

**FACULDADE PATOS DE MINAS
BIOMEDICINA**

RAFAELA GONÇALVES ALMEIDA

**INFLUÊNCIA DE MUTAÇÕES DO GENE P53
EM NEUROBLASTOMA**

**PATOS DE MINAS
2014**

RAFAELA GONÇALVES ALMEIDA

**INFLUÊNCIA DE MUTAÇÕES DO GENE P53
EM NEUROBLASTOMA**

Artigo apresentado a Faculdade Patos de Minas como requisito parcial para a conclusão do Curso de Graduação em Biomedicina.

**PATOS DE MINAS
2014**

ALMEIDA, Rafaela Gonçalves
Influência de mutações do gene p53 em Neuroblastoma /
Rafaela Gonçalves Almeida – Orientador(a): Hugo Christiano
Soares Melo . Patos de Minas: [s.n.], 2014
Páginas 31

Artigo de Graduação – Faculdade Patos de
Minas - FPM
Curso de Bacharel em Biomedicina

1.Câncer 2.Neuroblastoma 3.p53 4. A proteína p53 I.
Rafaela Gonçalves Almeida II. Influência de mutações do gene
p53 em neuroblastoma

Fonte: Faculdade Patos de Minas - FPM. Biblioteca.

INFLUÊNCIA DO GENE P53 NO NEUROBLASTOMA

Rafaela Gonçalves Almeida¹

Hugo Christiano Soares Melo²

RESUMO

O neuroblastoma é um tumor sólido extracraniano, originados nas células do sistema nervoso simpático. De comportamento bastante curioso o neuroblastoma pode regredir espontaneamente ou amadurecer a ganglioneuroma benigno. Porém é um tumor de pior prognóstico no momento do diagnóstico. Sendo o gene p53 um “guardião do genoma”, ele produz uma proteína que impede que as células sofram alterações em seu DNA. Porém apesar de seu papel ser bem estabelecido em relação as células este gene ainda tem um papel obscuro no neuroblastoma.

O desenvolvimento deste trabalho tem como finalidade descrever o gene p53 e sua função, evidenciar a relação do gene p53 na carcinogênese humana, os aspectos gerais do neuroblastoma e analisar a relação com a frequência de mutações em neuroblastomas. Isto irá permitir um maior entendimento e empenho nas pesquisas sobre o neuroblastoma e a influência do gene p53, já que este tipo de câncer tem um comportamento clínico bastante curioso quando comparado aos outros.

Palavras-chave: Carcinogênese. Câncer. Gene P53. Neuroblastoma. Proteína P53 .

1 Graduada do Curso de Biomedicina pela Faculdade Patos de Minas – rafaela.almeida06@gmail.com.

2 Doutor em Genética e Bioquímica pela Universidade Federal de Uberlândia, Mestre em Genética e Bioquímica pela Universidade Federal de Uberlândia, Graduado em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Uberlândia - hugo.some@gmail.com.

1. INTRODUÇÃO

Entender o mecanismo da baixa incidências de mutações do gene p53 no neuroblastoma é bastante interessante, já que neste tipo de câncer o gene p53 se comporta de maneira bastante curiosa. Diferentemente de outros canceres o p53 se comporta de maneira até então misteriosa.(1)

O câncer é uma doença genética, desencadeada por alterações no DNA das células. Ao invés de morrerem pelo desgaste ou reparação, as células continuam a se multiplicarem de forma desordenada a partir da célula primordial que sofreu mutação de seu DNA, fazendo assim com que todas as subsequentes células tenham o DNA mutado.(2;3;4;5)

O neuroblastoma é um tipo de tumor sólido extracraniano infantil originário das células primitivas do sistema nervoso simpático, os neuroblastos. O neuroblastoma se desenvolve através da interrupção da diferenciação destes neuroblastos em células nervosas. É um tipo de tumor que desperta bastante fascinação e decepção devido a sua maneira curiosa de se comportar.(4;6;7)

O gene p53 é um gene muito conhecido nos processos de carcinogênese, e é considerado o “guardião do genoma”. Nas neoplasias se comporta de algumas maneiras. No caso do neuroblastoma o gene 53 é raramente encontrado, apesar da proteína ter a capacidade de se acumular no citoplasma das células devido ao acúmulo de danos no DNA.(8;9;10;11)

O neuroblastoma é pouco conhecido, com sintomas inespecíficos. Isto acarreta uma grande curiosidade no desenvolvimento de pesquisas tanto para desvendar os mecanismos de ação do gene p53 e a baixa frequência de mutações em neuroblastomas, mas também para melhorar as formas de diagnóstico que levaram a prognóstico mais favoráveis.(12;13;14)

METODOLOGIA

Foi realizado uma pesquisa bibliográfica, que se baseou na coleta de matérias publicados sobre o tema a ser discutido. A coleta de matérias foi realizada no período de Fevereiro à 16 de Outubro de 2014, utilizando pesquisas em livros, artigos, sites especializados na área, como pubmed, scielo, science, cancer res entre outros. Estabeleceu-se que o material pesquisado irá se referir ao período de 1971 até setembro de 2014.

2. CÂNCER

Considera-se o câncer como sendo uma doença genética, já que quase sempre envolve alterações no DNA das células. Entretanto, ele não é considerado necessariamente uma doença de caráter hereditário. Em sua quase totalidade os cânceres humanos são de origem somática, onde fatores ambientais e genéticos precisam de interação para seu surgimento.(2)

O câncer é considerado uma doença na qual o DNA precisa acumular mutações para que a doença se inicie e que progrida. “Em geral, as mutações incluem alterações de sequência, perdas, ganhos e rearranjos cromossômicos (simples ou extremamente complexos).”(3)

2.1 Aspectos fisiológicos, patológicos e clínicos do câncer

O corpo se forma através da proliferação de trilhões de células vivas que fazem o corpo crescer. As células normais se dividem em novas células e morrem de forma ordenada. A medida que a pessoa se torna adulta as células passam a se dividirem de forma mais lenta apenas para substituir células desgastadas ou células que morreram para reparar lesões. O câncer se inicia quando partes dessas células no corpo começam a se multiplicar de forma desordenada.(4)

Neoplasia é denominada como um processo de “novo crescimento”, cujo crescimento celular foge ao controle normal. Todas as células de um tumor originam

a partir de uma célula isolada que sofreu uma mutação em seu DNA e a partir daí os tumores são considerados clonais.(5)

O crescimento das células do câncer acontecem de forma diferente do crescimento das células normais, que, ao invés de morrerem continuam crescendo e formando novas células anormais. Essas células crescem de forma descontrolada e invadem outros tecidos. Diferentemente do que acontece com as células normais, que não possuem esta capacidade.(4)

A origem de uma neoplasia se dá a partir de uma célula normal que é induzida a mudar suas características naturais através de estímulos, como o descontrole da reprodução celular que faz com que a célula passe a produzir uma quantidade superior de células; e o aumento no tempo do ciclo de vida destas células que diferentemente das células normais não sofre apoptose por desgastes metabólicos do DNA e organelas. A formação de um tumor se deve pela consequência desses dois processos, que ocorrem geralmente de forma individualizada, e que se deve ao acúmulo de células anormais.(15)

