta na formação de vasculatura aberrante, caracterizada por inúmeros vasos sanguíneos, aumento da pressão intersticial e drenagem inadequada pelos vasos linfáticos. O recrutamento de células-tronco mesenquimais circulantes (MSCs), a ativação de CAFs levam ao acúmulo marcado de MEC. Finalmente, várias quimiocinas e citocinas no microambiente tumoral atraem células T ativadas e células mielóides para a lesão tumoral, mas os vasos sanguíneos tortuosos e a densa MEC muitas vezes impedem o acesso ao tumor. Embora a composição da MEC possa diferir entre diferentes tipos de tumor e os estágios de crescimento, pode-se observar que as mudanças na arquitetura celular do microambiente tumoral influenciam o crescimento tumoral, metástase e resistência a drogas. Adaptado de Turley et al. (2015).

O estroma em torno de células neoplásicas influencia o desenvolvimento e o comportamento do tumor em vários órgãos (Ahn et al., 2012; Folgueira et al., 2013). Diversos estudos descrevem o papel do estroma tumoral nas neoplasias mamárias invasivas. Estudos utilizando expressão gênica em carcinomas mamários revelaram uma assinatura genética relacionada ao estroma que pode prever progressão e evolução metastática (Ahn et al., 2012).

Embora a composição do microambiente tumoral varie entre os diversos de tipos de neoplasias, as neoplasias sólidas podem apresentar a maioria das características neoplásicas que levam a progressão deste processo (Ahn et al., 2012). Como exemplo de tais características, a angiogênese anormal e a infiltração de várias células do sistema imunológico provenientes da resposta imunológica inata e adaptativa (células T, células B, células dendríticas e macrófagos) podem executar funções pró e antitumoral (Turley et al., 2015).

Resumidamente, a regulação da infiltração de células imunes no microambiente tumoral inicia-se através das anormalidades estruturais e moleculares da vasculatura tumoral, representando um dos principais obstáculos para a infiltração de células imunes. A diminuição da maturação dos pericitos contribui para a formação de uma barreira no recrutamento de linfócitos. Moléculas como o fator de crescimento epidérmico 7 (EGF-7) e o óxido nítrico (NO) dificultam a expressão das moléculas de adesão intercelular e vascular 1 (ICAM1 e VCAM1) e BECs, resultando em redução da adesão e extravasamento de linfócitos. Em contraste, as BECs associadas aos tumores regulam moléculas de adesão celular e expressão de CD166, que se ligam as

integrinas e CD6 e também nas células T reguladoras (TRegs), promovendo o extravasamento destas células (Turley et al., 2015).

Várias quimiocinas segregadas através dos CAFs modulam a paisagem do estroma tumoral ligando diferentes quimiocinas, repelindo as células T e recrutando as células mielóides, incluindo macrófagos e células mielóides supressoras (Turley et al., 2015).

Para a ativação da ação antitumoral, foi proposto que etapas distintas devem estar presentes para que a imunidade antitumoral produtiva possa se desenvolver. Os antígenos liberados de tumores são passivamente transportados na linfa e capturados por células dendríticas (CDs) e levados aos nódulos através dos vasos linfáticos aferentes. Neste processo, as CDs apresentam peptídeos derivados do tumor, as moléculas de MHC e ativam o específico antígeno de CD4⁺ e as células T CD8⁺. As células T efetoras recentemente ativadas juntamente com a adesão de quimiocinas direcionam as células T circulantes para migrar para o leito tumoral, onde elas procuram por células-alvo exibindo seus antígenos e eliminando-os. A morte celular de células neoplásicas também leva a liberação de antígenos tumorais adicionais que, por sua vez, são transportados para o nódulo linfático drenante, iniciando o ciclo novamente. Sob circunstâncias ideais, o ciclo de imunidade ao câncer leva a erradicação de células malignas por imunidade citotóxica celular, estabelecendo memória imunológica específica contra o tumor e prevenindo a progressão tumoral adicional (Fig. 2; Turley et al., 2015).

