

O papel das proteínas da matriz extracelular e das metaloproteinases em carcinomas de cabeça e pescoço: uma atualização bibliográfica

The role of extracellular proteins matrix and the metalloproteinases in head and neck carcinomas: an update review

Antonio L.A. Pereira¹, Simone S.L. Veras², Éricka J.D. Silveira³, Flávio R.G. Seabra⁴, Leão Pereira Pinto⁵, Lélia B. Souza⁶, Roseana A Freitas⁶

Palavras-chave: carcinoma, cabeça e pescoço, matriz extracelular, metaloproteinases.
Key words: head and neck, carcinoma, matrix extracellular, metalloproteinases.

Resumo / Summary

Interações entre células neoplásicas e constituintes da matriz extracelular (MEC) interferem fortemente no desenvolvimento tumoral, incluindo os localizados em cabeça e pescoço, pois influenciam a proliferação e sobrevivência celular, bem como a sua capacidade de migrar do sítio primário para outros tecidos e formar metástases. Essa migração celular é facilitada pela destruição parcial da MEC, a qual é realizada pelas metaloproteinases (MMPs), que representam uma família de mais de vinte endopeptidases, com atividade controlada pela expressão de inibidores específicos (TIMPs). Diversos estudos utilizando-se de marcadores para constituintes da MEC bem como pelas MMPs têm fornecido informações adicionais sobre o diagnóstico e prognóstico em carcinomas de cabeça e pescoço. Nesta revisão consideraremos o papel da MEC e das MMPs na progressão desses tumores, enfatizando que não somente a degradação proteolítica está envolvida neste processo, como também interações entre vários constituintes da MEC fornecem substrato para regulação e crescimento destes tumores.

Interactions involving tumor cells and the extracellular matrix (ECM) strongly influence tumor development, including that situated in head and neck, affecting cell proliferation and survival, as well as the ability to migrate beyond the original location into other tissues to form metastases. These cell migration is often facilitated by a partial destruction of the surrounding ECM, which is catalyzed by matrix metalloproteinases (MMPs), a family of more than 20 endopeptidases, that is controlled by regulated expression of specific inhibitors (TIMPs). Several studies of ECM and MMPs markers have been provide additional diagnostic and prognostic information in head and neck carcinomas. In this review, we are considering the role of ECM and MMPs in tumor progression, emphasizing its proteolytic contributors to this process, and interactions between several members of ECM providing substract to regulation of this process.

¹ Professor de Periodontia do Departamento de Odontologia da Universidade Federal do Maranhão e Doutorando em Patologia Oral da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN).

² Professora de Patologia Oral do Departamento de Patologia e Clínica Odontológica da Universidade Federal do Piauí, Doutoranda em Patologia Oral/UFRN, Bolsista do CNPq.

³ Doutoranda em Patologia Oral/UFRN.

⁴ Professor de Periodontia e Cirurgia da Universidade Potiguar e Doutorando em Patologia Oral/UFRN.

⁵ Professor Titular do Programa de Pós-Graduação em Patologia Oral/UFRN.

⁶ Professoras Doutoradas do Programa de Pós-Graduação em Patologia Oral/UFRN

Endereço para correspondência: Roseana de Almeida Freitas – Universidade Federal do Rio Grande do Norte – Departamento de Odontologia – Programa de Pós-Graduação em Patologia Oral – Av. Senador Salgado Filho 1787 Lagoa Nova 59056-000 Natal RN
Fone/Fax (0xx84)-2154138 – E-mail: roseana@patologiaoral.com.br

Artigo recebido em 10 de agosto de 2004. Artigo aceito em 11 de novembro de 2004.

INTRODUÇÃO

O carcinoma epidermóide é a neoplasia maligna mais comum em cabeça e pescoço, o qual se caracteriza por apresentar curso clínico agressivo e grande probabilidade de desenvolver metástase principalmente para linfonodos cervicais¹.