A maior parte dos danos causados no DNA acontecem por erros nas células normais ao se reproduzirem ou por fatores ambientais, tais como agentes mutagênicos (alcatrão, radiações ionizantes, etc.). As células mutadas também podem ser passadas para as proles. Muitas vezes não há explicação para os danos encontrados. Na maioria dos casos, as células cancerosas costumam se tornar tumores. Essas células podem ser transportadas pelo sangue ou vasos linfáticos para outras partes do corpo onde se instalam, começam a crescer e formar novos tumores que iram substituir tecidos normais. Este processo é denominado metástase.(4)

Os tumores são classificados em dois tipos, os tumores malignos são considerados cânceres devido a essas células anormais irem sofrendo divisões e invadindo outros tecidos, causando metástase. E os tumores benignos que são aqueles onde as células permanecem localizadas onde se originou e não são considerados cânceres.(16)

Porém os tumores benignos podem causar problemas, devido ao seu crescimento desordenado chegam a ficar muito grandes e acabar pressionando tecidos e órgãos saudáveis. Mas esses tumores não possuem a capacidade de invadir outros tecidos e com isso não se espalham para outras partes do corpo.(4)

2.2 Mutações genéticas

As mutações são alterações anormais que acontecem no DNA de um gene. As estruturas que formam o DNA são chamadas de bases. A sequência que as bases estão dispostas determinam a sua função. Mutações envolvem alterações na disposição das bases que formam um gene.(17)

As mutações ocorrem em qualquer célula do corpo em quaisquer estágio de desenvolvimento porém tendem a aparecer mais frequentemente em áreas do DNA chamadas de “*hotspots*”. Essas mutações são capazes de produzir efeitos imediatos causando alterações no fenótipo do indivíduo, que são determinados a partir do grau de dominância, célula mutada e estágio de ciclo de vida do organismo. Existem dois tipos de mutações, as que envolvem as células de linhagem germinativa que são denominadas como mutações germinativas e as células de linhagem somáticas, denominadas mutações somáticas.(18)

As mutações de linhagem germinativa podem ocorrer em qualquer estágio do ciclo reprodutivo do organismo e são expressas tanto de forma dominante como recessiva. De forma dominante as células mutadas podem ser expressas imediatamente em suas proles. De forma recessiva as mutações podem ser encobertas por diploidias.(19)

As mutações de células germinativas podem surgir tanto de um gameta, onde somente um membro da prole deverá conter a mutação, ou em células germinativas de linhagem primordial, dos testículos e do ovário, onde há a possibilidade de alguns gametas receberem a mutação aumentando o risco de perpetuação. Quando ocorre mutações em alguma célula somática, somente essas terão o fenótipo mutado, pois são de originadas das células da linhagem somática e não são capazes de transmitir através dos gametas para suas proles.(19)

Alguns eventos espontâneos e induzidos são responsáveis pelas mutações dos quais estes são bastantes conhecidos: a) infecções por vírus que causem interferência no DNA das células; b) indução por agentes físicos e químicos (radiação, radicais livres provenientes de substâncias carcinogênicas, ácido carbólico do fumo, etc) que podem promover a quebra nos cromossomos que induzem as ações de oncogenes ou que diminuem as ações dos genes supressores tumorais; c) mutações espontâneas que são capazes de induzir os protooncogenes a se tornarem oncogenes, ou reprimir as atividades dos genes supressores de oncogenes,

provocados por deleções ou mutações das bases nitrogenadas do DNA; d) translocação de cromossomos decorrentes da ruptura de partes de dois cromossomos, estas partes são trocadas entre os dois cromossomos lesionados. Fato que pode ocorrer de forma espontânea durante as várias divisões das células ou por indução de carcinógenos ambientais.(15)

2.3 Câncer e mutação genética: oncogenes

Os processos de crescimento, divisão e morte das células são regulados pelo DNA ou genes dentro do núcleo das células. Os genes são responsáveis por codificar proteínas que ajudam a regular o crescimento e proliferação celular, e são denominados protooncogenes. Contudo, uma sequência de DNA de um protooncogene pode sofrer alterações dando origem a um oncogene, que são capazes de produzir diferentes proteínas que causaram a desregulação de células normais. Os oncogenes são capazes de impedir que a célula morra e que o DNA seja reparado, levando a célula a se proliferar e dar origem a outras células contendo o mesmo DNA anormal da célula do câncer inicial, além de terem a capacidade de invadir outros tecidos, diferentemente de células normais.(20)

Os protooncogenes estão relacionados com o crescimento, diferenciação e proliferação celular normal. Eles são capazes de codificar fatores de crescimento, receptores de membrana e proteínas de ligação do DNA. Foram identificados um grande número de protooncogenes durante os últimos 20 anos, sendo os mais importantes: sis, Hst1, erb-B1, erb-B2, erb-B3, Fms, Ras, Abl, Myc, N-myc, L-myc, que tem como mecanismos de ação a expressão aumentada, amplificação, mutação puntiforme, translocação e amplificação.(5;21)

Os oncogenes necessitam que alguns fatores que desencadeiam alterações genéticas nos protooncogenes para que haja a sua ativação. Os fatos de desencadeamento são: a) Translocação e invasões: Os protooncogenes são inseridos próximos ou associados a genes que frequentemente foram transcritos, aumentando a expressão e/ou produção de proteínas anormais; b) Deleções: quando se envolvem com genes supressores do crescimento celular tem uma grande importância no desenvolvimento oncogênico; c) Amplificação: as amplificações são

capazes de gerar uma expressão exagerada de proteínas estruturalmente preservadas; d) Mutações puntiformes: são responsáveis por causar uma produção de proteínas estruturais e com suas funções vitais anormais; e) Inserção de DNA viral: são inseridos oncogenes virais no genoma humano.(21)

A interação destes oncogenes pode levar a estimulação ou inibição dos protooncogenes e antioncogenes. Os oncogenes não tem um mecanismo de ação totalmente esclarecidos, porém sabe-se que eles são capazes de inibir que genes supressores do crescimento celular ou indutores da apoptose tais como o p53 e o Rb codifiquem proteínas.(21)

Os genes supressores de tumor que se encontram mutados na maioria dos cânceres humanos são os antioncogenes tendo como principais exceções as leucemias e os linfomas. Alguns tipos de câncer, especialmente os tumores embrionários infantis, tem um número muito pequeno de mutações nos antioncogenes, o que difere dos sarcomas onde a frequência mutacional é bem mais comum.(22)

Os antioncogenes agem na interação com a matriz extracelular produzindo uma proteína transmembranar que interage com os componentes da matriz extracelular, sinalizando a inibição do crescimento por contato entre as células nas neoplasias. Antioncogenes NF-1 inativam a proteína transdutora do protooncogene ras que tem como função levar ao núcleo a informação de que a célula está sendo estimulada por fatores de crescimento ligados aos receptores de membrana. O NF-1 pode ser inativado por mutações ou deleções e o sinal transdutor será inibido, gerando assim estímulos contínuos para as células entrarem em mitose.(21)

