

# ANÁLISE DO PERFIL DOS MASTÓCITOS EM FIBROADENOMAS E CARCINOMAS DUCTAIS DE MAMA

## MAST CELLS PROFILE ANALYSIS IN FIBROADENOMAS AND DUCTAL BREAST CARCINOMAS

## ANÁLISIS DEL PERFIL DE LOS MASTÓCITOS EN EL FIBROADENOMA DE MAMA Y CARCINOMAS DUCTALES

Manuela Duarte Micheletto\*, Camila Brambilla de Souza\*\*, Sara de Souza Costa\*\*\*, Helena Ribeiro Souza\*\*\*\*, Mairto Robérís Geromel\*\*\*\*\*, Ana Paula Girol\*\*\*\*\*

### Resumo

**Introdução:** O câncer de mama acomete milhares de mulheres no Brasil e no mundo, o que estimula pesquisas nesse campo. Os mastócitos (MCs) são células inflamatórias relacionadas ao microambiente tumoral e que podem variar de acordo com o tipo e o estadiamento dos tumores. **Objetivo:** Por essas razões, buscou-se analisar o comportamento dos MCs em biópsias de tumores de mama benignos, os fibroadenomas, e malignos, os carcinomas de graus 1, 2 e 3 metastáticos ou não. **Material e Método:** Estudo realizado por meio da quantificação dessas células, avaliação do seu estado de ativação, após coloração com Azul de Toluidina bem como, da heterogeneidade, pela imuno-histoquímica para as proteases triptase e quimase. **Resultados:** Modulação no número de MCs e do estado de ativação nos fibroadenomas e carcinomas de graus 1, 2 e 3, com e sem metástases. **Conclusão:** Evidenciou-se a participação ativa dessas células no desenvolvimento tumoral.

**Palavras-chave:** Câncer de mama. Mastócitos. Triptase. Quimase. Fibroadenoma. Imuno-histoquímica.

### Abstract

**Introduction:** Breast cancer affects thousands of women in Brazil and over around the world, and this fact stimulates research in this field. Mast cells (MCs) are inflammatory cells related to the tumoral microenvironment and they may vary according to the type and staging of tumors. **Objective:** For these reasons, we looked for analyzing the profile of MCs in biopsies of benign breast tumors, the fibroadenomas, as well as of malignant ones, the carcinomas of 1, 2 and 3 degree, metastatic or not. **Materials and method:** The study was carried out by quantifying these cells, evaluating their activation state, after staining with Toluidine Blue, as well as their heterogeneity, by immunohistochemistry for the proteases tryptase and kinase. **Results:** Modulation in the MCs number and activation state in both fibroadenomas and carcinomas of 1, 2 and 3 degree, with and without metastases. **Conclusion:** we demonstrated the active participation of these cells in tumor development.

**Keywords:** Breast neoplasms. Mast cells. Tryptase. Chymase. Fibroadenoma. Immunohistochemistry.

### Resumen

**Introducción:** El cáncer de mama afecta a miles de mujeres en Brasil y en el mundo, lo que estimula las investigaciones en este campo. Los mastocitos (MCs) son células inflamatorias relacionadas con el microambiente tumoral y que pueden variar de acuerdo con el tipo y la estadificación de los tumores. **Objetivo:** Por estas razones, se buscó analizar el comportamiento de los MCs en biopsias de tumores de mama benignos, los fibroadenomas, y los malignos, los carcinomas de grados 1, 2 y 3 metastáticos o no. **Material y Método:** Estudio realizado por medio de la cuantificación de esas células, evaluación de su estado de activación, después de la coloración con Azul de Toluidina así como de la heterogeneidad, por la imuno-histoquímica para las proteasas, triptasa y quimase. **Resultados:** Modulación en el número de MCs y del estado de activación en los fibroadenomas y carcinomas de grados 1, 2 y 3, con y sin metástasis. **Conclusión:** Se evidenció la participación activa de estas células en el desarrollo tumoral.

**Palabras clave:** Neoplasias de la mama. Mastocitos. Triptasa. Quimasa. Fibroadenoma. Imuno-histoquímica.

\* Graduada no curso de Medicina das Faculdades Integradas Padre Albino (FIPA) de Catanduva-SP.

