

BIOLOGIA E PATOGÊNESE DOS LINFOMAS NÃO HODGKIN DE ORIGEM B NA INFÂNCIA: UMA REVISÃO

Biology and Pathogenesis of B Non-Hodgkin Lymphoma in Childhood: a Review

Claudete Esteves Klumb

RESUMO

Os linfomas não Hodgkin de origem B na infância são neoplasias de alto grau de malignidade, predominando os linfomas do tipo Burkitt e não Burkitt. O linfoma de Burkitt apresenta dois subtipos, o endêmico e o esporádico, ambos caracterizados por translocações cromossômicas envolvendo o proto-oncogene *c-myc* que resultam na perda de regulação desse gene. Embora a função normal do *c-myc* permaneça enigmática, recentes dados indicam que esse gene desempenha um papel importante em diversos aspectos da biologia celular, incluindo proliferação, diferenciação, metabolismo e apoptose. Nesta revisão são abordados os aspectos epidemiológicos, clínicos e moleculares dos linfomas B da infância e o papel da ativação do gene *c-myc* associado a mutações dos genes *p53* e *Rb* na patogênese dos linfomas de Burkitt. O papel da infecção pelo vírus *Epstein-Barr* (EBV), sua relevância na indução da carcinogênese e interação das proteínas virais com proteínas dos genes supressores de tumor é também discutido.

Palavras-chave: linfoma não Hodgkin; linfoma de Burkitt; criança.

ABSTRACT

The non-Hodgkin's lymphoma in childhood encompasses a closely related group of aggressive B-cell tumors that includes Burkitt's and non Burkitt's lymphomas among other less frequent types. Burkitt's lymphoma includes two distinct forms, namely the endemic and sporadic types, which are characterized by the presence of a chromosomal translocation leading to c-myc proto-oncogene deregulation. Although the normal function of c-myc remains enigmatic, recent data indicate that it has a central role in several fundamental aspects of cellular biology, including proliferation, differentiation, metabolism, and apoptosis. This review focuses on the clinical, epidemiological and molecular features of B non-Hodgkin's in childhood and discusses new insights into molecular mechanisms of c-myc activation associated to p53 and Rb gene mutations with Burkitt's lymphoma pathogenesis. The role of EBV virus infection and its potential relevance to virus-induced carcinogenesis and the interaction of viral factors with cellular tumor suppressor proteins is also discussed.

Key words: non-Hodgkin's lymphoma; Burkitt's lymphoma; child.

INTRODUÇÃO

Os mecanismos de transformação neoplásica de uma célula normal envolvem uma série de eventos genéticos e moleculares que afetam a proliferação e a diferenciação celular. Dois grupos de genes, os proto-oncogenes e os genes supressores de tumor, estão envolvidos na patogênese dos processos neoplásicos. Os proto-oncogenes estimulam o crescimento celular e impedem a diferenciação, enquanto que os genes supressores de tumor promovem a diferenciação e limitam a proliferação. A quebra da regulação deste delicado sistema através da ativação de proto-oncogenes ou perda da função de genes supressores de tumor resulta na proliferação celular descontrolada e acúmulo de sucessivas anormalidades genéticas, uma característica da célula neoplásica.¹

Os proto-oncogenes podem ser ativados por translocações ou por amplificação, levando à expressão aberrante de sua proteína. Mutações somáticas também podem alterar um oncogene, resultando em uma proteína com uma nova função biológica. Os genes supressores de tumor são freqüentemente alterados por mutações ou deleções. Estes genes normalmente têm a função de regulação negativa da célula durante sua progressão no ciclo celular e proliferação. Desta forma a inativação de um gene supressor de tumor pode resultar na perda do controle da regulação negativa e proliferação celular.

Dentro deste contexto, as neoplasias linfóides podem ser definidas como um acúmulo progressivo de um único clone de células linfóides resultante de múltiplas alterações genéticas que ocorrem no genoma da célula. Esse acúmulo de alterações genéticas ocorre mais freqüentemente em células que estão proliferando ativamente.

Um passo na transformação maligna dos linfócitos ocorre com freqüência pela justaposição de um gene que codifica o receptor das imunoglobulinas (Igs) ou receptor de células T (TCR) com um gene que controla a proliferação e diferenciação celular.