Na regulação da transcrição do DNA os antioncogenes p53 e Rb são os modelos padrões deste grupo. O Rb foi o primeiro antioncogene a ser descoberto e ele atua impedindo que a célula saia dos estágios G0/G1 e entre na fase S do ciclo celular. O gene Rb é inativado quando a célula sofre estímulos mitogênicos permitindo a progressão do ciclo proliferativo antes da formação das células-filhas, que volta a sua forma ativa, impedindo que o ciclo continue interminavelmente. Assim a célula atinge a sua “imortalização”.(21)

Já o p53 é um dos genes responsáveis pela integridade do genoma. Sua ativação ocorre pelo surgimento de DNA alterado, produzindo uma proteína que estimula a síntese de outras proteínas, que inibiram a replicação celular através de ligações dos antígenos de proliferação nuclear e a estimulação das enzimas de

reparo do DNA. Se o reparo não ocorrer a célula não será capaz de replicar e é induzida a apoptose.(21)

3. NEUROBLASTOMA

Tipos de câncer e seu desenvolvimento são diferentes em adultos e crianças. Os cânceres infantis são na maior parte resultado de alterações no DNA das células que podem ocorrer desde a fase embrionária. Cânceres infantis não estão ligados ao estilo de vida ou fatores ambientais de risco.(4)

São poucos os tumores que despertam tanto deslumbre e decepção para os cientistas como o neuroblastoma, um tumor sólido muito comum em crianças e que causa uma alta mortalidade. Este tumor tem a capacidade de regredir espontaneamente em crianças mais novas, ou amadurecer a ganglioneuroma benigno. Em contraponto as crianças mais velhas têm um elevado estágio da doença e até mesmo uma fase metastática no momento do diagnóstico. E os tratamentos são pouco satisfatórios. Contudo estudos nas áreas genéticas e moleculares desses tecidos tumorais tem evidenciado alguns fatores que explicam estes comportamentos clínicos diferentes. (6)

3.1 Definição e fisiopatologia

Para entender como o neuroblastoma se comporta devemos saber quais os órgãos que fazem parte do sistema nervoso simpático. As células principais que compõem o sistema nervoso são as células nervosas ou neurônios que são capazes de interagir com outros tipos de células no corpo e liberar certas quantidade de hormônios. Os órgãos que consistem o sistema nervoso são o cérebro, medula espinhal e os nervos que se estendem para todas as áreas do corpo. O sistema nervoso, juntamente com o sistema endócrino, é responsável por controlar funções naturais do corpo como a frequência cardíaca, respiratória, pressão arterial, digestão

e outras funções que são controladas pelo sistema nervoso autônomo que é um sistema independente.(4)

O neuroblastoma é um tumor sólido extracraniano que se desenvolve a partir das células nervosas primitivas da crista neuroectodérmica denominadas neuroblastos. E é decorrente da interrupção da diferenciação de neuroblastos em células nervosas dos gânglios autonômicos, dos nervos sensitivos, das células de Schwann ou qualquer outro tipo celular. O neuroblastoma pode surgir a partir de qualquer tecido do sistema nervosa simpático, da cabeça até a pelvis, mais predominantemente na medula adrenal.(6;7)

Histologicamente, o neuroblastoma mais comum é composto por células pequenas, de tamanho uniforme, núcleos hipercromáticos e citoplasma escasso. Que por muitas vezes apresentam características de organogênese específicas dos sítios de origem tumorais. Tumores de neuroblastoma podem ser de difícil diferenciação microscópicas de outros tumores de “pequenas células redondas azuis.(5;6)

O comportamento que o neuroblastoma pode desenvolver é indefinido, pois, em alguns casos eles crescem e se espalham rapidamente, enquanto em outros crescem lentamente. E em crianças muito jovens, as células cancerosas podem morrer sem qualquer causa, desaparecendo com o tumor por conta própria.(4)

Para classificar os estágios do neuroblastoma, foi criado um sistema internacional de estadiamento que é o mais usado em todo o mundo e está detalhado a seguir :

- a) Estágio 1: Tumor localizado, com complexa excisão macroscópica, com ou sem doenças microscópica residual. Linfonodos ipsilaterais representativos não-aderentes, negativos para tumor (nodos aderentes ao tumor primário devem ser positivos para tumor).
- b) Estágio 2A: Tumor localizado, com ressecção macroscópica incompleta. Linfonodos representativos ipsilaterais não-aderentes, microscopicamente negativos para tumor.
- c) Estágio 2B: Tumor localizado, com ou sem excisão macroscópica completa, linfonodos ipsilaterais não-aderentes positivos para tumor. Linfonodos contra-laterais aumentados, que são microscopicamente negativos para tumor.
- d) Estágio 3: Tumor unilateral não-ressectável, infiltrando-se através da linha média, com ou sem envolvimento dos linfonodos regionais; ou tumor unilateral localizado, com envolvimento dos linfonodos regionais contralaterais.
- e) Estágio 4: Qualquer tumor primário com disseminação para distantes linfonodos, ossos, medula óssea, fígado, pele e/ou outros órgãos (exceto como é definido no estágio 4s).
- f) Estágios 4S: (“s” = especial): Tumor primário localizado (como definidos nos estágios 1,2A, ou 2B), com

disseminação limitada à pele, fígado e/ou medula óssea. O estágio 4S é limitado a lactentes com menos de 1 ano.(5)

Na maioria dos casos, infelizmente, as crianças apresentam os estágios 3 ou 4 no neuroblastoma. E em poucos casos nos estágios 1,2A, 2B ou 4S. Este sistema é de suma importância na determinação do prognóstico.(5)

3.2 Causas

As causas de neuroblastomas não são completamente conhecidas, assim como a maioria dos tipos de câncer. O que se sabe até então é que, existem diferenças muito importantes entre as células de neuroblastoma e os neuroblastos normais. Ambas as células nervosas e das glândulas supra-renais se desenvolvem a partir de neuroblastos (forma primitiva de células nervosas). O neuroblastoma se desenvolve a partir do momento que neuroblastos fetais não se tornam células nervosas ou células maduras da medula adrenal, e continuam a crescer e se dividirem.(4)

Alguns neuroblastos podem não ter amadurecido completamente até o momento do nascimento e se aglomerarem nas glândulas supra-renais de algumas crianças menores de 3 meses de idade. Mas, a maioria destes neuroblastos, amadurecem em células nervosas ou simplesmente morrem e não se tornam neuroblastomas. Às vezes, os neuroblastos continuam a crescer e formam tumores, que podem até se espalhar para outros órgãos do corpo, porém isso só acontece em crianças muito jovens. Muitos destes tumores continuaram crescendo e se espalharão ou simplesmente irão desaparecer. São descritos ainda membros de uma mesma família com neuroblastoma, ou que tenham uma excreção urinária aumentada de catecolaminas.(4)

O não amadurecimento dos neuroblastos é devido ao DNA anormal presente no interior da célula. Sabemos que o DNA é adquirido através de nossos pais e que podem influenciar no risco de desenvolvimento de algumas doenças, tais como alguns cânceres. Em sua maioria as células de neuroblastoma tem algum tipo de alteração cromossômica que provavelmente afetam certos genes, que não são completamente determinados pelos cientistas.(4)