\*\* Médica graduada pelas Faculdades Integradas Padre Albino, residente em Clínica Médica nos Hospitais-Escolas Emílio Carlos e Padre Albino, de Catanduva-SP.

\*\*\* Bióloga, mestranda do Programa de Pós-Graduação em Genética, área de concentração Biologia Celular e Molecular, da Universidade Estadual Paulista (UNESP), de São José do Rio Preto-SP.

\*\*\*\*Bióloga, mestre em Genética, área de concentração Biologia Celular e Molecular, UNESP de São José do Rio Preto, e técnica do Laboratório de Imuno-histoquímica das FIPA.

\*\*\*\*\*Técnico do Laboratório de Histopatologia e Imuno-histoquímica das Faculdades Integradas Padre Albino (FIPA), Catanduva-SP.

\*\*\*\*\*Bióloga, mestre em Morfologia pela UNIFESP, doutora em Genética, área de concentração Biologia Celular e Molecular e pós-doutora em Imunomorfologia pela UNESP de São José do Rio Preto-SP. Coordenadora do curso de Biomedicina das Faculdades Integradas Padre Albino (FIPA). Professora (nível I) das disciplinas de Biologia Celular, Histologia e Embriologia das FIPA e docente da Pós-Graduação em Genética, UNESP de São José do Rio Preto-SP. Contato: anapaulagirol@hotmail.com

Trabalho desenvolvido nos laboratórios de Histopatologia, Imuno-histoquímica e Multidisciplinar das Faculdades Integradas Padre Albino (FIPA), Catanduva-SP.

## INTRODUÇÃO

O câncer de mama acomete milhares de mulheres no Brasil e no mundo, sendo a segunda neoplasia mais frequente dentre as outras, ficando atrás do câncer de pele não melanoma e classificado com a quinta causa de morte por câncer em geral<sup>1-3</sup>.

A redução da mortalidade do câncer de mama requer a união de diversas estratégias, tais como: medidas preventivas para indivíduos com alto risco (como a predisposição genética, exposição ininterrupta a estrógeno e fatores ambientais), identificação precisa da neoplasia e, principalmente, o diagnóstico precoce através do exame clínico e mamografia. Quando estruturas suspeitas são achados mamários significantes em mamografias, é mandatória a realização do exame anatomopatológico. A aspiração por agulha fina é utilizada em caso de nódulos pequenos e não palpáveis, entretanto a biópsia excisional é mais vantajosa e definitiva para o diagnóstico<sup>4</sup>.

De acordo com a classificação histológica dos tumores malignos de mama, mais de 95% são adenocarcinomas e divididos em carcinomas *in situ*, podendo ser ductal ou lobular, e carcinomas invasivos. O carcinoma ductal *in situ* (CDIS) é considerado uma lesão pré-invasiva por reunir diversos tipos de crescimento celular epitelial maligno não-invasivo dentro dos ductos mamários, porém é possível que haja focos de áreas de microinvasão, mas somente 1% dos casos possuem metástase para os linfonodos axilares. O carcinoma lobular *in situ* (CLIS), por ser detectável somente microscopicamente, é sempre um achado secundário de investigação de outras patologias mamárias feitas por biópsia. Este carcinoma é apontado como fator de risco para o desenvolvimento de tumores ductais e lobulares em bilateralidade<sup>5</sup>.

Investigações indicam que o microambiente tumoral é crucial para o desenvolvimento do câncer, caracterizando-se principalmente pela composição alterada da matriz extracelular, alta densidade de microvasos e abundância de células inflamatórias<sup>3,6-8</sup>, como mastócitos (MCs)<sup>9,10</sup>. Os MCs são as primeiras células que respondem aos sinais da iniciação tumoral, em resposta ao *stem cell factor* (SCF) das células tumorais.

No processo de desgranulação os MCs liberam fatores quimiotáticos e proteases como triptase e quimase para o meio extracelular, contribuindo na degradação da matriz extracelular, promoção da angiogênese, invasão

tumoral e remodelação tecidual por meio de proteólises seletivas na matriz e ativação de metaloproteinases<sup>9,11,12</sup>.