A carcinogênese dos tumores sediados em cabeça e pescoço é um processo de múltiplos passos, onde ocorrem alterações genéticas que levam a desregulação do metabolismo celular. A agressividade dos tumores está relacionada a diversos fatores, dentre os quais cita-se o grau histológico de malignidade, tamanho da lesão, grau de comprometimento dos tecidos vizinhos, presença de metástase no momento do diagnóstico e localização anatômica do tumor. Destes, um dos principais fatores influenciadores no prognóstico destas neoplasias é a presença de metástases para linfonodos cervicais ou órgãos distantes. A avaliação dos fatores influenciadores em tal processo é importante para o conhecimento sobre o comportamento tumoral e desenvolvimento de terapias anticâncer.

O crescimento tumoral resulta de um desequilíbrio entre proliferação celular e apoptose e é influenciado pela angiogênese, enquanto o potencial metastático é influenciado por alterações na interação célula-célula e célula-matriz.

A matriz extracelular é uma estrutura constituída por várias proteínas e polissacarídeos distribuída de forma diferente entre os vários tecidos do organismo. Este meio ambiente oferece condições adequadas para o crescimento e diferenciação das células, favorecendo desta forma a sobrevivência dos tecidos.

A constituição básica da matriz é de proteínas fibrosas como o colágeno e elastina, e de glicoproteínas alongadas como a fibronectina e laminina, que têm uma função de proporcionar adesão célula-matriz, além de glicosaminoglicanas e proteoglicanas que formam um leito constituído por um gel, onde se encontram imersos todos os constituintes da matriz².

O papel da matriz extracelular no microambiente tumoral não está limitado somente a atuar como barreira física à neoplasia, mas funciona como um reservatório para proteínas ligantes e fatores de crescimento que influenciam o comportamento do mesmo³.

A degradação da matriz consiste em um evento chave na invasão e metástase dos tumores. Esta degradação se dá por ação de enzimas proteolíticas, denominadas de metaloproteinases, que atuam desorganizando a matriz, através de processos que alteram as interações célula-célula e célula-matriz.

O presente trabalho objetiva revisar o papel da matriz extracelular em carcinomas de cabeça e pescoço, compreendendo os mecanismos que ocorrem durante a sua degradação favorecendo o processo de invasão e metástase, que são os principais fatores que influenciam

no prognóstico e sobrevida dos pacientes portadores destas neoplasias.

REVISÃO DE LITERATURA

Matriz Extracelular (MEC): Estrutura e Funções

Os tecidos animais e vegetais não são constituídos apenas por células, mas também por um espaço extracelular preenchido por um complexo de componentes fibrosos e protéicos denominados de matriz extracelular (MEC)^{2,4}. Esta se constitui em proporções variadas de proteínas e polissacarídeos, organizados em rede, os quais são responsáveis pela diversidade morfológica, funcional e patológica dos tecidos, fornecendo substrato adequado para o crescimento e diferenciação dos variados tipos celulares do organismo^{4,5}.

Dentre os constituintes da MEC referenciam-se vários tipos de macromoléculas (proteoglicanas e glicosaminoglicanas) além das proteínas fibrosas como colágeno e elastina, ambas com função estrutural e as glicoproteínas adesivas como, laminina, tenascina e fibronectina⁶.

A MEC se classifica em matriz intersticial, que compreende todo o espaço existente entre as células mesenquimais e membrana basal, a qual é representada pela matriz extracelular especializada em forma de lâmina^{2,7}. A interação entre esse complexo protéico e fibroso, proteínas solúveis e receptores de superfície influencia muitas propriedades das células, incluindo migração, proliferação, estágio de diferenciação e apoptose⁴.

Interações e ligações entre as células e componentes da MEC são realizadas por receptores específicos denominados integrinas, que são proteínas transmembranas com um domínio extracelular que se prende a componentes da MEC e um citoplasmático ligado à porção do citoesqueleto constituída por actina^{8,9}.

MEC x Câncer

Encontra-se bem estabelecido na literatura que o estroma tumoral relaciona-se diretamente com o comportamento biológico das neoplasias, apesar de que por muito tempo, as células neoplásicas foram foco das principais pesquisas de interesse no câncer¹⁰.

