

MARCELLA GIANCOLI KATO CANO DA SILVA

**AVALIAÇÃO CELULAR E DOS COMPONENTES COLÁGENOS E NÃO  
COLÁGENOS DA MATRIZ EXTRACELULAR DO MASTOCITOMA  
CUTÂNEO CANINO**

São Paulo  
2023

MARCELLA GIANCOLI KATO CANO DA SILVA

**AVALIAÇÃO CELULAR E DOS COMPONENTES COLÁGENOS E NÃO  
COLÁGENOS DA MATRIZ EXTRACELULAR DO MASTOCITOMA  
CUTÂNEO CANINO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-  
Graduação em Anatomia dos Animais  
Domésticos e Silvestres da Faculdade de  
Medicina Veterinária e Zootecnia da  
Universidade de São Paulo para obtenção do  
título de Doutor em Ciências.

**Departamento:**

Cirurgia (VCI)

**Área de concentração:**

Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres

**Orientadora:**

Prof<sup>a</sup> Dra<sup>a</sup> Ana Claudia Oliveira Carreira Nishiyama

São Paulo  
2023

## RESUMO

**SILVA, M.G.K.C. Avaliação celular e dos componentes colágenos e não colágenos da matriz extracelular do mastocitoma cutâneo canino. 2023. 138f– Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2023.**

O mastocitoma tem se destacado dentro da oncologia veterinária por ocupar o lugar do câncer mais incidentes nos cães. Esse tumor se origina dos mastócitos, que são células de origem hematopoiética e que migram para diferentes tecidos, maturando de acordo com a necessidade e ação em processos pró-inflamatórios. O mastocitoma canino possui diferentes formas de se manifestar, o que dificulta o reconhecimento primário pelo tutor e, muitas vezes, sendo tardiamente diagnosticado, com isso evoluindo e despertando maiores chances de se metastatizar de forma regional pela via linfática para linfonodos sentinelas e distante, baço e fígado. A graduação histológica classifica o mastocitoma como baixo ou alto grau, mas mesmo após a graduação ainda há dúvidas sobre o comportamento, que pode ser metastático mesmo no tecido de baixo grau. Já é estabelecido o papel da matriz extracelular e a interação com as células como uma chave importante na evolução tumoral, mas que ainda foi pouco investigada no mastocitoma canino. Por isso, este trabalho, apresenta uma revisão de literatura e estudos experimentais, sendo apresentados na forma de quatro artigos, focados na matriz extracelular e seus componentes colágenos e não colágenos, e no cultivo 3D de células derivados dos tumores. No primeiro capítulo foi realizado uma revisão de literatura, abordando o desenvolvimento dos mastócitos de forma fisiológica até a transformação maligna, com isso colocar os principais achados relacionados a biologia tumoral, diagnostico e tratamentos atuais mais relevantes ao mastocitoma canino. O segundo capítulo, compreende a análise ultraestrutural do mastocitoma canino, comparando a graduação alta e baixa, em relação a arranjo, organização das fibras, quantidades de colágenos e a descrição desses componentes com as células, através de colorações histológicas e microscopia eletrônica de varredura. As características estruturais diferentes entre os dois graus de tumor, demonstraram diferenças significativas e que se assemelham a outros tipos de tumores agressivos. Após o detalhamento estrutural, no terceiro capítulo, buscou-se a investigação dos componentes colágenos e não colágenos como forma de estabelecer uma correlação com o mastocitoma de alto e baixo grau, objetivando avaliar novas moléculas como critério prognóstico. Por fim, no quarto capítulo buscou-se obter uma análise da matriz extracelular do mastocitoma, de forma a

obter um protocolo para decelularização do tecido, bem como o estabelecimento de um cultivo primário 2D e posterior cultivo 3D, com a obtenção de esferóides para serem utilizados como uma ferramenta *in vitro* para teste de alvos terapêutico e mimetizar a resposta individual dos pacientes. Portanto, conclui-se que a matriz extracelular com seus componentes demonstrou aspectos importantes, apresentando moléculas que podem futuramente serem utilizadas como alvo terapêutico no mastocitoma canino.

**Palavras-chaves:** Matriz-extracelular. Metastáse. Biomaterial. Biomarcadores. Ultraestrutura.

## ABSTRACT

**SILVA, M.G.K.C. Evaluation of cells and collagen and non-collagen components of the extracellular matrix of canine cutaneous mast cell tumors. 2023. 138f– Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2023.**

Mast cell tumor has stood out within veterinary oncology for occupying the place of the most incident cancer in dogs. This tumor originates from mast cells, which are cells of hematopoietic origin that migrate to different tissues, maturing according to the need and action in pro-inflammatory processes. Canine mast cell tumor has different ways of manifesting, which makes it difficult for the owner to recognize it first and, often, being diagnosed late, with this evolving and raising greater chances of metastasizing regionally through the lymphatic route to sentinel lymph nodes and distant, spleen and liver. Histological grading classifies mast cell tumors as low or high grade, but even after grading there are still doubts about the behavior, which can be metastatic even in low grade tissue. The role of the extracellular matrix and the interaction with cells is already established as an important key in tumor evolution, but it has still been little investigated in canine mastocytoma. Therefore, this work presents a literature review and experimental studies, being presented in the form of four articles, focused on the extracellular matrix and its collagen and non-collagen components, and the 3D culture of tumor-derived cells. In the first chapter, a literature review was carried out, addressing the development of mast cells in a physiological way until malignant transformation, with this placing the main findings related to tumor biology, diagnosis, and current treatments most relevant to canine mast cell tumor. The second chapter comprises the ultrastructural analysis of canine mastocytoma, comparing the high and low grades, about arrangement, fiber organization, amounts of collagen and the description of these components with the cells, through histological staining and scanning electron microscopy. The different structural characteristics between the two tumor grades demonstrated significant differences that resemble other types of aggressive tumors. After the structural detailing, in the third chapter, we sought to investigate the collagen and non-collagen components to establish a correlation with high and low grade mastocytoma, aiming to evaluate new molecules as a prognostic criterion. Finally, in the fourth chapter, we sought to obtain an analysis of the extracellular matrix of the mast cell tumor, to obtain a protocol for decellularization of the tissue, as well as the establishment of a primary 2D culture and subsequent 3D culture, with the obtaining of spheroids to be used as an in vitro tool for

testing therapeutic targets and mimicking individual patient response. Therefore, it is concluded that the extracellular matrix with its components demonstrated important aspects, presenting molecules that can be used in the future as a therapeutic target in canine mast cell tumor.

**Keywords:** Extracellular matrix. Metastasis. Biomaterial. Biomarkers. Ultrastructure.