3.3 Incidência (faixa etária atingida)

O neuroblastoma é um tumor sólido extracraniano, sendo o segundo tumor maligno sólido mais comum na infância depois dos tumores cerebrais, sendo responsável por cerca de 7% a 10% de todas as neoplasias infantis e por aproximadamente 50% dos casos de malignidade diagnosticadas na infância. E há um discreto predomínio na ocorrência de neuroblastoma em crianças do sexo masculino sobre o feminino.(5;23)

O diagnóstico acontece em média até os 22 meses de idade. Sendo que uma maior incidência de diagnósticos acontece na primeira infância. De forma isolada o neuroblastoma é responsável por aproximadamente 15% das mortes por cânceres na infância.(5)

No neuroblastoma não há fatores ambientais conhecidos que possam aumentar a chance do aparecimento do neuroblastoma. Já que é o tipo de câncer mais comum em crianças muito jovens, e bastante raro em crianças com idade superior a 10 anos. Cerca de 2% de todos os neuroblastomas podem ter sido herdados, e com isso aumentado as chances de desenvolvimento do neuroblastoma. Mas a maior parte dos neuroblastomas não parece ser herdado.(4)

3.4 Sintomas, diagnóstico e tratamento

Os sinais e sintomas do neuroblastoma podem variar extensamente, dependendo do tamanho e localização do tumor, do grau de disseminação para outras partes do corpo, e com ou sem as células tumorais secretando hormônios. Os sintomas do neuroblastoma podem variar de acordo com a região afetada e a idade da criança. Quando são acometidos nas regiões cervical e torácica e geralmente em crianças abaixo de 2 anos, apresentam aumento da circunferência ou massa abdominal, febre e perda de peso. Já os pacientes com metástases hematogênicas, o que ocorre geralmente em crianças mais velhas, essas podem apresentar dor óssea, edema periorbital e equimoses, sintomas respiratórios e queixas gastrointestinais. Em neonatos os neuroblastomas podem se apresentar de forma

disseminada, com múltiplas metástases cutâneas e coloração azul escura da pele.(4;24)

Em algumas apresentações clínicas incomuns podem ocorrer, o que incluem, hidropisia fetal e diarreia crônica devido a secreção tumoral. A hipertensão, geralmente não acentuada, mas é vista em até 50% dos casos. Alguns casos apresentam sinais que associam a produção exacerbada de catecolaminas com taquicardia, cefaleia e flush cutâneos.(5;6;25)

Aproximadamente 90% dos neuroblastomas, produzem catecolaminas, independentemente da localização, o que representa uma importante característica no diagnóstico. Os níveis elevados de ácido vanilmandélico, ácido homovanílico, diidroxifenilalanina, dopamina e norepinefrina na urina, auxiliam também no diagnóstico de neuroblastoma.(5;26)

Outros exames laboratoriais que auxiliam no diagnóstico do neuroblastoma são hemograma completo, EAS, teste de função hepática e renal, ferritina sérica e VHS. Os exames de imagem como o raios-x, campos magnéticos, ondas sonoras, ou substâncias radioativas são utilizados para criar imagens do interior do corpo e para ajudar a descobrir se uma área suspeita pode ser cancerígena, o quão longe o câncer se espalhou ou pode se espalhar, e para ajudar a determinar a eficácia do tratamento. A cirurgia também pode ser utilizada para diagnosticar o neuroblastoma além de trata-lo. De todos os fatores que levam a suspeita de um neuroblastoma, somente a biópsia pode apresentar certeza ao diagnóstico.(4;26)

A grande maioria das crianças apresentam um estágio avançado no momento do diagnóstico com um prognóstico extremamente pobre, com o qual não se tem alterado com o surgimento de novos métodos combinados de tratamento do câncer. A idade e o estágio são os mais importantes dados para o prognóstico do neuroblastoma. Os lactentes menores de 1 ano tem um excelente prognóstico, independente do estágio da neoplasia.(5)

Crianças entre 1 e 5 anos tem um prognóstico intermediário para os tumores de baixo estágio, embora os que tenham a doença em estágio avançado tenham uma taxa de sobrevivência menor que 5%, e que independe de outros fatores prognósticos. As crianças maiores que 5 anos tem um prognóstico bastante desfavoráveis independente do estágio da neoplasia.(5;26)

O tratamento do neuroblastoma, consiste, basicamente na remoção cirúrgica completa, com o uso de combinações quimioterápicas agressivas e associadas a

radioterapia. Métodos recentes foram acrescentados ao tratamento, que incluem, a utilização de meta-iodo-benzil-guanidina, imunoterapia, agentes estimuladores de diferenciação celular, desferoxamina e os transplantes de medula óssea. O tratamento deverá ser programado de acordo com cada prognóstico.(27)

Segundo o Grupo de Oncologia Infantil (GOC), o tratamento para o neuroblastoma se baseia em um esquema de acordo com o grupo de risco. Os pacientes que são classificados como baixo risco, tem como principal tratamento a cirurgia. Apenas 20% destes necessitarão de tratamento quimioterápico associado. Os pacientes com risco intermediário incluem ao tratamento a quimioterapia com a retirada do tumor quando possível. Quando os tumores são irressuscitáveis a radioterapia é acrescentada ao tratamento logo após a quimioterapia.(28;29;30;31)

Para os pacientes de alto risco o tratamento de maior eficácia é o multimodalidade, que inclui, quimioterapia intensiva com combinação de agentes, seguida de ressecção cirúrgica, e doses maiores de quimioterapia. Posteriormente se faz o transplante autólogo de medula óssea. Porém, a maioria dos pacientes se encontram no momento do diagnóstico com metástases o que compromete o transplante autólogo de medula óssea. Em casos como este se usa o Iodo- 131- metaiodobenzilguanidina que deve ser usado nas áreas identificadas para a irradiação. Posteriormente, se necessário, realiza-se a radioterapia individualizada e ácido 13 cis-retinóico.(32;33)

4. p53

Um dos genes relacionados ao câncer e mais importantes é o gene p53, no qual mutação ou inativações podem comprometer ou não o surgimento do câncer, por causar um aumento na quantidade de células com instabilidade genética. O p53 produz uma fosfoproteína nuclear sintetizada pela própria célula, que está localizado no braço curto do cromossomo 17 (17p13).(34)

O gene p53 é considerado um gene supressor de tumores. Ele se encontra muito afetado por mutações pontuais, deleções ou rearranjos, que contribuem na origem e/ou progressão da maioria de tumores sólidos adultos.(35)

4.1 Histórico e função

Considerado como o “guardião do genoma”, o gene p53, é dentre todos os genes já conhecidos nos processos de carcinogênese, o de maior importância. Ele se destaca por sua mutação ou inativação acarretando no surgimento do câncer. Que pode levar a um aumento do número celular com uma maior instabilidade genética. O que se sabe é que o gene p53, "não é um oncogene, nem um antioncogene, e pode ser uma mistura de ambos, mas, certamente, é uma molécula de busca incessante a manutenção da integridade do genoma".(9;36;37)