A capacidade das células malignas destruírem a membrana basal e os demais componentes da MEC tem sido relacionada ao potencial invasivo destas neoplasias¹¹. Pesquisas realizadas utilizando-se de marcadores para os componentes da MEC bem como das enzimas relacionadas a sua degradação (MMPs) vêm contribuindo para compreensão do comportamento biológico e clínico dos carcinomas de cabeça e pescoço.

Nos estudos de Thomas et al.¹² consta que o aumento na produção dessas enzimas associa-se com o fenótipo metastático e invasivo em muitos tumores e, conseqüentemente, com o comportamento tumoral e prognóstico.

A influência da MEC no comportamento das neoplasias ocorre em vários mecanismos relacionados à proliferação, progressão e invasão tumoral. Por exemplo, a invasão local e desenvolvimento de metástases em carcinomas de cabeça e pescoço estão associados diretamente à matriz extracelular, incluindo alterações na membrana basal e indução de produção de muitas proteínas da MEC¹³.

Quando carcinomas epidermóides de cabeça e pescoço encontram-se em desenvolvimento, o tecido adjacente sofre várias alterações como lise do estroma com degradação da MEC, fato este considerado o caminho preparatório para invasão tumoral^{12,14}. Adicionalmente, tal estrutura pode ter um papel mais ativo durante a carcinogênese por induzir angiogênese e produção de fatores de crescimento, estimulando dessa forma a proliferação das células neoplásicas^{10,15}.

Durante o processo de invasão tumoral, as células neoplásicas atravessam dois tipos de matriz (membrana basal e estroma intersticial) e reações bioquímicas entre células normais e a MEC influenciam no processo de invasão tumoral em neoplasia^{7,16}.

De acordo com Sherstha et al.¹⁷ os constituintes da MEC contribuem diretamente ou indiretamente no processo de tumorigênese, pelo fato dessa estrutura conter componentes potencialmente antiadesivos, moduladores de adesão, proliferação e migração celular. Adicionalmente esses autores relataram que a MEC pode regular o comportamento celular por vários mecanismos: primeiro através da composição de suas proteínas em um determinado tecido e segundo por interações sinérgicas entre fatores de crescimento e moléculas de adesão ou por receptores celulares que medeiam a adesão de seus componentes.

Vários estudos utilizando marcadores para os diversos constituintes da MEC foram realizados a fim de esclarecer o papel desta estrutura no processo da carcinogênese e progressão nos tumores de cabeça e pescoço.

Os colágenos representam uma família de proteínas características com mais de 20 tipos conhecidos, presente em todos os animais multicelulares, sendo o componente de maior quantidade em todas as matrizes extracelulares^{2,18}.

Alguns trabalhos têm demonstrado descontinuidade dos diversos tipos de colágeno durante o processo de invasão tecidual por células neoplásicas^{7,18}.

Pesquisas desenvolvidas por Becker et al.¹⁹ em mucosa oral normal e carcinomas epidermóides destacaram que em mucosa oral normal observava-se grande quantidade de colágeno III na região subepitelial e de colágeno I e II nas porções mais profundas do tecido conjuntivo. No estroma de carcinomas epidermóides orais estudados, foi verificado que as fibras de colágeno I circundavam as ilhas epiteliais tumorais e se distribuíam por todo o estroma. Em tumores de laringe, Hagedorn et al.²⁰ verificaram defeitos na membrana basal peritumoral pela perda da expressão significativa de colágeno IV.

A intensidade e qualidade de marcação do colágeno I apresentou-se de forma muito variada em carcinomas epidermóides orais de baixo e alto escore de malignidade no estudo desenvolvido por Martins et al.¹⁸, onde a marcação para esse tipo de colágeno foi mais intensa em tumores menos agressivos.

A laminina é uma outra proteína associada à membrana basal que funciona como adesina, ligando as células basais do epitélio ao colágeno IV. Tem sido relacionada diretamente a estágios avançados de diferenciação celular, sendo pré-requisito para diferenciação terminal e execução de funções especializadas, por interagir com as integrinas e outros componentes da superfície celular assim como controlar a migração celular, polarização, proliferação e apoptose²¹.