A expressão variável das enzimas triptase, quimase e catepsina G, tem levado ao reconhecimento de diferentes subpopulações de MCs humanos. MCs que expressam triptase e quimase (MC<sub>TC</sub>) são abundantes no tecido conjuntivo da pele (derme), submucosa do trato gastrointestinal, parênquima mamário, miocárdio, linfonodos, conjuntiva e sinóvia. Enquanto, aqueles que expressam somente triptase (MC<sub>T</sub>) são localizados, geralmente, na mucosa dos tratos respiratório e gastrointestinal<sup>10,13</sup>. A terceira e menor população de MCs expressa somente quimase e catepsina G (MC<sub>C</sub>)<sup>13</sup>. Alguns estudos têm mostrado que tais classificações não são rígidas, podendo ser modificadas dentro do microambiente tumoral<sup>11</sup>.

Além disso, estudos apontam que o papel do mastócito precisa ser individualmente avaliado e estabelecido para cada tipo de câncer e, também, para diferentes fases do mesmo câncer<sup>9,11,12</sup>. Por essas razões, o objetivo desta pesquisa foi quantificar e avaliar o estado de ativação dos MCs e identificar a heterogeneidade dessas células para as proteases triptase e quimase em biópsias de tumores de mama benignos, os fibroadenomas, e malignos, os carcinomas de graus 1, 2 e 3, metastáticos ou não.

## MATERIAL E MÉTODO

Inicialmente, o projeto foi encaminhado ao CEP-FIPA para avaliação e aprovação (CEP - Protocolo nº. 703.388). A seguir, com a autorização do responsável pelo serviço de Patologia das Faculdades Integradas Padre Albino (FIPA), foram realizadas buscas nos arquivos desse setor para a seleção de casos de tumores de mama benignos, fibroadenomas e carcinomas de graus 1, 2 e 3, metastáticos ou não.

Após separação dos blocos (n=10/grupo), secções de 5µm foram obtidas, preparadas para coloração com Azul de Toluidina a 0,5%, em ácido acético, por 30 segundos, e então, foram feitas análises de quantificação dos MCs. Para essas quantificações foram consideradas as características morfológicas dos MCs, de acordo com o grau de ativação dessas células, sendo separados em intactos e desgranulados. A quantificação dos MCs foi realizada em 10 regiões por lâmina, pela objetiva de 40X no

microscópio *Leica* (DM500) do Laboratório Multidisciplinar das FIPA. As áreas de cada região foram obtidas com o auxílio do *software Leica Image Analysis*. Os dados foram expressos como média  $\pm$  S.E.M. do número de MCs por  $\text{mm}^2$ . As análises estatísticas foram realizadas pelo teste *t* de *Student*, para os fibroadenomas e pela ANOVA, seguida do pós-teste de Bonferroni para os carcinomas ductais de mama. Os valores de *P* menores que 0,05 foram considerados estatisticamente significantes.

Para avaliação da heterogeneidade dos MCs, quanto à expressão das proteases triptase e quimase foram realizadas análises por meio da técnica de imuno-histoquímica. Secções das diferentes amostras foram preparadas em lâminas gelatinizadas, e então, desparafinizadas, re-hidratadas e, após a recuperação antigênica (tampão citrato pH 6,0 a 96°C, durante 20 minutos) e o bloqueio da peroxidase endógena, as secções foram lavadas em PBS e incubadas com os anticorpos primários monoclonais anti-triptase (1:6000) (*Millipore*) e anti-quimase (1:3000) (*Abcam*), diluídos em BSA a 1%. No dia seguinte, foram incubadas com o anticorpo secundário biotilado (*kit Zymed Invitrogen*) e, a seguir, em substrato diaminobenzidina (DAB) (*kit Zymed Invitrogen*) para revelação. Logo após, as secções foram contrainformadas com Hematoxilina. O controle negativo da reação foi obtido pela omissão do anticorpo primário do processo descrito acima.