O DNA que codifica o receptor de Igs nos linfócitos B ou TCR nos linfócitos T existe em uma configuração *germline* sob a forma de segmentos gênicos, não contíguos, que são

recombinados. Durante a ontogenia dos linfócitos, esse mecanismo de recombinação gênica dá origem a um repertório diversificado formado por diversos clones de células B e T.^{2,3} Embora esse mecanismo seja altamente benéfico, envolve a quebra e a ligação do DNA dentro desses loci (mediada por um sistema complexo de enzimas) e, está sujeito a um risco aumentado de ligações aberrantes em outras partes do genoma. Não é surpreendente, portanto, que os genes das Igs e TCRs estejam envolvidos em aberrações cromossômicas que contribuem para o aparecimento da transformação maligna.

As alterações genéticas relacionadas aos linfomas, também, freqüentemente resultam na perda da regulação de genes envolvidos na proliferação e diferenciação celular.⁴ Um número significativo de genes descobertos na junção das translocações relacionadas aos linfomas são fatores de transcrição que além de se ligarem ao DNA e ativarem programas genéticos também são capazes de interagir com outros fatores de transcrição (interação proteína-proteína). O resultado é a ativação ou inibição de programas de expressão gênica que controlam a proliferação e diferenciação celular.

Nesta revisão abordaremos os aspectos clínicos, epidemiológicos e moleculares e sua interação na patogênese dos linfomas de origem B da infância.

ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E CLÍNICOS

Os linfomas representam o terceiro câncer mais comum em crianças correspondendo a 12% de todas as neoplasias nos Estados Unidos.⁵ Os linfomas na infância são divididos em duas entidades clínico-patológicas distintas: linfoma não Hodgkin (LNH) e linfoma de Hodgkin (LH). Os LNHS são exclusivamente linfomas de alto grau e compreendem 60% dos linfomas nas estatísticas dos Estados Unidos.⁶

Os LNHS são classificados em 3 categorias: linfoma de pequenas células não clivadas (do tipo Burkitt e não Burkitt), linfoma linfoblástico e linfoma de grandes células.⁷⁻⁹ Cada categoria apresenta

características clínicas, imunofenotípicas e moleculares distintas, sendo o linfoma de pequenas células não clivadas a categoria prevalente na infância. Nesse grupo, 2 subtipos histopatológicos, o tipo Burkitt e o não Burkitt representam transformação neoplásica de uma célula B precursora em estágio mais diferenciado como evidenciado pela constante expressão de imunoglobulina de superfície (Ig M).⁸

Entre as crianças com linfoma de pequenas células não clivadas, a distinção entre linfoma de Burkitt (LB) e linfoma do tipo não Burkitt ou Burkitt like (LBL) não tem relevância clínica e terapêutica.¹⁰ No entanto, alguns achados recentes mostram expressão freqüente da proteína Bcl-6 nos LBL da infância.¹¹ Esta proteína é expressa em células linfóides centrofoliculares normais o que sugere que provavelmente o LBL é originário de células do centro germinativo.

Previamente já havia sido demonstrado que existe uma heterogeneidade fenotípica e funcional entre os LB e LBL.¹² Como o tipo LBL é mais prevalente em adultos, estudos prospectivos com maior casuística são necessários para confirmação desses achados em crianças.

O LB foi a primeira neoplasia em humanos associada a um vírus oncogênico e desde então é considerado um paradigma na etiopatogenia dos linfomas. Apresenta duas formas distintas: a forma endêmica e a esporádica. Existe uma marcante diferença geográfica na taxa de incidência anual do LB. A incidência desse tumor é alta em áreas endêmicas de malária, particularmente na África, afetando 4/100.000 indivíduos com idade abaixo de 15 anos.¹³ A forma esporádica da doença ocorre nos Estados Unidos e outros países sendo observada em 0,2/100.000 indivíduos por ano na mesma faixa etária. Com relação ao sexo, um estudo do Registro Americano de LB mostrou maior distribuição da doença no sexo masculino e com idade média de 10 anos, dados esses que diferem da forma endêmica.¹⁴ No Brasil, um estudo recente mostrou uma predominância desse tipo de linfoma em crianças na região nordeste do país¹⁵ e, não foi observada correlação com a presença de malária em outro estudo na mesma região.¹⁶