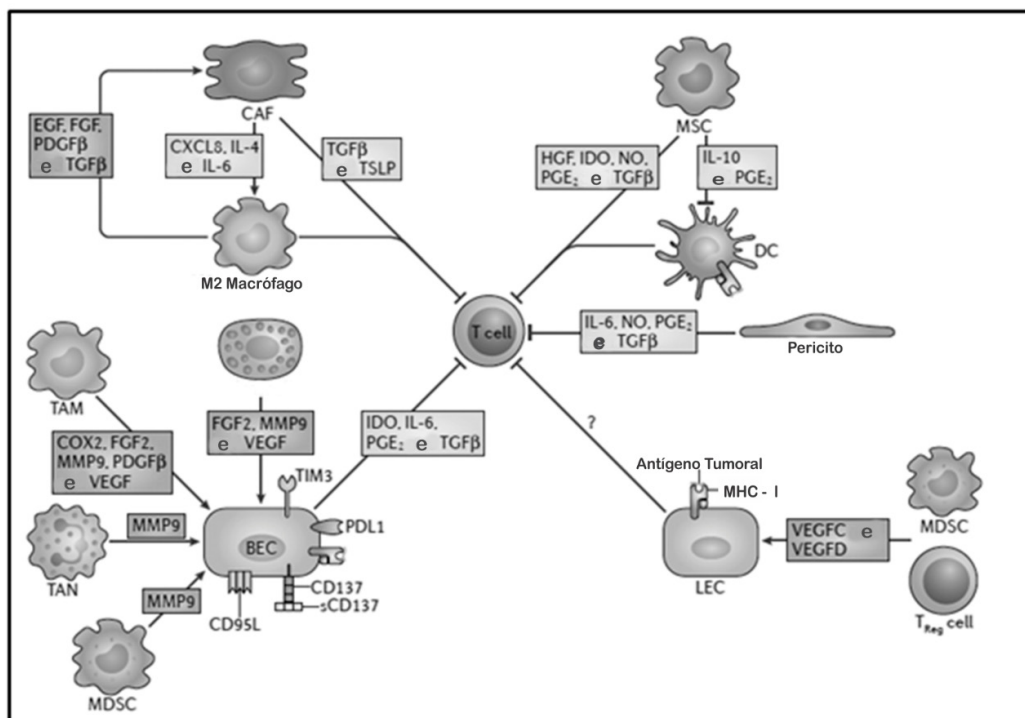


Figura 2: Comunicação intercelular no microambiente tumoral. As células do microambiente tumoral expressam diversas moléculas superficiais que suprimem diretamente células T CD4⁺ e CD8⁺ e ativam as células mielóides imunossupressoras. As BECs expressam diversas citocinas (PDL1, TIM3 e CD95L ou FASL), na sua superfície e segregam IL-6, PGE2 e TGF-β. As BECs expressam uma forma solúvel de CD13 que inibem seu co-estimulador do CD137 ligado à membrana. Os pericitos segregam vários fatores com propriedades imunossupressoras, como IL-6, NO, PGE-2 e TGF-β. As MSCs secretam HGF, IDO, NO, PGE2 e TGF-β, o que inibe a atividade citotóxica e a diferenciação das células T helper 1 (TH1). A IL-10 segregada com MSCs e a PGE2 também prejudicam a maturação das CDs contribuindo para a ativação de células T menos eficientes. Os CAFs secretam TGF-β e linfopoietina estromal tímica (TSLP), que inibem as células T e promovem a inclinação das células T para um fenótipo TH2, respectivamente. Os CAFs secretam citocinas inflamatórias, incluindo o ligando CXC-quimiocinas 8 (CXCL8), IL-4 e IL-6, que ativam macrófagos M2 e suprimem a atividade das células T. Os macrófagos M2 segregam fatores de crescimento (EGF, FGF, fator de crescimento derivado de plaquetas-β (PDGFβ) e TGF-β) que apoiam a sobrevivência e ativação dos CAFs, incluindo o aumento produção da MEC. Além disso, os macrófagos associados a tumores (TAMs), e os neutrófilos associados aos tumores (TANs), células supressoras derivadas de mielóides (MDSCs) e mastócitos podem secretar a metaloproteínase de matriz 9 (MMP9) para liberar fatores mitogênicos armazenados na MEC que induzem a sobrevivência e angiogênese das BECs. Essas células imunes também segregam mediadores solúveis, como a ciclooxygenase 2 (COX2), FGF2, BEGs PDGF-β e o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), para promover diretamente a sobrevivência das BECs. Finalmente, os MDSCs e as células T reguladoras (T Regs) secretam VEGFC e VEGFD para apoiar a sobrevivência de LECs e a formação de vasos linfáticos. Adaptado de Turley et al. (2015).

Em relação ao carcinoma *in situ*, este tipo está associado ao estroma reativo (Ronnov-Jessen et al., 1996). A influência do estroma reativo nas células neoplásicas e vice-versa ainda é um tema bastante debatido e ainda não está totalmente esclarecida à maneira pela qual o carcinoma *in situ* permanece localizado contido pela membrana basal ou torna-se invasivo por meio da degradação da mesma (Hanahan e Weinberg, 2000; Kalluri, 2003).