Segundo relatos de Thorup et al.²², em carcinomas epidermóides orais pouco diferenciados ocorre pronunciada perda de expressão da laminina e seus receptores integrinas, quando comparadas com lesões pré-malignas e processos inflamatórios. Foi evidenciada nas pesquisas de Tosios et al.²³ uma tendência para descontinuidade linear tanto da laminina como do colágeno IV durante o aumento gradativo da displasia, e em áreas de invasão tumoral profunda mais do que em regiões centrais ou superficiais dos tumores.

Berndt et al.²⁴ associaram o comportamento do carcinoma epidermóide oral com a síntese de laminina, fato evidenciado através da perda focal desta na membrana basal e sua deposição no estroma imediatamente próximo às células neoplásicas invasoras.

Em estudos anteriores, Harada et al.²⁵ encontraram padrão de expressão semelhante da laminina, colágeno IV e heparan sulfato no *front* invasivo de carcinomas orais e nas metástases em linfonodos, conduzindo-os a concluir que a população celular em áreas mais profundas do tumor pode ser determinante do potencial invasivo e metastático dos carcinomas situados nessa região.

Kannan et al.²⁶ noticiaram na cavidade oral um aumento gradativo na frequência de descontinuidade da laminina e colágeno IV de epitélio normal, hiperplásico, displásico a maligno, relatando que a alteração progressiva da membrana basal na transformação maligna pode ser um indicador de clones de populações celulares com fenótipo invasivo, apesar de não ter sido evidenciado nesta pesquisa correlação entre a distribuição de laminina e colágeno IV com o grau de malignidade. Essa tendência também foi noticiada anteriormente em neoplasias epiteliais cervicais e displasias do trato aerodigestivo²³. A expressão diminuída do colágeno IV também foi verificada por Harada et al.²⁵ em carcinomas orais.

Em termos percentuais, Haas et al.²⁷ por meio da técnica da imunofluorescência, verificaram que a intensidade da laminina em membrana basal da mucosa oral normal era em torno de 99 a 100%, aumentando para 107 a 141% em

lesões hiperplásicas, diminuindo significativamente no *front* de invasão de carcinomas epidermóides orais (35 a 74%).

No tocante à fibronectina, uma glicoproteína adesiva da MEC, tem sido sugerido que sua perda durante a carcinogênese pode permitir a livre migração das células neoplásicas^{21,28,29}. Sua expressão vem sendo relacionada a pobre prognóstico em tumores de cabeça e pescoço, fato este comprovado nos estudos desenvolvidos por Kannan et al.¹⁸ em mucosa oral normal e carcinomas epidermóides e por Zidar et al.³⁰ que detectaram aumento gradativo da fibronectina nas membranas basais dos carcinomas epidermóides de laringe estudados, tendo sido detectado também que esta expressão era inversamente proporcional à densidade do infiltrado inflamatório associado e ao grau de diferenciação tumoral.

A imunomarcagem intracitoplasmática da fibronectina foi observada em 16,7% dos carcinomas epidermóides de língua, contrariamente aos de lábio na pesquisa de Miranda³¹, o que segundo o autor pode ser indicativo de que também as células tumorais, e não somente as estromais, possuem capacidade de sintetizar a fibronectina, depositando-a em membrana basal e matriz peritumoral, visando provavelmente, facilitar sua aderência e posterior migração através do estroma tumoral.

A tenascina é uma glicoproteína adesiva da MEC expressa em interações epitélio-mesenquimais durante a embriogênese e tumorigênese^{17,32}. Esta proteína possui vários domínios de ligação, mediando assim a adesão célula-célula, migração celular, bem como adesão celular à própria matriz através das ligações da fibronectina a proteoglicanos¹¹.