Embora muito semelhantes do ponto de vista histopatológico, as formas endêmica e esporádica diferem em diversos aspectos. Na forma esporádica, o local primário da doença envolve o abdômen em 80% e a mandíbula em somente 14% dos pacientes. No LB endêmico, observa-se envolvimento mandibular e maxilar em 60% dos pacientes, acometimento abdominal em proporção similar (58%), seguido pelo sistema nervoso central e paraespinhal.¹⁷ O padrão da apresentação inicial do LB no Brasil é muito semelhante ao das formas esporádicas dos Estados Unidos e Europa com envolvimento freqüente da região ileocecal e nasofaringe.¹⁸ Outra diferença geográfica marcante das duas formas é a associação do vírus Epstein-Barr (EBV) com a forma endêmica. Entretanto, só 15% a 20 % dos LBs observados na Europa e nos Estados Unidos estão associados ao EBV. A freqüência dessa associação na América do Sul parece ser intermediária e, no Brasil, 70% de freqüência do EBV associado ao LB vem sendo demonstrada.^{16,19}

No nível molecular, com relação ao ponto de quebra nos cromossomas 8 e 14, estas duas formas do LB apresentam padrões bem distintos. Entretanto, no Brasil o LB tem um padrão molecular que com freqüência se assemelha ao LB endêmico.²⁰

PATOGÊNESE DO LINFOMA DE BURKITT

EVENTOS MOLECULARES

O LB é caracterizado por translocações envolvendo o cromossoma 8 na banda 24 -q, a localização do proto-oncogene c-myc, um gene crítico na regulação da proliferação celular, que é translocado para os loci dos genes das Igs no cromossoma 14 q32 (cadeia pesada μ), cromossoma 2p11(cadeia leve κ) ou cromossoma 22q11 (λ). Na translocação 8;14 que corresponde a 80% das translocações no LB, o gene c-myc é translocado do cromossoma 8 para o locus da cadeia pesada no cromossoma 14 enquanto nas translocações variantes parte das cadeias leves são translocadas para o cromossoma 8.²¹ Em ambos os casos, o gene c-myc é justaposto a uma região do gene da cadeia constante da Ig

seja essa cadeia pesada ou leve. (Figura 1) É provável, como discutido anteriormente, que os eventos recombinatórios que ocorrem precocemente na ontogenia dos linfócitos B tornem esses loci vulneráveis a recombinação com o proto-oncogene *c-myc*.²²

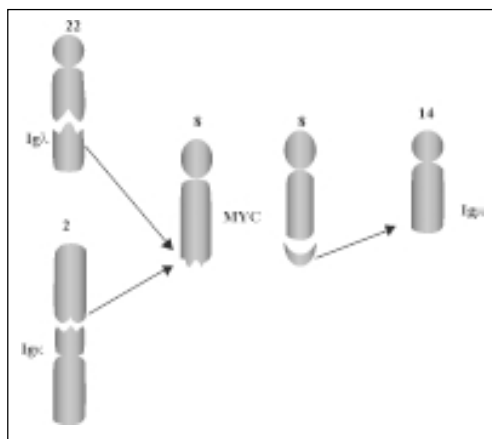


Figura 1. Translocações no linfoma de Burkitt: na t(8;14) clássica o gene *c-myc* é translocado para o locus da IgH no cromossoma 14; nas translocações variantes os locus das cadeias κ e λ são translocados para o cromossoma 8.

As translocações que envolvem o gene *c-myc* são um modelo de como as translocações podem levar a perda da regulação desses genes. No LB endêmico, a quebra do gene *c-myc* ocorre a longa distância (5'acima) das seqüências

codificadoras e regulatórias do gene e a quebra no locus da IgH ocorre dentro dos segmentos J. Como consequência, a justaposição do *c-myc* próximo às seqüências *enhancer* localizadas entre os segmentos J e a região constante μ pode influenciar a transcrição do *c-myc*. A forma esporádica do LB é também predominantemente associada à t(8;14), mas o ponto de quebra do gene é distinto da forma endêmica. Com freqüência, o ponto de quebra do *c-myc* é próximo ou dentro do primeiro exon, sendo algumas vezes entre o primeiro e o segundo exon, resultando em alteração estrutural ou funcional do gene. A quebra e junção no cromossoma 14 ocorre próximo ou dentro da região *switch* μ , eliminando o *enhancer* μ mas mantendo as seqüências *enhancer* mais distantes. (Figura 2) Em ambos os casos, mesmo que as seqüências regulatórias estejam intactas ou removidas pela translocação, a consequência é que o gene passa a ser regulado como um receptor imune e não mais como um gene que deve ser ativado e desativado. Então, um potente programa de crescimento celular é ativado, contribuindo para a transformação neoplásica. Nos casos em que os três exons permanecem juntos com a translocação, mutações dentro do primeiro exon/intron do gene seguem-se a esse evento.^{23, 24}