Mapeado no braço curto do cromossomo 17, região p13.1, o gene p53 codifica uma proteína nuclear de 53 kD, descrita em células transformadas pelo vírus SV40, nas quais se associavam ao antígeno T. Porém o p53 também é alvo de outros vírus, como o E1B, HPV16 e HPV18. Este gene possui 20Kb e é composto por 11 éxons, sendo que o primeiro não é codificante e altamente conservado. E apresenta homologia estrutura entre as diferentes espécies. E as regiões situadas entre os exons 5 e 9 são denominadas de “*hotspots*” de mutação.(38;39;40;41)

O gene p53 codifica uma proteína que também é chamada de proteína p53. Esse gene desempenha diversas funções essenciais para garantir o controle do ciclo celular, sendo que sua principal função está relacionada a preservação da integridade do código genético em cada célula, além de seu papel central na carcinogênese. Ele atua como um sensor de danos no DNA e auxilia o sistema de reparo. Utiliza momentos de *checkpoints* (pontos de controle) para parar o ciclo celular ou induzir a apoptose, prevenindo que ocorra a proliferação de células com o DNA mutado.(10;42)

A p53 faz uma verificação durante o ciclo de divisão celular analisando se há uma eventual ocorrência de mutações na sequência do genoma, decorrentes de uma replicação defeituosa do DNA. A p53 através de uma cascata de reações, impede que a célula entre em processo de mitose e complete sua divisão celular em caso de lesões por agentes físicos, químicos ou biológicos. Fazendo assim com que ocorra dois mecanismos, o de correção da mutação através da ativação da proteína de reparo ou a indução a apoptose. (8;11)

Em relação as neoplasias, o p53 impede a transformação neoplásica através de três complicados mecanismos, recebendo diferentes respostas dependendo da

extensão da mutação, que vai desde a interrupção do ciclo celular, até a correção da mutação através da ativação das proteínas de reparo, ou ainda, o envelhecimento ou apoptose celular.(8)

O função da proteína ficará comprometida quando uma célula apresentar um alelo do gene p53 normal, mutado ou inativado, acarretando na não parada do ciclo celular necessária para o reparo do DNA. A forma ativa da proteína p53 tem vida média muito curta, em torno de 6 minutos, devido a sua degradação rápida. Tornando extremamente difícil a sua detecção. As formas mutadas ou inativadas, ao contrário, tendem a se acumular no núcleo das células, podendo ser facilmente detectadas por métodos imunológicos.(13)

As células geneticamente instáveis geralmente acumulam mutações e rearranjos cromossômicos adicionais, que as levam a uma rápida proliferação das células clonais com DNA mutado acarretando transformações neoplásicas. Sabe-se que a maioria das mutações neste gene envolvem a mudança de uma única base, que produz uma proteína de semi-vida longa e de forma anormal. Porém, a maior parte dos tumores apresentam anormalidades em ambos os alelos, e em alguns tumores ocorre a completa deleção de ambos os alelos.(22;8)

4.2 Mecanismos de ação e produção de substâncias

O ciclo celular é composto de uma sequência de fases ordenadas denominadas de, G0, G1, S, G2 e M. Quando as células estão em repouso, ou seja, sem quaisquer estímulo para iniciar a divisão celular estas células estão na fase G0. Na fase G1, as células são estimuladas a multiplicarem e ativar os genes da quinase dependentes de ciclina, que vão estimular a progressão do ciclo celular a se dividirem e gerarem as células filhas.(37;43)

A ciclina ativará proteínas de regulação do gene (E2F), que acarretará na transcrição dos genes que são responsáveis pela tradução de proteínas que conduzirão as células para a fase S, denominada fase de síntese, que é a produção de uma nova molécula de DNA idêntica. O ciclo então progride para a fase G2, onde não há síntese de DNA e proteínas para iniciar a nova fase de divisão celular ou

fase M. Na fase mitose ou fase M ocorre a própria divisão celular, formando duas células filhas idênticas à original.(44;45)

A proteína p53 atua no controle do ciclo celular, e se integra ao grupo de genes inibidores de quinase dependentes de ciclina, cuja função principal é a inibição de CDKs levando a parada do ciclo celular. Danos no DNA desencadeiam caminhos sinalizados que garantem que p53 se acumule no núcleo das células, assim, o reparo acontece abrangendo uma maior extensão. Como consequência o acúmulo de proteína p53 selvagem no núcleo, atua em alvos específicos na parada do ciclo mitótico na fase G1 e ativam a transcrição de genes para reparação do DNA impedindo que o erro se propague para as células filhas.(8;13;46)

A proteína p53 também contribui na reparação do DNA através da ativação de proteínas que atuam diretamente na restauração da conformação da molécula de DNA. Se as proteínas de reparação não conseguirem reparar o DNA mutado a proteína p53 dispara o mecanismo de apoptose. Tem sido amplamente comprovado a relação entre a proteína p53 e a carcinogênese devido ao elevado índice de mutações deste gene em tumores malignos de diferentes tecidos do organismo.(8;13;47)

A proteína p53 perde sua função em decorrência de alguns fatores, sejam eles, por alterações genéticas, interações da proteína p53 com proteínas virais, ou interação da proteína p53 com outras proteínas reguladoras do ciclo celular. As alterações genéticas podem se apresentar com mutações pontuais (troca de nucleotídeos), que é o tipo de mutação mais encontrado nas neoplasias que ocorrem entre os códons 120 e 290, situados entre os éxons 5 e 9, que resultam em uma proteína não funcional. E as deleções gênicas ou *non sense* de um ou dois alelos do gene p53 que pode levar a transcrição de uma proteína incompleta e não funcional, e inserção de nucleotídeos na cadeia de DNA. (13;48)

Mutações no gene p53 pontuais ou não, alteram de forma bastante significativa a proteína p53, resultando na incapacidade de efetuar a parada do ciclo celular ou disparar o mecanismo de apoptose. Além disto as formas mutadas da proteína apresentam capacidade de interação com proteínas selvagens, impedindo a cessação do tumor, fato conhecido como “efeito dominante negativo”, pois a mutação de um dos alelos do gene p53 produz aparentemente um efeito dominante sobre alelos normais restantes.(36;48;34)

5. A PROTEÍNA p53

A proteína p53 é composta por 393 aminoácidos em sua extensão, e apresenta quatro regiões com funções distintas, chamadas de domínio da proteína. O primeiro domínio chamado de transativação, está localizado na extremidade amino-terminal (N-terminal) e está compreendido entre os aminoácidos 28 e 42 que é responsável por regular a expressão do gene que atuam na parada do ciclo celular e na direção da apoptose.(8;49)

Existem quatro domínios de ligação ao DNA entre os aminoácidos 102 e 292, na região central, que tornam possível a ligação de p53 em sítios específicos do DNA. Na extremidade carboxi-terminal (C-terminal), há dois domínios, o domínio de tetramerização, que se encontra entre os aminoácidos 319 a 360, responsável pela formação de tetrâmeros de p53, que é a forma mais ativa (selvagem) em transativação conhecido como o processo pelo qual se estimula uma célula hospedeira a replicar os componentes genéticos de um vírus.(8;49)

E o domínio regulatório, que se encontra entre os aminoácidos 364 a 393, cuja função é ligar-se ao domínio central de ligação ao DNA, que impedirá a interação destas regiões com promotores de genes que são relacionados com a supressão e morte celular programada.(8;49)