Quando esta proteína é produzida por células neoplásicas malignas, parece ocorrer um aumento na proliferação e migração, provavelmente pelo fato de ter propriedades antiadesivas, por bloquear a ligação da fibronectina às células. Tal propriedade foi constatada nas pesquisas de Huang et al.³³ que descreveram um modelo no qual a tenascina prejudica a função adesiva da fibronectina através da sua ligação ao FNH13, inibindo dessa forma a função do co-receptor sidecan-4 na sinalização para as integrinas induzida pela fibronectina.

Tem sido demonstrado que sua expressão está aumentada em várias lesões neoplásicas^{33,34}. A combinação da tenascina e outros fatores de crescimento, além de alterações nos receptores de células neoplásicas, podem agir sinergicamente na modulação do crescimento celular, interferindo dessa forma na progressão tumoral, comportamento invasivo e potencial metastático¹⁷.

Em certos neoplasmas como de mama e astrocitoma, a elevada expressão da tenascina foi indicativa de atividade proliferativa e agressividade tumoral³⁵, mas nenhuma correlação foi observada em tumores de glândula salivar e certos carcinomas basais³⁶.

A presença intracitoplasmática da tenascina no *front* de invasão de carcinomas epidermóides de língua e mucosa

jugal foi detectada nos estudos de Mori et al.³⁷. Yoshida et al.³⁴ observaram um aumento significativo da expressão da tenascina em células do estroma tumoral de carcinomas de laringe principalmente ao redor dos ninhos celulares neoplásicos, levando os autores a concluir que a tenascina produzida pelas células tumorais poderia estar envolvida na extensão intra-epitelial e invasão do tecido conjuntivo, através da elevada atividade mitótica e migração das células cancerosas.

Estudando carcinomas de hipofaringe e laringe, Juhász et al.¹¹ verificaram que em tumores avançados a tenascina não estava expressa somente na interface tumor-hospedeiro, mas também em vasos sanguíneos, tanto do estroma como do parênquima tumoral. Neste estudo, foi constatado que o acúmulo de tenascina nos vasos sanguíneos pode ser considerado um fator indicativo de pobre prognóstico em carcinomas de hipofaringe e laringe.

Miranda³¹ analisou a correlação do padrão de expressão de várias proteínas da MEC, como laminina, colágenos I e IV, fibronectina e tenascina em carcinomas epidermóides de lábio inferior e de língua com gradações histológicas variadas, e observou que o colágeno IV e a laminina estavam ausentes na membrana basal dos ninhos celulares neoplásicos na maioria dos casos estudados e quando presentes a marcação era fraca. A fibronectina esteve imunomarcada em todos os casos estudados e a tenascina expressou-se de forma intensa em membrana basal epitelial, na maioria dos casos estudados, estando presente também no estroma peritumoral, predominando fraca intensidade no lábio e de moderada a forte na língua. Para o colágeno I, foi observada expressão focal em ambos grupos de carcinomas, com fraca intensidade de reação e padrão predominantemente fibrilar e desorganizado. O autor sugeriu então que os carcinomas epidermóides de língua possuem maior potencial de invasividade e comportamento mais agressivo quando comparados com os de lábio inferior.

Degradação da MEC

A degradação da MEC se constitui em um evento essencial em muitos processos fisiológicos como durante o desenvolvimento embrionário, crescimento e reparo dos tecidos. Por outro lado, sua excessiva degradação pode acarretar no desenvolvimento de várias condições patológicas, dentre as quais cita-se artrite reumatóide, osteoartrite e doenças autoimunes³⁸. Tal fato também está diretamente relacionado ao processo de invasão e metástase tumoral, o qual se constitui no principal fator prognóstico dos pacientes portadores de câncer³⁹.

Algumas proteases específicas conhecidas como metaloproteinasas (MMPs), do inglês "matrix metalloproteinases", formam uma importante família de endopeptidases metal-dependentes, secretadas na forma inativa, com zinco no sítio ativo^{5,38}.

Existem, atualmente, no mínimo, 20 tipos de MMPs

humanas, as quais são agrupadas de acordo com a estrutura e substrato específico em: colagenases (MMP-1, -8 e 13), estromelisinases, gelatinases (MMP-2, -9) e metaloproteinases ligadas à membrana plasmática^{12,40}.