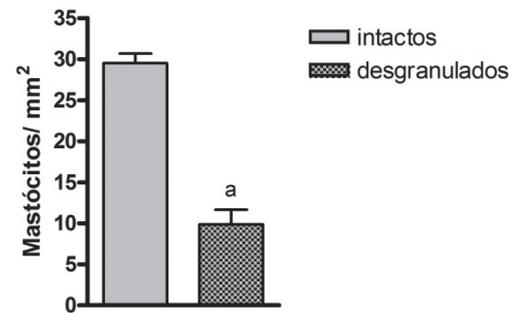
## RESULTADOS

Os MCs foram evidenciados pela metacromasia dos seus grânulos citoplasmáticos após coloração com Azul de Toluidina. A quantificação dos MCs no fibroadenoma mostrou diferença significativa ( $p < 0,001$ ) entre os MCs intactos e desgranulados, com menor quantidade de células em estado de ativação (Figura 1).

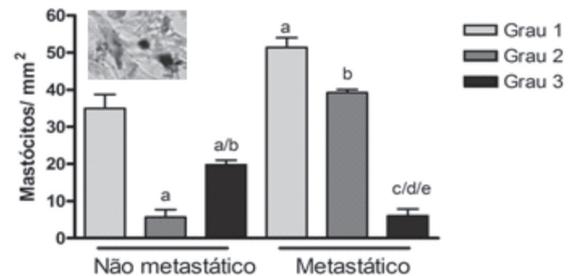
As análises realizadas nos carcinomas ductais evidenciaram que o número de MCs, na maioria intactos, foi significativamente maior nos carcinomas não metastáticos de graus 2 e 3, e principalmente no carcinoma metastático de grau 1, em relação aos demais grupos (Figura 2). Nos carcinomas metastáticos, o número de MCs foi significativamente menor naqueles de graus 2 e 3, em relação ao de grau 1 ( $p < 0,001$ ) (Figuras 2 e 3). Quanto ao estado de ativação, os MCs desgranulados prevaleceram no carcinoma não metastático de grau 1 e nos carcinomas

metastáticos de graus 1 e 2 (Figuras 2 e 3).

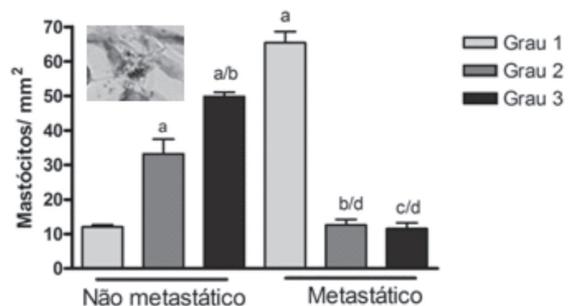
**Figura 1** - Análise quantitativa dos MCs no fibroadenoma, de acordo com o grau de ativação. A maioria dos MCs foram observados intactos. ( $n=10$ ).  $a = p < 0,001$ , desgranulados versus intactos



**Figura 2** - Quantificação de MCs intactos em biópsias de carcinomas ductais de mama de diferentes graus de malignidade. Aumento de MCs nos graus 2 e 3 entre os tumores não metastáticos e redução dessas células nos tumores metastáticos de graus 2 e 3. Grande quantidade de MCs no grau 1 metastático ( $n=10$ /grupo).  $a = P < 0,05$ , grau 1 não metastático versus graus 2 e 3 não metastático e grau 1 metastático;  $b = P < 0,05$ , grau 2 não metastático versus grau 3 não metastático e grau 2 metastático;  $c = P < 0,05$ , grau 3 não metastático versus grau 3 metastático;  $d = P < 0,05$ , grau 1 metastático versus grau 2 e grau 3 metastáticos. No detalhe MC intacto