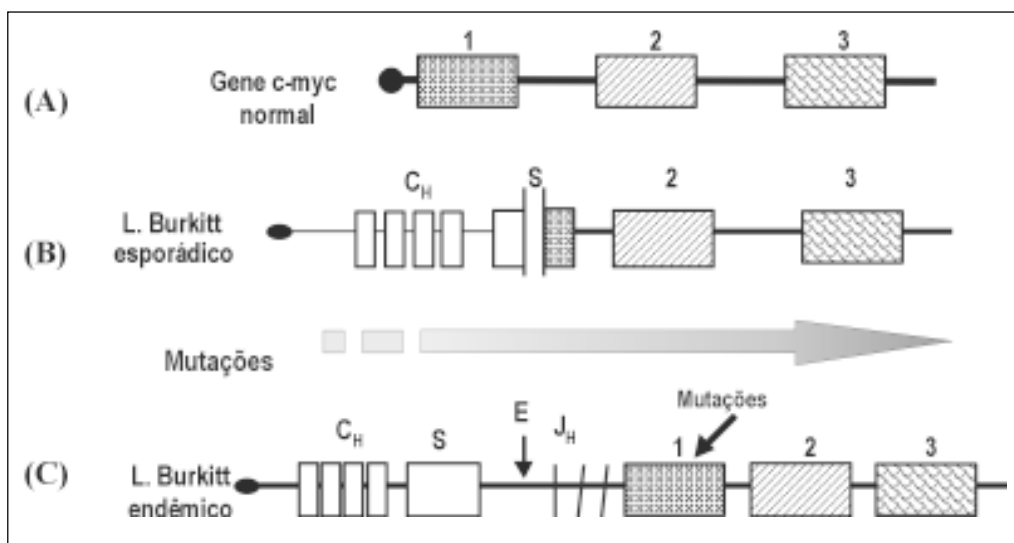


Figura 2. Pontos de quebra no linfoma de Burkitt. **A:** Gene *c-myc* normal com 3 exons. **B:** No LB esporádico a quebra do gene ocorre no exon 1. **C:** No LB endêmico a quebra é distante das regiões regulatórias e os três exons permanecem intactos; mutações no exon/intron 1 se sucedem. C_H , região constante da cadeia pesada; S , região *switch*; E , segmento *enhancer*; J_H , região *joining*. Adaptado de Goldsby, RE; Carrol, WL. *J Ped Hematol / Oncol* 20:286-296, 1998. Estrutura do gene *c-myc*

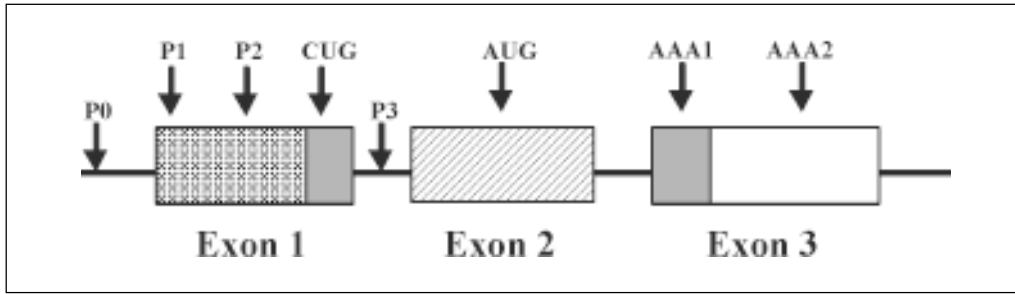


Figura 3. A estrutura do gene é conservada entre as espécies, sendo constituída de 3 exons. A transcrição do RNA mensageiro é iniciada nas regiões promotoras P1 e P2. Os exons 2 e 3 codificam as proteínas p64 e p67; CUG, AUG: codons de início da transcrição.