De acordo com Curran, Murray⁵ e Nabeshima et al.⁴⁰, a superexpressão das MMPs tem sido evidenciada e relacionada ao prognóstico em diversos tipos de carcinomas, o que pode ser usado para o desenvolvimento de drogas inibidoras dessas proteínas para auxiliar na terapia anticâncer.

Encontra-se estabelecido na literatura que a invasão tumoral também sofre influência direta do microambiente no qual um dos fatores críticos é a ação de várias enzimas proteolíticas que agem na degradação das proteínas da MEC, denominadas metaloproteinases (MMPs)⁴¹⁻⁴³. Essas enzimas podem ser produzidas tanto pelo estroma tumoral como pelas próprias células neoplásicas, as quais também segundo Yves e Derderck³ também podem interferir no processo de adesão célula-célula pela degradação da E-caderina.

Para Thomas et al.¹² o aumento na produção dessas enzimas tem sido associado com o fenótipo invasivo em vários tumores. Tal afirmativa foi constatada nas pesquisas de Hong et al.¹, os quais estudaram a expressão das MMP-2 e -9 em carcinomas epidermóides orais e correlacionaram a presença da MMP-9 ao potencial metastático desses carcinomas, concordando com os estudos de Miyajima et al.⁴² e Davies et al.⁴⁴ detectaram, também, a presença dessas metaloproteinases em células cancerosas de estômago, mama, fígado e faringe, relacionando tal fato ao potencial maligno dessas células e ao pobre curso clínico dessas neoplasias.

Vários estudos desenvolvidos como os de O-Charoenrat et al.⁴⁵ e O-Charoenrat et al.⁴⁶ demonstraram que a expressão das MMPs e de seus inibidores (TIMPs) se faz presente em carcinomas epidermóides de cabeça e pescoço. Nesses estudos os autores verificaram que as MMPs-2, -7, -9 e -11 exerceram um importante papel na progressão e desenvolvimento de metástase nestes tumores.

Analisando 25 carcinomas epidermóides orais não metastáticos e 19 metastáticos através da técnica imunohistoquímica e zimografia, Hong et al.¹ compararam a expressão e atividade das MMPs-2 e -9 nestes grupos e detectaram que a MMP-9 exercia um papel maior no desenvolvimento de metástase do que a MMP-2. Adicionalmente, esse estudo mostrou que não existe correlação entre a gradação histológica desses carcinomas e a expressão das MMPs, conduzindo-os a sugerir que a diferenciação histológica das células cancerosas não interfere na expressão das MMPs.

Nabeshima et al.⁴⁰ relataram que as MMPs-2 e -4 são capazes de clivar o sítio γ^2 da laminina-5, acarretando na estimulação da proliferação e migração das células neoplásicas. Esses autores relataram também que as metaloproteinases interferem no sistema de adesão célula-célula principalmente sobre o complexo E-caderina/ β -catenina, facilitando o processo de invasão.

Fica patente a importância do conhecimento do papel das proteínas da MEC e das MMPs nos carcinomas de cabeça e pescoço, já que desempenham um papel chave na progressão e agressividade destes tumores.