Estudos recentes ampliaram o conceito de microambiente tumoral demonstrando inequivocamente que, em alguns tumores, o estroma vai além do papel de facilitador e excitador da oncogênese, pois, alterações na sinalização de células estromais e epiteliais podem ocorrer como a produção de fatores de crescimento, citocinas, componentes da MEC e enzimas degradantes (Procopio et al., 2015). Estratégias terapêuticas recentes têm surgido voltadas para reverter às alterações associadas ao estroma pró-tumoral (Gascard e Tlsty, 2016). Diversos estudos clínicos experimentais baseados no uso de agentes direcionados contra proteínas específicas dos fibroblastos. As terapias direcionadas aos fibroblastos interferem na sua sobrevivência ou "normalizando-os" (Kalluri e Zeisberg 2006). Estes estudos incluem agentes que atuam sobre a FAP (protease ligada à membrana expressa seletivamente em fibroblastos). O silenciamento desta protease está envolvida no crescimento tumoral e a angiogênese em modelos murinos de diversos tipos tumorais (Santos et al., 2009). Recentemente, foi demonstrado em um estudo que os CAFs expressaram intensamente FAP em mastocitomas caninos. Além disso, a alta expressão de FAP foi correlacionada positivamente com o grau histopatológico, índice mitótico e expressão de Ki67 (Giuliano et al., 2017).

Além disso, outras terapias potenciais destinadas a reverter o estado dos CAFs para um estado fibroblástico não promotor de tumores incluem modificadores epigenéticos, inibidores de TGF- β (e membros da família TGF- β) e inibidores de PDGFR, dentre outros (Gascard e Tlsty, 2016).

Considerações Finais

Nota-se que fatores relacionados ao estroma tem demonstrado importante relevância no desenvolvimento de tumores, com crescente interesse no que cerne às neoplasias mamárias. Considerando a singular prevalência dos tumores mamários de cadelas e sua semelhança com a afecção observada em mulheres, torna-se fundamental explorar potenciais biomarcadores de características estromais que possam levar à detecção precoce das neoplasias mamárias e sua correlação com a malignidade destas lesões. Embora os mecanismos subjacentes ao estroma permaneçam pouco compreendidos, esta revisão revela e encoraja a detecção de novas vias patogênicas das neoplasias mamárias.

Referências

- Ahn S, Cho J, Sung J, Lee JE, Nam SJ, Kim KM, Cho EY. The prognostic significance of tumor-associated stroma in invasive breast carcinoma. *Tumor Biol*, v.33, n.5, p.1573-1580, 2012.
- Anderberg C, Pietras K. On the origin of cancer-associated fibroblasts. *Cell Cycle*, v.8, n.10, p.1461-1462, 2009.
- Bhowmick NA, Neilson EG, Moses HL. Stromal fibroblasts in cancer initiation and progression. *Nature*, v.432, n.7015, p.332-337, 2004.
- Bryony SW, Zena W. Stromal effects on mammary gland development and breast cancer. *Science*, v.296, n.5570, p.1046-1049, 2002.
- DeFilippis RA, Fordyce C, Patten K, Chang H, Zhao J, Fontenay GV, Kerlikowske K, Parvin B, Tlsty TD. Stress signaling from human mammary epithelial cells contributes to phenotypes of mammographic density. *Cancer Res*, v.74, n.18, p.5032-5044, 2014.
- Demehri S, Kopan R. Notch signaling in bulge stem cells is not required for selection of hair follicle fate. *Development*, v.136, n.6, p.891-896, 2009.
- Dolberg, DS, Hollingsworth R, Hertle M, Bissel MJ. Wounding and its role in RSV-mediated tumor formation. *Science*, v.230, n.4726, p.676-678, 1985.
- Folgueira MA, Maistro S, Katayama ML, Roela RA, Mundim FG, Nanogaki S, de Bock GH, Brentani MM. Markers of breast cancer stromal fibroblasts in the primary tumors site associated with lymph node metastasis: a systematic review including our case series. *Biosci Rep*, v.33, n.6, 2013.
- Gascard P, Tlsty TD. Carcinoma-associated fibroblasts: orchestrating the composition of malignancy. *Genes Dev*, v.30, n.9, p.1002-1019, 2016.
- Giuliano A, Dos Santos Horta R, Constantino-Casas F, Hoather T, Dobson J. Expression of fibroblast activating protein and correlation with histological grade, Mitotic index and Ki67 expression in canine mast cell tumours. *J Comp Pathol*, v.156, n.1, p.14-20, 2017.
- Hanahan DE, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell*, v.100, n.1, p.57-70, 2000.
- Hynes RO. Integrins: versatility, modulation and signaling in cell adhesion. *Cell*, v.69, n.1, p.11-25, 1992.
- Erika Jensen-Jarolim, Judit Fazekas, Josef Singer, Gerlinde Hofstetter, Kumiko Oida, Hiroshi Matsuda, Akane Tanaka. Crosstalk of carcino embryonic antigen and transforming growth factor- β via their receptors:

- comparing human and canine cancer. *Cancer Immunol Immunother*, v.64, n.5, p.531-537, 2015.
- Kalluri, R.** Basement membranes: structure, assembly and role in tumor angiogenesis. *Nat Rev Cancer*, v.3, n.6, p.422-433, 2003.
- Kalluri R, Zeisberg M.** Fibroblasts in cancer. *Nat Rev Cancer*, v.6, n.5, p.392-40, 2006.
- Klopfleisch R, Schütze, M, Gruber AD.** Downregulation of transforming growth factor b (TGFβ) and latent TGFβ binding protein (LTBP)-4 expression in late stage canine mammary tumors. *Vet J*, v.186, n.3, p.379-384, 2010.
- Koliaraki V, Pasparakis M, Kollias G.** IKKβ in intestinal mesenchymal cells promotes initiation of colitis-associated cancer. *J Exp Med*, v.212, n.13, p.2235-2251, 2015.
- Morry J, Ngamcherdtrakul W, Yantasee W.** Oxidative stress in cancer and fibrosis: Opportunity for therapeutic intervention with antioxidant compounds, enzymes, and nanoparticles. *Redox Biol*, v.11, p.240-253, 2017.
- Nakasone ES, Askautrud HA, Kees T, Park JH, Plaks V, Ewald AJ, Fein M, Rasch MG, Tan YX, Qiu J, Park J, Sinha P, Bissell MJ, Frengen E, Werb Z, Egeblad M.** Imaging tumor-stroma interactions during chemotherapy reveals contributions of the microenvironment to resistance. *Cancer Cell*, v.21, p.488-503, 2012.
- Peña L, Gama A, Goldschmidt MH, Abadie J, Benazzi C, Castagnaro M, Díez L, Gärtner F, Hellmén E, Kiupel M, Millán Y, Miller MA, Nguyen F, Poli A, Sarli G, Zappulli V, de las Mulas JM.** Canine mammary tumors: a review and consensus of standard guidelines on epithelial and myoepithelial phenotype markers, HER2, and hormone receptor assessment using immunohistochemistry. *Vet Pathol*, v.51, n.1, p.127-45, 2014.
- Pietras K, Östman A.** Hallmarks of cancer: Interactions with the tumor stroma. *Exp Cell Res*, v.316, n.8, p.1324-1333, 2010.
- Procopio MG, Laszlo C, Al Labban D, Kim DE¹, Bordignon P, Jo SH, Goruppi S, Menietti E, Ostano P, Ala U, Provero P, Hoetzenecker W, Neel V, Kilarski WW, Swartz MA, Briskin C, Lefort K, Dotto GP.** Combined CSL and p53 downregulation promotes cancer-associated fibroblast activation. *Nat Cell Biol*, v.17, n.9, p.1193-1204, 2015.
- Raffaghello L, Dazzi F.** Classification and biology of tumor associated stromal cells. *Immunol Lett*, v.168, n.2, p.175-182, 2015.
- Ronnov-Jensen L, Petersen OW, Bissell MJ.** Cellular changes involved in conversion of normal to malignant breast: importance of stroma reaction. *Physiol Rev*, v.76, n.1, p.69-125, 1996.
- Sakakura T, Suzuki Y, Shiurba R.** Mammary stroma in development and carcinogenesis. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, v.18, n.2, p.189-97, 2013.
- Santos AM, Jung J, Aziz N, Kissil JL, Pure E.** Targeting fibroblast activation protein inhibits tumor stromagenesis and growth in mice. *J Clin Invest*, v.119, n.12, p.3613-3625, 2009.
- Santos AA, Lopes CC, Ribeiro JR, Martins LR, Santos JC, Amorim IF, Gärtner F, Matos AJ.** Identification of prognostic factors in canine mammary malignant tumors: a multivariable survival study. *BMC Vet Res*, v.9, n.1, 2013.
- Turley SJ, Cremasco V, Astarita JL.** Immunological hallmarks of stromal cells in the tumour microenvironment. *Nat Rev Immunol*, v.15, n.11, p.669-682, 2015.
- West RB, Nuyten DS, Subramanian S, Nielsen TO, Corless CL, Rubin BP, Montgomery K, Zhu S, Patel R, Hernandez-Boussard T, Goldblum JR, Brown PO, van de Vijver M, van de Rijn M.** Determination of stromal signatures in breast carcinoma. *PLoS Biol*, v.3, n.6, e187, 2005.
- Visan S, Balacescu O, Berindan-Neagoe I, Catoi C.** *In vitro* comparative models for canine and human breast cancers. *Clujul Med*, v.89, n.1, p.38-49, 2016.