A comprovação direta do papel da translocação na patogênese do LB foi estabelecida por estudos em que camundongos transgênicos foram gerados pela inserção do gene c-myc ligado ao *enhancer* da IgH ($E\mu$). Os camundongos com o transgene $E\mu$ -myc desenvolveram linfoma nos primeiros seis meses de vida.²⁵ Estes experimentos comprovaram que a perda de

regulação do gene c-myc contribui para o aparecimento da maioria dos LB.

O gene c-myc é estruturalmente constituído de 3 exons, sendo o primeiro exon não codificante, enquanto que os exons 2 e 3 codificam as duas principais proteínas, p64 e p67. Nesses exons, ficam as regiões promotoras P1 e P2 do gene, onde se inicia a transcrição do RNA mensageiro das proteínas c-Myc. (Figura 3)

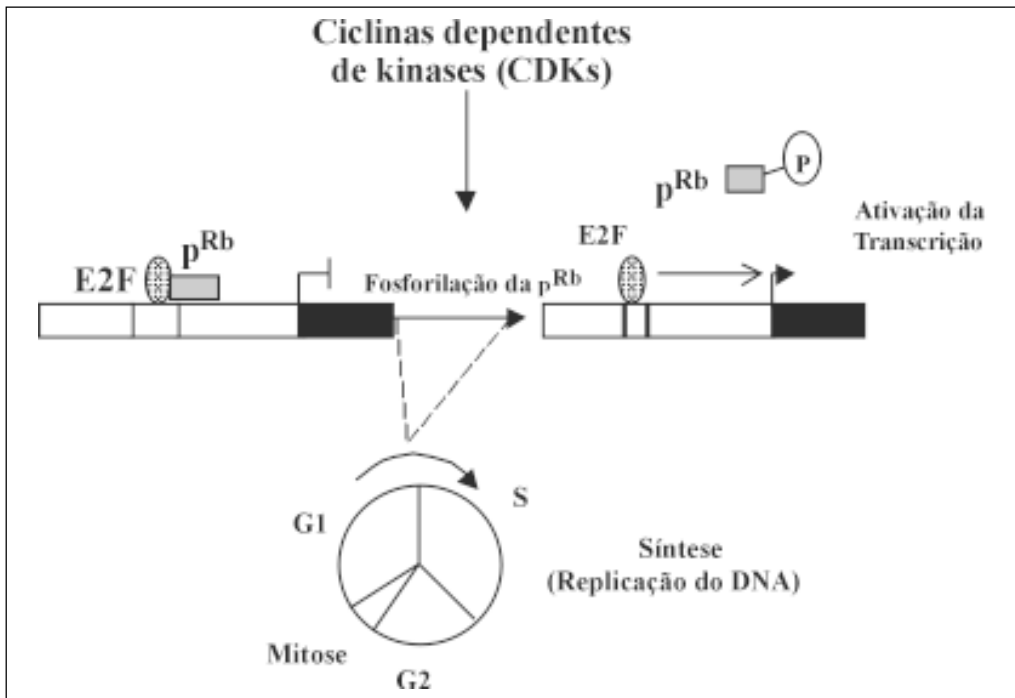


Figura 4. Regulação do ciclo celular pela pRb: pRb hipofosforilada liga-se ao fator de transcrição E2F o que resulta na repressão dos genes alvo do E2F, envolvidos na progressão da célula no ciclo e replicação do DNA. No final da fase G₁, pRb é fosforilada pela ciclina-dependente de kinase, sendo liberada do complexo E2F/pRb. O E2F liberado estimula a transcrição dos genes alvo, resultando em progressão da célula para fase S do ciclo.

A família myc de proto-oncogenes está envolvida no processo de proliferação, diferenciação e apoptose. Os três principais membros desta família c-myc, l-myc e n-myc

codificam proteínas que são fatores de transcrição envolvidos na transcrição de diversos genes. A proteína c-Myc forma heterodímeros com a proteína Max, outra

classe de fator de transcrição. Dependendo do equilíbrio dessas proteínas, a transcrição de genes alvos envolvidos na proliferação celular é ativada ou inibida.²⁶ A expressão constitutiva da proteína c-myc sob controle de um receptor imune tem um efeito substancial neste equilíbrio dinâmico. No entanto, os genes que estão sob controle do c-myc e contribuem para a transformação neoplásica ainda não foram completamente elucidados.