COMENTÁRIOS FINAIS

Diante da literatura pertinente consultada, verifica-se que a MEC e as MMPs, por influenciarem várias funções celulares durante a carcinogênese e por estar diretamente relacionadas ao comportamento dos carcinomas de cabeça e pescoço, devem merecer atenção especial quando do estudo dessas entidades, já que a MEC e sua degradação representam os elementos chaves na compreensão dos mecanismos envolvidos com a invasão tumoral. Alterações na composição da matriz extracelular através da superexpressão da tenascina, ou descontinuidade na estrutura do colágeno, fibronectina e laminina, além da presença das MMPs influenciam o comportamento das células neoplásicas, agindo sobre o crescimento tumoral, adesão tecidual, invasão e metástases, os quais representam os principais fatores indicadores de prognóstico e sobrevida dos pacientes portadores desses carcinomas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hong SD et al. Expression of matrix metalloproteinase-2 and -9 in oral squamous cell carcinomas with regard to the metastatic potential. *Oral Oncol* 2000; 36: 207-13.
2. Alberts B. *Biologia Molecular da célula*. 3ª ed. Artes Médicas: Porto Alegre-RS; 1997. 1294p.
3. Yves A. et al. *Proteases, Extracellular matrix and cancer*. *Am J of Pathol* 2004; 164(4): 1131-9.
4. Bornstein P, Sage EH. *Matricellular proteins: extracellular modulators of cell function*. *Current Opin of Cell Biol* 2002; 14:608-16.
5. Curran S, Murray GI. *Matrix metalloproteinases: molecular aspects of their roles in tumor invasion and metastasis*. *Europ J of Cancer* 2000; 36: 1261-630.
6. Potts JR, Campbell ID. *Structure and functions of fibronectin modules*. *Matrix Biol* 1996; 15: 313-20.
7. Wilson DF et al. *Oral cancer: role of basement membrane in invasion*. *Aust Dent J* 1999; 44(2):93-7.
8. Cord B et al. *Integrins in invasive growth*. *J of Clinical Investig* 2002; 109(8): 999-1006.
9. Toole EA. *Extracellular matrix and keratinocyte migration*. *Experim Dermatol* 2001; 26: 525-30.
10. Wernert N. *The multiple roles of tumor stroma*. *Virch Arch* 1997; 430: 433-43.
11. Juhász A. *Characteristic distribution patterns of tenascin in laryngeal and hypofaryngeal cancers*. *Laryngoscope* 2000; 110: 84-92.
12. Thomas GT, Lewis MP, Speight PM. *Matrix metalloproteinases and oral cancer*. *Oral Oncol* 1999; 35: 227-33.
13. Koivisto L et al. *Integrins $\alpha 5 \beta 1$, $\alpha v \beta 1$ and $\alpha v \beta 6$ collaborate in squamous carcinoma cell spreading and migration on fibronectin*. *Exp Cell Res* 2000; 255(1): 10-7.
14. Rich AM, Read PC. *Epithelial-mesenchymal interactions in experimental oral mucosal carcinogenesis*. *J Oral Pathol Med* 2001; 30: 389-97.
15. Sottile J. *Regulation of angiogenesis by extracellular matrix*. *Bioch et Biophys Acta* 2004; 1654: 13-22.