A ativação por fosforilação na extremidade N-terminal, impede que a p53 se ligue ao DNA de maneira específica, que é causada pela ligação da extremidade C-terminal com o domínio central, mais este bloqueio de domínio pode ser revertido. A proteína p53 pode se ligar de maneira específica ao DNA, agindo assim como um fator de transcrição. Existem controvérsias sobre a ativação da proteína por fosforilação ou acetilação, mas a modificação de p53 acarreta na atuação como fator de transcrição através da ligação em sequências específicas, que irão promover a transativação de genes alvos.(8;38)

5.1 Neuroblastoma e p53: relação

A presença difundida de p53 mutado é encontrado na maioria dos tumores malignos humanos, e muitos tumores se desenvolvem na ausência de p53 devido a perda de outros genes supressores de tumor. Raramente são encontrados mutações do gene supressor de tumor p53 em células de neuroblastoma.(12;14)

O gene p53 se encontra raramente mutado em tumores de neuroblastoma, mais a proteína pode se acumular no citoplasma. O p53 pode mediar os efeitos citotóxicos de agente quimioterapêuticos, que são importantes na determinação do acúmulo de proteína p53 no citoplasma que prejudica a função da p53.(50)

Sabe-se que os níveis de proteína p53 nas células, aumentam em resultado aos danos no DNA, já que esta proteína participa do controle do ciclo celular e possivelmente da diferenciação. Acredita-se que a inativação de p53 contribui para a tumorigênese em muitos aspectos e que a sensibilidade às terapias radioquimioterápicas em certos tumores pode ser afetado pela perda da função de p53.(51;52;53)

O neuroblastoma é a neoplasia maligna sólida extracraniana mais comum na infância, e é um tumor frequentemente incurável em crianças acima de um ano. Alguns estudos demonstram a ausência de mutações do gene p53, tanto em células de tumor de neuroblastoma derivadas de tumores avançados quanto em tumores primários. Estudos revelaram que a baixa incidência de mutações do gene p53 nos leva a crer que este gene desempenha um papel menor no desenvolvimento de neoplasias pediátricas.(35;54;55;56)

Como já foi descrito, o p53 tem a capacidade de induzir a apoptose, mais a sua inativação pode resultar em aumento da sobrevivência das células, permitindo assim que as células mutadas produzam outras células com o fenótipo transformado e se acumulem. Uma das alterações genéticas comuns no neuroblastoma é a perda de heterozigossidade.(57;58)

A perda de heterozigossidade (LOH) é um fato biológico resultante de variações genéticas e/ou ambientais como a instabilidades genômicas, que incluem a não disjunção mitótica e recombinação, perda cromossomal, mutações e deleções do DNA, translocação e conversão gênica. Análises de LOH nos permitem identificar mudanças na dosagem de um alelo heterozigoto em relação a outro alelo.(59;60)

Se estas alterações acontecem em um gene supressor de tumor e o alelo excedente sofre mutação, silenciamento genético ou deleção, essa mudança levará a célula a condição de hemizigose, que é quando há um alelo que causa doenças

genética (deletério) ou que reduz a taxa de reprodução e um alelo deletado, ou homozigose para o alelo deletério.(60)

A principal consequência desta mudança é a inativação da função supressora de tumor, que contribuirá para o desenvolvimento de câncer e metástase. Se for possível identificar as regiões de LOH, o entendimento dos mecanismos de formação dos tumores será aumentado facilitando o desenvolvimento de marcadores de prognósticos genéticos e de medidas terapêuticas.(60;61)

Uma característica bastante notada na maioria dos estudos sobre as alterações do gene p53 em neuroblastomas é que em aproximadamente 2% dos casos este gene aparece mutado no momento do diagnóstico e apenas 15% nos tumores de neuroblastoma na recidiva. Os dados sobre a via de sinalização de p53 em células de neuroblastoma ainda é conflitante.(62)

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como podemos perceber a relação do gene p53 com o neuroblastoma ainda é bastante obscura e confusa, e enquanto que em outras neoplasias a relação do gene p53 e a carcinogênese é relativamente clara. No neuroblastoma, esta relação ainda é sujeita a muitas discussões.

O p53 possui um papel bem estabelecido nas células, como um gene supressor de tumor, que produz uma proteína que impede que células geneticamente defeituosas se dividam, induzindo a correções e/ou apoptose. Entretanto, apesar da etiopatogenia, direta ou indireta, praticamente todas as neoplasias humanas envolvem mutações no próprio gene p53, porém este ainda parece ser um papel obscuro no desenvolvimento do neuroblastoma.(8)

Pesquisadores australianos e estadunidenses descobriram recentemente uma possível explicação para a ausência de mutações do gene p53 na maioria dos tumores de neuroblastomas. Suas descobertas indicam que o neuroblastoma possa desativar o gene p53 através de um mecanismo de superprodução de uma determinada proteína, levando as células cancerosas a morrerem e o tumor regredirem. Porém isto envolve a interação de outras proteínas e não exclusivamente do gene p53.(63)

Esclarecer os mecanismos de ação do gene p53 e sua relação com o neuroblastoma é de fundamental importância para aprimorar as estratégias de diagnóstico, prognóstico e terapêutica do mesmo.

ABSTRACT

INFLUENCE OF P53 GENE ON NEUROBLASTOMA

Neuroblastoma is an extracranial, solid tumor originated in the sympathetic nervous system cells. Neuroblastoma curiously can regress spontaneously or mature into benign ganglioneuroma. However it is a tumor with the worst prognosis at the time of diagnosis. As the p53 is considered a "genome guardian", it produces a protein that prevents cells to undergo changes in their DNA. Although even if the liability paper is well established in relation at the cells this gene still having an obscure part in the neuroblastoma.

The development of this article aims to describe the p53 gene and his function, to evidence the link of the p53 gene in human carcinogenesis, the general aspects of neuroblastoma and analyze the relation about how often occur the mutations in neuroblastomas. This will allow a better understanding and commitment in research about neuroblastoma and the influence of the p53 gene, as this type of cancer has a rather curious clinical behavior when compared to others.

Keywords: Carcinogenesis. Cancer. P53 gene. Neuroblastoma. P53 protein.