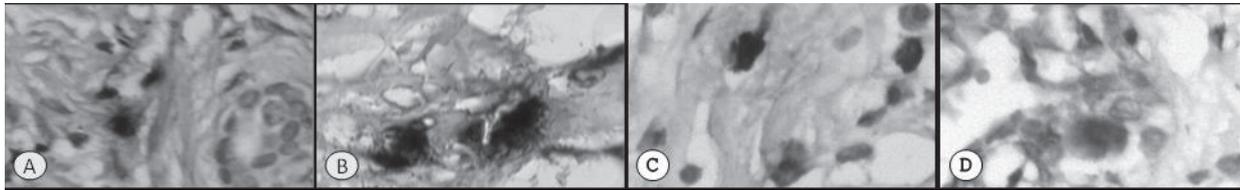


**Figura 3** - Quantificação de MCs desgranulados em biópsias de carcinomas ductais de mama de diferentes graus de malignidade. Diminuição de MCs nos graus 2 e 3 entre os tumores não metastáticos e redução dessas células nos tumores metastáticos de grau 3. Grande quantidade de MCs nos graus 1 e 2 metastáticos ( $n=10$ /grupo).  $a = P < 0,05$ , grau 1 não metastático versus graus 2 e 3 não metastático e grau 1 metastático;  $b = P < 0,05$ , grau 2 não metastático versus grau 3 não metastático e grau 2 metastático;  $c = P < 0,05$ , grau 3 não metastático versus grau 3 metastático;  $d = P < 0,05$ , grau 1 metastático versus grau 3 metastático;  $e = P < 0,05$ , grau 2 metastático versus grau 3 metastático. No detalhe MC desgranulado



As análises imuno-histoquímicas mostraram forte expressão das proteases quimase (Figura 4A) e, especialmente, triptase (Figura 4B) nos carcinomas ductais de todos os grupos estudados. Diferentemente, nos fibroadenomas foi observada somente a expressão de triptase (Figura 4C e D).

**Figura 4** - Análises de heterogeneidade dos MCs. Nos carcinomas ductais, expressão das proteases quimase (A) e triptase (B) nos MCs. No fibroadenoma, expressão para triptase (C) e ausência de imunorreatividade para quimase (D). Contra coloração: Hematoxilina. (100x)



## DISCUSSÃO

Os MCs induzem o desenvolvimento, angiogênese e progressão do tumor mediada por meios da libertação de várias moléculas angiogênicas, tais como Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGF), Fator de Crescimento de Fibroblasto-2 (FGF-2), triptase e quimase<sup>14-16</sup>. Diante da grande incidência de tumores de mama, analisamos o perfil de ativação e a heterogeneidade dos MCs em fibroadenomas e carcinomas ductais de diferentes estágios de malignidade.

Nossos resultados mostraram grande número de MCs intactos nos fibroadenomas, com redução significativa dessas células no estado de desgranulação. De modo geral, numerosos MCs, tanto intactos quanto desgranulados, foram observados nos carcinomas ductais. Contudo, comparações mais detalhadas mostraram um padrão diferencial nas quantificações e estado de ativação dos MCs. Nossas análises mostraram modulação no número de MCs, nos diferentes estágios de progressão tumoral.

Os MCs intactos aumentaram em número conforme o grau de malignidade nos carcinomas ductais não metastáticos. Contudo, a maior quantidade de MCs foi observada nos carcinomas metastáticos de grau 1, com redução acentuada dessas células nos graus 2 e 3.

Nas quantificações dos MCs desgranulados em carcinomas não metastáticos, resultados opostos foram observados, com redução no número de células desgranuladas nos graus 2 e 3, comparados ao grau 1. Também ocorreu diminuição do número de MCs nos tumores metastáticos de grau 2 e, especialmente, de grau 3, com relação ao carcinoma de grau 1. Os tumores metastáticos de grau 1 apresentaram os números de mastócitos mais elevados, tanto intactos quanto desgranulados.

Na maioria dos tumores humanos, maior número de MCs foi associado ao aumento na vascularização, e diminuição na sobrevida do paciente<sup>17</sup>, e está de acordo com nossas observações de MCs intactos nos carcinomas não metastáticos e intactos e desgranulados nos tumores

não metastático e metastático de grau 1.

De modo interessante, muitas das populações de células do estroma infiltrantes no tumor expressam marcadores celulares de MCs. Investigações mostraram que as células mieloides imaturas recrutadas para o desenvolvimento de tumores expressam CD34, CCR1, MMP2 e MMP9<sup>18</sup>, todos os quais estão presentes nos MCs em diferentes fases de desenvolvimento<sup>19,20</sup> e apontam os MCs como células de suporte no desenvolvimento tumoral<sup>11</sup>. Os MCs são também associados com as perturbações físicas da cápsula do tumor, como observado em tumores de mama e próstata<sup>21</sup>.