O preciso mecanismo bioquímico de ação da proteína c-Myc, embora complexo, envolve a indução da passagem da célula de um estado não proliferativo G0 para um estágio proliferativo G1. A passagem da célula da fase G1 para fase S requer um *checkpoint*, no qual somente as células com DNA íntegro e com expressão gênica normal são direcionadas para a fase S. Este processo envolve a fosforilação da proteína retinoblastoma (pRb) pelo complexo ciclina D1 com a resultante liberação do fator de transcrição E2F, normalmente ligado a pRb. Este fator então ativa a expressão dos genes envolvidos na síntese de DNA. (Figura 4)

Mutações do gene relacionado ao retinoblastoma, *Rb2/p130* foram descritas recentemente em associação a linhagens celulares do LB e nos tumores primários de regiões endêmicas. À semelhança da p53, a

proteína do *Rb2/p130* modula a transcrição de genes que regulam o ciclo celular e dentre eles o E2F está envolvido na ativação de genes que controlam a proliferação celular e replicação do DNA tais como o gene *c-myc*. (Figura 4) Dada a importância desse gene no controle do ciclo celular, esse achado sugere que o aumento da proliferação celular devido a perda de controle de proteínas relacionadas ao *Rb2/p130* pode ser um dos primeiros passos na transformação maligna dessas células.²⁷

O DNA celular está continuamente exposto a influências genotóxicas endógenas e exógenas, requerendo um sistema eficiente de reconhecimento e eliminação dessas lesões adquiridas. Neste contexto, o papel do gene supressor de tumor *p53* e sua proteína na transição G1/S está bem documentado.

A proteína p53 tem um papel fundamental na manutenção da integridade do genoma após o dano ao DNA. Diversas evidências indicam que a p53 é um componente crítico desse sistema. Os níveis intracelulares da p53 aumentam em seguida ao dano no DNA (Figura 5), levando a um bloqueio na fase G1 do ciclo celular permitindo o reparo e a eliminação do dano, e assim evitando que o mesmo se perpetue no genoma após a replicação.^{28, 29}

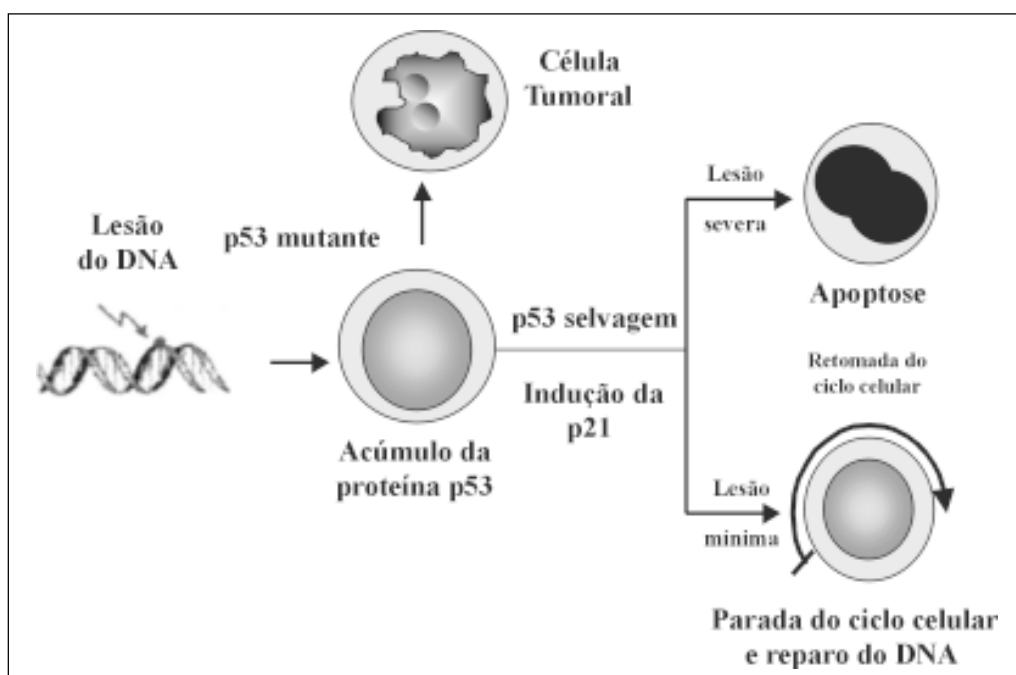


Figura 5. Modelo sugerido para o envolvimento da proteína p53 selvagem no reparo do DNA e a perda desta atividade mediada pela proteína p53 mutante.