16. Liotta LA. Tumor invasion and metastases – Role of extracellular matrix. *Cancer Res* 1986; 46: 1-7.
17. Sherestha P et al. Tenascin: growth and adhesion modulation – extracellular matrix degrading function: an *in vivo* study. *Oral Oncol*; 32B(2): 106-13.
18. Martins GB, Reis SR, Silva TM. Expressão do colágeno I em carcinomas epidermóides da cavidade oral. *Pesqui Odontol Bras* 2003; 17(1): 82-8.
19. Becker J, Schuppan D, Müller S. Immunohistochemical distribution of collagens type I, II, IV and VI, of undulin and of tenascin in oral fibrous hyperplasia. *J Oral Pathol Med* 1993; 22: 463-7.
20. Hagedorn HG et al. Divergence in distribution and prognostic significance of major basement components in laryngeal carcinomas. *Int J Oncol* 2001; 18(5): 1045-51.
21. Kosmehl H et al. Distribution of laminin and fibronectin isoforms in oral mucosa and oral squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* 1999; 81(6): 1071-9.
22. Thorup AK et al. Can alterations in integrin and laminin-5 expression be used as markers of malignancy? *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand* 1998; 106(12): 1170-80.
23. Tosios KI, Kapranos N, Papanicolaou SI. Loss of basement membrane components laminin and type IV collagen parallels the progression of oral epithelial neoplasia. *Histopathol* 1998; 33(3): 261-8.
24. Berndt A et al. Fibrillary co-deposition of laminin-5 and large unspliced tenascin-C in the invasive front of oral squamous cell carcinoma in vivo and in vitro. *J Cancer Res Clin Oncol* 2001; 127(5): 286-92.
25. Harada T et al. An immunohistochemical study of the extracellular matrix in oral squamous cell carcinoma and its association. *Virchows Arch* 1994; 424(3): 257-66.
26. Kannan S et al. Alterations in expression of basement membrane proteins during tumor progression in oral mucosa. *Histopathol* 1994; 24(6): 531-7.
27. Haas KM et al. A comparative quantitative analysis of laminin-5 in the basement membrane of normal, hyperplastic, and malignant oral mucosa by confocal immunofluorescence imaging. *J Histochem Cytochem* 2001; 49(10): 1261-8.
28. Armstrong PB, Armstrong MT. Intercellular invasions and the organizational stability of tissues a role for fibronectin. *Bioch et Biophys Acta* 2000; 1470: 09-20.
29. Lyons AJ et al. Oncofetal fibronectin and oral squamous cell carcinoma. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2001; 39(6): 471-7.
30. Zidar N et al. Expression of tenascin and fibronectin in benign epithelial hyperplastic lesions and squamous cell carcinoma of the larynx. *Anticancer Res* 2001; 21(1A): 451-4.
31. Miranda JL. Expressão de proteínas da matriz extracelular em carcinoma epidermóide de lábio inferior e língua. 2002, 119f. Tese (Doutorado em Patologia Oral). Departamento de Odontologia da UFRN, Natal-RN.
32. Jones PL, Jones FS. Tenascin-C in development and disease: gene regulation and cell function. *Matrix Biol* 2000; 19: 581-96.
33. Huang W et al. Interference of tenascin-C with syndecan-4 binding to fibronectin blocks cell adhesion and stimulates tumor cell proliferation. *Cancer Res* 2001; 61(23): 8586-94.
34. Yoshida T et al. Involvement of tenascin-C in proliferation and migration of laryngeal carcinoma cells. *Virch Arch* 1999; 435(5): 496-500.
35. Mackie EJ. Tenascin in connective tissue development and pathogenesis. *Pers Dev Neurobiol* 1994; 2: 125-32.
36. Karja V, Syrjnen K, Syrjanen S. Collagen IV and tenascin immunoreactivity as prognostic determinant in benign and malignant salivary gland tumors. *Acta Otolaryngol* 1995; 115: 569-75.
37. Mori M et al. Intracellular localization of tenascin in squamous cell carcinoma of oral cavity: an immunohistochemical study. *Anticancer Res* 1996; 16(5B): 3075-9.
38. Westermarck J, Kahari VM. Regulation of matrix metalloproteinase expression in tumor invasion. *The FASEB J* 1999; 13:781-91.
39. Chambers AF, Matrisian LM. Changing views of the role of matrix metalloproteinases in metastasis. *J Nat Cancer Institute* 1997; 89(17):1260-70.
40. Nabeshima K et al. Matrix metalloproteinases in tumor invasion: role for cell migration. *Pathol Int* 2002; 52: 255-64.
41. Hotary K et al. Regulation of cell invasion and morphogenesis in a three-dimensional type I collagen matrix by membrane-type matrix metalloproteinases 1, 2 and 3. *J cell Biol* 2000; 149(6): 1309-23.
42. Miyajima Y et al. Analysis of expression of matrix metalloproteinases-2 and -9 in hypopharyngeal squamous cell carcinoma by in situ hybridization. *Annals of Otol Rhinol Laryngol* 1995; 104: 678-84.
43. Stamenkovic I. Matrix metalloproteinases in tumor invasion and metastasis. *Cancer Biol* 2000; 10:415-33.
44. Davies B et al. Activity of type IV collagenases in benign and malignant breast disease. *B J Cancer* 1993; 67: 1126-31.
45. O-charoenrat P et al. C-erbB receptors in squamous cell carcinomas of the head and neck: clinical significance and correlation with matrix metalloproteinases and vascular endothelial growth factors. *Oral Oncol* 2002; 38: 73-80.
46. O-charoenrat P et al. Correlations between MMPs and SA. MMPs and TIMP-1 with invasion and metastasis in head and neck squamous cell carcinoma. *Clin Exp Metastasis* 1999; 17: 773.