Por outro lado, a escassez de MCs no interior do núcleo tumoral pode estar associada à desgranulação dessas células, levando a "fantasmas" após a coloração. Contudo, a ausência de MCs no interior da massa tumoral pode ter outro significado<sup>11</sup>. Um estudo com camundongos transgênicos mostrou que os MCs desempenham função importante como interruptor angiogênico durante o crescimento do tumor<sup>22</sup>. Neste estudo, nas fases iniciais de desenvolvimento tumoral, os MCs foram observados aumentados, próximos a vasos sanguíneos e dirigindo a angiogênese, mas não foram encontrados no interior da massa tumoral, enquanto nas fases posteriores, as células tumorais assumiram o controle do crescimento e angiogênese, e o tumor se desenvolveu independente dos MCs. Este estudo corrobora com as nossas observações relacionadas à diminuição de MCs desgranulados nos carcinomas não metastáticos de graus 2 e 3 e dos MCs intactos e desgranulados nos tumores metastáticos de maiores graus de malignidade.

Ainda, a associação de infiltração de MCs com prognóstico pobre depende do tipo de câncer estudado<sup>11</sup>. Mesmo assim, existem dados discordantes na literatura. Uma pesquisa recente aponta aumento significativo dos MCs conforme o aumento no grau da doença em carcinomas ductais de graus 1, 2 e 3<sup>23</sup>. Diferentemente, outra investigação também em carcinoma de mama

invasivo mostrou correlação entre a grande quantidade de MCs e melhor prognóstico<sup>24</sup>, sugerindo um papel anti-tumoral para os MCs, indicando que, em certos ambientes de tumor, as funções anti-tumorais podem substituir o papel de promotor de tumor e enfatizam a complexidade dos MCs no ambiente tumoral<sup>11</sup>.

Na sequência dos nossos estudos, avaliamos as expressões das proteases triptase e quimase nos grânulos dos MCs nos fibroadenomas e carcinomas ductais. Essas análises mostraram ausência da expressão de quimase, mas forte expressão da triptase nos fibroadenomas. Os carcinomas ductais, em todas as condições clínicas avaliadas, mostraram imorreatividade para ambas as proteases, contudo com expressão mais intensa da triptase.

Similarmente, dados de literatura apontam que

entre os fatores pró-angiogênicos liberados dos MCs a triptase é um dos mais poderosos<sup>15</sup>. Além disso, uma outra pesquisa em tumor de mama indica o envolvimento dos MCs e da triptase na angiogênese tumoral inicial<sup>25</sup> e sugere que os inibidores da triptase poderiam ser avaliados em ensaios clínicos.

## CONCLUSÃO

Os MCs sofrem modulação no número e diferem no perfil de expressão das proteases entre tumores benignos e malignos de diferentes estágios, indicando que essas células estão profundamente envolvidas na tumorigênese de mama. O entendimento do papel dos MCs no desenvolvimento da neoplasia mamária poderá ocasionar a aplicação de novas possibilidades terapêuticas.