REFERÊNCIAS

1. BARBUTO, José Alexandre M. Vacina terapêutica contra o Câncer. **Scientific American Brasil**, São Paulo, n.38, 2005.

2. PERERA, F.P. **Meio Ambiente e câncer: que são suscetíveis**, 1997.
3. GUEMBAROUSKI, ROBERTA LOSI ; **Câncer: uma doença genética**, 2008.
4. AMERICANCANCERSOCIETY. **Neuroblastoma**, 2014. Disponível em:<<http://www.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/003125-pdf.pdf>> Acesso em: 24 agos. 2014.
5. KUMAR; ABBAS; FAUSTO. **Robbins e Cotran: Patologia: Bases Patológicas das Doenças**. 7. ed. São Paulo: Elsevier, 2005.
6. BRODEUR, M. et al; Neuroblastoma In: PIZZO PHILIP. et al, **Principles and Practice of pediatric oncology**, Estados Unidos, 2001, ed.6, cap. 30.
7. PANUEL M, BOURLIERE-NAJEAN B, GENTET JC, SCHEINER C, DELARUE A, Faure F, et al. Neuroblastoma agressivo com metástases pulmonares iniciais e envolvimento renal simulando tumor de Wilms. *Eur J Radiol*. 1992.
8. ARRUDA, et al. Proteína p53 e câncer: Controvérsias e Esperanças. **Estudos**, Goiânia, v. 35, n. 1/2, p.123-141, jan. 2008. Disponível em: <<http://seer.ucg.br/index.php/estudos/article/viewFile/564/449>>. Acesso em: 16 out. 2014.
9. YAMAGUCHI K, et al. A abordagem da detecção de perda dos alelos do gene supressor de tumor p53 em tumores do colon. **Am J Gastroenterol**, 1997.
10. LIMA, et al. Gene P53: grandes mutações em neoplasias e terapia de gene anticâncer. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 5, p.845-853, maio 2012.
11. RIVOIRE, W. A. et al. Bases biomoleculares da oncogênese cervical. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 47, n. 2. 179-184, 2000.
12. GOLDMAN, et al. A via de transdução de sinal é a p53 intacta em células de neuroblastoma humano, apesar localização citoplasmática. **Am J Pathol**, [s.i], v.

148, n. 5, p.1381-1385, maio 1996. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1861565/pdf/amjpathol00041-0061.pdf>>. Acesso em: 13 out. 2014.

13. CAVALCANTI JÚNIOR. et al. P53 e as hemopatias malignas. **Revista Brasileira de Cancerologia**, Rio de Janeiro, v. 48, n. 3, p.419-427, jul. 2002. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/rbc/n_48/v03/pdf/revisao3.pdf>. Acesso em: 22 set. 2014.

14. MOLL, et al. A proteína p53 de tipo selvagem sofre sequestro citoplasmática em neuroblastomas indiferenciadas mas não diferenciadas em tumores. **Medical Sciences**, Eua, v. 92, p.4407-4411, maio 1995. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC41953/>>. Acesso em: 12 out. 2014.

15. NAOUN, P.C. **Imunologia do câncer**. Academia de Ciência e Tecnologia de São José do Rio Preto. São Paulo, 2013.

16. ALBERT, B. et al. **Biologia molecular da célula**. Tradução Ana Letícia Vanz et al. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

17. NATIONAL CANCER INSTITUTE. **Genes and Cancer**. 2014. Disponível em:<<http://www.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/002550-pdf.pdf>>. Acesso em: 12 agos. 2014.

18. RIA. **Identificação de Hotspots no gene MYH**. 2012. Disponível em:<<http://hdl.handle.net/10773/10130>>. Acesso em: 06/08/2014.

19. SNUSTAD, D. **Fundamentos de genética**, 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

20. NEWS MEDICAL. **Quais são proto-oncogenes ?**. 2014. Disponível em:<<http://www.news-medical.net/health/What-are-Proto-Oncogenes.aspx>>. Acesso em: 17 agos. 2014.

21. LOPES, A; OLIVEIRA; PRADO, B. C. Principais genes que participam da formação de tumores. **Revista de biologia e ciências da terra**, Volume 2, Número 2, 2002.

22. KNUDSON, G. Antioncogenes e câncer humano. **Institute for cancer research**, Volume 90,1993.

23. URAYAMA, Y. et al. Características de nascimento e o risco de neuroblastoma em crianças pequenas. **American Journal Of Epidemiology**. Estados Unidos, 12 dez. 2006. p. 486-495.

24. Schiebel E, Rechnitzer C, Fahrenkrug J, Hertz H. Polipeptídeo vasoativo intestinal (VIP) em crianças com tumores da crista neutros. **Acta Paediatr Scand**. 1982.

25. ODONE FILHO, et al. Dois tumores sólidos freqüentes na infância: Neuroblastoma e Tumor de Wilms - Revisão e Atualização. **Instituto da Criança "prof. Pedro de Alcantara" do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.**: Unidade de Onco-Hematologia., São Paulo, p.155-161, dez. 1982.

26. BOUZAS; CALAZANS. Tumores sólidos e hematológicos na infância e na adolescência – Parte 2. **Adolescência e saúde**, Rio de Janeiro, v. 4, n. 2, p.13-18, abr. 2007.

27. CARTUM. Neuroblastoma: o enigmático tumor da infância. **Pediatria Moderna**, São Paulo, v. 48, n. 8, p.296-301, ago. 2012. Disponível em: <http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?fase=r003&id_materia=5132>. Acesso em: 13 set. 2014.

28. M.L, et al. Prognóstico favorável para os pacientes de 12 a 18 meses de idade com estágio 4 não amplificados neuroblastoma MYCN: Study Group Câncer Infantil. **Journal Of Clinical Oncology: official journal of the american society of clinical oncology**. Chicago, p. 20-23. ago. 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16116154>>. Acesso em: 13 set. 2014.

29. A.E, et al. Gestão bem sucedida de baixo estágio neuroblastoma sem terapias adjuvantes: a comparação de duas décadas, de 1972 a 1981 e 1982 a 1992, em uma única instituição. **Journal Of Clinical Oncology: official journal of the**

american society of clinical oncology. Filadélfia, p. 14-14. set. 1996. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8823329>>. Acesso em: 13 set. 2014.

30. H, et al. Amplificação do gene N-Myc é um importante fator prognóstico em neuroblastoma localizada: resultados da NBL 90 estudo francês. Neuroblastoma Study Group of the Société Française d'Oncologie Pédiatrique. **Journal Of Clinical Oncology: Official Journal Of The American Society Of Clinical Oncology**. Toulouse, mar. 1997. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9060561>>. Acesso em: 13 set. 2014.

31. E.M, et al. O desafio cirúrgico de neuroblastoma. **Journal Of Pediatric Surgery**. London, fev. 1994. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8176583>>. Acesso em: 13 set. 2014.

32. SWANK, R L et al. Fatores prognósticos em Neuroblastoma. **From The Surgical Clinic Of The Children's Hospital Of Pittsburgh And The Department Of Surgery: University of Pittsburgh School of Medicine**. Boca Raton - Florida, p. 428-435. set. 1971. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1397579/pdf/annsurg00392-0100.pdf>>. Acesso em: 13 set. 2014.

33. STROTHER et al. Sobrevida livre de eventos de crianças com neuroblastoma biologicamente favorável com base no grau de ressecção do tumor inicial: resultados do Grupo de Oncologia Pediátrica. **European Journal Of Cancer**. Oxford - Inglaterra, p. 0-0. out. 1997. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9516866>>. Acesso em: 13 set. 2014.

34. HARRIS, C.; HOLLSTEIN. Implicações clínicas do p53 tumor-supressor gene. **The New England Journal Of Medicine**. [s.i], p. 1318-1327. out. 1993. Disponível em: <<http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJM199310283291807>>. Acesso em: 22 set. 2014.