## REFERÊNCIAS

- GLOBOCAN (IARC). All Cancers (excluding non-melanoma skin cancer), Estimated Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012. [Internet] [citado em 20 ago. 2016]. Disponível em: [http://globocan.iarc.fr/Pages/fact\\_sheets\\_cancer.aspx](http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx)
- Abreu E, Koifman S. Fatores prognósticos no câncer da mama feminina. *Rev Bras Cancerol.* 2002; 48(1):113-31.
- Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2009. *CA Cancer J Clin.* 2009 Jul-Aug; 59(4):225-49.
- D'Onofrio A, Mazzetta C, Robertson C, Smans M, Boyle P, Boniol M. Maps and atlases of cancer mortality: a review of a useful tool to trigger new questions. *Ecancermedscience.* 2016; 1;10:670.
- Cadoo KA, Fornier MN, Morris PG. Biological subtypes of breast cancer: current concepts and implications for recurrence patterns. *Q J Nucl Med Mol Imaging.* 2013 Dec; 57(4):312-21. Review.
- Psaila B, Lyden D. The metastatic niche: adapting the foreign soil. *Nat Rev Cancer.* 2009 April; 9(4): 285-93.
- Grivennikov, SI, Greten FR, Karin M. Immunity, inflammation, and cancer. *Cell.* 2010 Mar; 140(6):883-99.
- Neurath MF, Finotto S. IL-6 signaling in autoimmunity, chronic inflammation and inflammation-associated cancer. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2011 Apr; 22(2):9-83.
- Rech RR, Graça DL. Mastócitos em condições normais e patológicas: revisão. *Vet. Not. Uberlândia.* 2006 Jan-Jun; 12(1):51-60.
- Khazaie K, Blatner NR, Khan MW, Gounari F, Gounaris E, Dennis K, et al. The significant role of mast cells in cancer. *Cancer Metastasis Rev.* 2011 Mar; 30(1):45-60.
- Maltby S, Khazaie K, Mcnagny KM. Mast cells in tumor growth: angiogenesis, tissue remodelling and immune-modulation. *Biochim Biophys Acta.* 2009 Aug; 1796(1):19-26.
- Fakhrjou A, Naghavi-Behzad M, Montazeri V, Karkon-Shayan F, Norouzi-Panahi L, Piri R. The relationship between histologic grades of invasive carcinoma of breast ducts and mast cell infiltration. *South Asian J Cancer.* 2016 Jan-Mar; 5(1):5-7.
- Metcalfe DD, Schwartz LB. Assessing anaphylactic risk? Consider mast cell clonality. *J Allergy Clin Immunol.* 2009 Mar; 123(3):687-8.
- Galli SJ, Kalesnikoff J, Grimbaldeston MA, Piliponsky AM, Williams CM, Tsai M. Mast cells as "tunable" effector and immunoregulatory cells: recent advances. *Annu Rev Immunol.* 2005; 23:749-86.
- Ribatti D, Crivellato E. Mast cells, angiogenesis and cancer. *Adv Exp Med Biol.* 2011; 716:270-88.
- Ranieri G: Hot topic: targeting tumor angiogenesis: an update. *Curr Med Chem.* 2012, 19:937.
- Crivellato E, Nico B, Ribatti D. Mast cells and tumour angiogenesis: new insight from experimental carcinogenesis. *Cancer Lett.* 2008; 269:1-6.
- Kitamura T, Kometani K, Hashida H, Matsunaga A, Miyoshi H, Hosogi H, et al. SMAD4-deficient intestinal tumors recruit CCR1+ myeloid cells that promote invasion. *Nat Genet.* 2007 Apr; 39(4):467-75.
- Drew E, Merken H, Chelliah S, Doyonnas R, Mcnagny KM. CD34 is a specific marker of mature murine mast cells. *Exp Hematol.* 2002 Oct; 30(10):1211-8
- Juremalm M, Nilsson G. Chemokine receptor expression by mast cells. *Chem Immunol Allergy.* 2005; 87:130-44.
- Yuan H, Hsiao Y, Zhang Y, Wang J, Yin C, Shen R, Su1 Y. Destructive impact of t-lymphocytes, NK and mast cells on basal cell layers: implications for tumor invasion. *BMC Cancer.* 2013; 13: 258.
- Coussens LM, Raymond WW, Bergers G, Laig-Webster M, Behrendtsen O, Werb Z, et al. Inflammatory mast cells up-regulate angiogenesis during squamous epithelial carcinogenesis. *Genes Dev.* 1999; 13:1382-97.
- Fakhrjou A, Naghavi-Behzad M, Montazeri V, Karkon-Shayan F, Norouzi-Panahi L, Piri R. The relationship between histologic grades of invasive carcinoma of breast ducts and mast cell infiltration. *South Asian J Cancer.* 2016; 5:5-7.
- Dabiri S, Huntsman D, Makretsov N, Cheang M, Gilks B, Bajdik C, et al. The presence of stromal mast cells identifies a subset of invasive breast cancers with a favorable prognosis. *Mod Pathol.* 2006; 17:690-5.
- Marech I, Ammendola M, Sacco R, Capriuolo GS, Patruno R, Rubini R, Luposella M, Zuccalà V, Savino E, Gadaleta1 CD, Ribatti D, Ranieri G. Serum tryptase, mast cells positive to tryptase and microvascular density evaluation in early breast cancer patients: possible translational significance. *BMC Cancer.* 2014; 14:534.

Recebido em: 09/10/2016

Aceito em: 22/03/2017