35. GAKU, et al; **Baixa Frequência das mutações no gene p53 em neuroblastoma**, 1994, p 3087.

36. Yonish-rouach. Uma questão de vida ou morte: o gene supressor de tumor p53. **Pathol Biol**. Paris. dez. 1997.

37. HAINAUT, P; HÖLLSTEIN, M. p53 e câncer humano.: Os primeiros dez mil mutações. **Avanços na Pesquisa do Câncer** , Nova York, v.77, p.87-137, 2000.
38. LANE, CRAWFORD. Antígeno T está ligado a uma proteína em células de hospedeiro transformadas com SY40. **Nature**, 1979. 278: 261-263.
39. SARNOW P, HO YS, WILLIAMS JM, et al. **Antígeno tumoral adenovírus EI B-58KD e antígeno tumoral grande de SV40 está associada com a mesma proteína celular de 54 KD em células transformadas.** p.387-394, 1982.
40. STRACHAN T, READ AP. **Genética Molecular Humana**. 2 ed. Porto Alegre: Artmed Editora, p. 576, 2002.
41. ALMEIDA, J. D. et al. Expressão do gene p53 no carcinoma bucal. *Revista da Faculdade de Odontologia, São José dos Campos*, v. 1, n. 1, jul/dez. 1999.
42. LEVINE, A. J.; MOMAND, J. Genes supressores de tumor: os genes de sensibilidade p53 e retinoblastoma e os produtos do gene. **Biochimica et Biophysica Acta**.,v. 1032, p. 119-36, 1990.
43. KLUMB, CE; CAVALCANTI JÚNIOR, GB. Avaliação dos Métodos de detecção das alterações do gene p53 e Proteína NAS neoplasias linfoides. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**. São José do Rio Preto, v.24, p.111-125, 2002.
44. LODISH, H. et al. **Biologia Celular e molecular** . 4.ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2002, p 1084.
45. ALMEIDA, VL et ai. Câncer e Agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular de: não específicos that interagem com o DNA.: UMA Introdução **Química Nova** , São Paulo, v.8, p.118-129, 2005.
46. VIALARD et al. Mecanismos moleculares que controlam o ciclo celular: aspectos fundamentais e implicações para a oncologia. **Câncer Radiothérapie: Journal de la société Française de radiothérapie oncologique**, França, abr. 2001. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11355576>>. Acesso em: 04 out. 2014.

47. PIETSCH, Ce; HUMBEY, O; MURPHY, Me. Polimorfismos na via p53. **Oncogene**, Basingstoke, n. 25, p.1602-1611, mar. 2006. Disponível em: <<http://www.nature.com/onc/journal/v25/n11/full/1209367a.html>>. Acesso em: 05 out. 2014.
48. SOUSSI T, Ciclo celular e apoptose: o gene supressor de tumor p53, **Med Sci**, Paris, v. 16, n^o 4; p.469-72, abril. 2000. Disponível em: <http://www.ipubli.inserm.fr/bitstream/handle/10608/1677/MS_2000_4_469.pdf?sequence=3> Acesso em: 06/10/2014.
49. SILVA, A. M. T. C.; AMARAL, M. V. T.; CRUZ, A. D. HPV e câncer: o papel do Papiloma Vírus Humano na Carcinogênese. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v. 29, p. 48-54, 2003.
50. RODRIGUEZ-LOPEZ, Ana M. et al. Exclusão MDM2 Mediada por nuclear de p53 Atenua a Etoposide Induzida por apoptose em células de neuroblastoma. **Molecular Pharmacology**, Eua, v. 59, n. 1, p.135-143, out. 2010. Disponível em: <<http://molpharm.aspetjournals.org/content/59/1/135.full.pdf+html>>. Acesso em: 16 out. 2014.
51. KUERBITZ et al. P53 do tipo selvagem é um ponto de controlo do ciclo celular após a irradiação determinante. **Proc Natl Acad Sci Usa**, Eua, v. 89, p.7491-7495, ago. 1992. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1323840>>. Acesso em: 13 out. 2014.
52. H, Symonds et al. Apoptose dependente de p53 inibe o crescimento do tumor in vivo e de progressão. **Cell**, [s.i], v. 78, p.703-711, ago. 1994. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8069917>>. Acesso em: 13 out. 2014.
53. KASTAN M et al. Os níveis de proteína p53 aumentam com a maturação em células hematopoiéticas humanas. **Cancer Res**, [s.i], v. 51, p.4279-4286, ago. 1991. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1868448>>. Acesso em: 13 out. 2014.
54. VOGAN et al. Ausência de mutações no gene p53 em neuroblastomas primários. **Cancer Res**, p.5269-5273, nov. 1993. Disponível em:

<<http://cancerres.aacrjournals.org/content/53/21/5269.full.pdf>>. Acesso em: 12 out. 2014.

55. KOMURO et al. As mutações do gene p53 estão envolvidas em sarcomas de Ewing, mas não em neuroblastomas. **Cancer Res**, [s.i], v. 53, p.5284-5288, nov. 1993. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8221663>>. Acesso em: 13 out. 2014.

56. CASTRESANA J et al. Nenhuma mutação no gene TP53 em neuroblastomas detectadas pela análise de PCR-SSCP. **Genes Chromosomes Cancer**, [s.i], p.136-138, jun. 1994.

57. BRODEUR, et al. Características citogenéticas de neuroblastomas humanos e linhas celulares. **Cancer Res**, [s.i], v. 41, p.4678-4682, nov. 1981. Disponível em: <http://cancerres.aacrjournals.org/content/41/11_Part_1/4678.full.pdf>. Acesso em: 14 out. 2014.

58. FONG, et al. A perda de heterozigotia para o braço curto do cromossoma 1 em neuroblastomas humanos: Correlação com a amplificação de N-myc. **Proc. Natl. Acad. Sci**, Eua, v. 86, p.3753-3757, maio 1989. Disponível em: <<http://www.pnas.org/content/86/10/3753.full.pdf+html>>. Acesso em: 14 out. 2014.

59. PINTO. Etiopatogenia do câncer vulvar. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratoria**, Rio de Janeiro, v. 38, n. 1, p.55-63, out. 2001. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/jbpml/v38n1/a11v38n1>>. Acesso em: 16 out. 2014.

60. BRONSTEIN, D.; MELMED, Shlomo. Tumorigênese hipofisária. **Arq Bras Endocrinol Metab**, [s.i], v. 49, n. 5, p.615-625, out. 2005. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abem/v49n5/a03v49n5.pdf>>. Acesso em: 16 out. 2014.

61. SILVA; ZUCOLOTO. A família do p53: aspectos estruturais e funcionais do p73 e do p63. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 39, n. 2, p.179-184, nov. 2002. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/jbpml/v39n2/16364.pdf>>. Acesso em: 16 out. 2014.

62. CARR-WILKINSON, et al. Alta Frequência de p53 / MDM2 / p14 ARF Caminho Anormalidades em Relapsed Neuroblastoma. **Clinical Cancer Research**, [s.i], v. 16, p.1108-1118, fev. 2010. Disponível em: <<http://clincancerres.aacrjournals.org/content/16/4/1108.full.pdf+html>>. Acesso em: 14 out. 2014.

63. SWARBRICK, et al. MIR-380-5p reprime p53 para controlar a sobrevivência celular e está associado com pior desempenho em neuroblastoma amplificado-MYCN. **Nature Medicine**, [s.i], v. 16, n. 10, p.1134-1141, out. 2010.