A ação da proteína p53, neste cenário, é relacionada com a sua função como ativador transcricional ligando-se a seqüências de reconhecimento no DNA, próximo aos genes alvos e ativando a sua transcrição. Um importante gene alvo ativado pela p53 em resposta ao dano do DNA é o WAF1/p21 cuja proteína age como um bloqueador do ciclo celular induzindo a parada da célula em G1. Mutações do gene p53 em determinados domínios ocasionam a perda dessa atividade transcricional e, nesta situação, a inabilidade em induzir o bloqueio do ciclo em G1 leva a um reparo ineficiente do DNA resultando na instabilidade genética que está associada a um aumentado risco de alterações dos genes que controlam o crescimento celular.^{29,30}

Mutações da p53 são observadas em 30% dos linfomas de pequenas células não clivadas e em 70% das linhagens celulares derivadas desses tumores.^{31,32} Estudos recentes, em linhagens celulares do LB, comprovam o papel da mutação da p53 na indução de tumor em camundongos atímicos.³³ A perda da função normal da p53 e talvez a aquisição de certas mutações podem conferir um fenótipo mais maligno às células do LB em sinergia com a perda de regulação do c-myc.³⁴ Células do LB com mutações da p53 são mais resistentes à quimioterapia e radiação em virtude da incapacidade de induzir a ação da p21(WAF1/p21).³⁵ Recentemente, foi demonstrado que alguns tipos de mutações do gene p53 determinam uma vantagem seletiva às células tumorais e diminuem a resposta dessas células a certos quimioterápicos.³⁶

INTERAÇÃO DAS PROTEÍNAS DO VÍRUS EBV

Diversos estudos têm relatado a ação de proteínas do vírus EBV na transformação maligna.³⁷⁻³⁹ O genoma viral é constituído de aproximadamente 100 genes que são expressos durante a replicação, mas somente 10 desses genes são expressos nas células B infectadas *in vitro*: 2 tipos de RNA, 6 proteínas nucleares e 2 proteínas de membrana. Esta redução de proteínas virais durante a latência do vírus, diminui o número de proteínas que possam ser reconhecidas por células T citotóxicas e

permitem a evasão do vírus da destruição pelos mecanismos de defesa do sistema imune, possibilitando sua permanência no hospedeiro.⁴⁰ O antígeno nuclear EBNA-1 liga-se ao DNA viral e permite que o genoma do vírus seja mantido na célula B. Esta proteína é expressa em todas as formas de latência viral e está implicada na patogênese de diversas malignidades associadas ao EBV, inclusive do LB.³⁷ A proteína LMP-1 tem ação oncogênica, como demonstrado em camundongos transgênicos. A expressão dessa proteína resulta no aparecimento de linfomas de células B.⁴¹ A proteína LMP-1, também *in vivo*, liga-se ao Fator de Necrose Tumoral induzindo a proliferação e linfomas de células B em indivíduos imunodeprimidos.⁴² Diversas outras proteínas do EBV têm atividades que favorecem a transformação maligna, como a BHFR1 que é homóloga da proteína humana Bcl-2 cuja ação é a inibição da apoptose.⁴³

A interação de proteínas do vírus EBV com a proteína p53 e pRb já foi demonstrada anteriormente.⁴⁴ A ligação da proteína EBNA-5 (Antígeno Nuclear do Epstein-Barr) às proteínas p53 e pRb ocorre *in vitro*, mas o significado dessa ligação na imortalização das células B ainda não está esclarecido.

INFLUÊNCIA DE FATORES AMBIENTAIS NA PATOGÊNESE DO LINFOMA DE BURKITT

Diferença na incidência dos linfomas em regiões de um mesmo país, ou mesmo em continentes diferentes como exemplificado no LB, sugerem que o desenvolvimento de um linfoma não é um evento ao acaso. Além da suscetibilidade genética, diversos fatores ambientais contribuem na patogênese dos linfomas sendo o LB considerado um paradigma da interação entre esses fatores. Na ontogenia das células B, precocemente, ocorre a t(8;14) ou suas variantes e perda da regulação do c-myc. Infecções como a malária, o vírus HIV e estados de imunodepressão aumentam o número de células B infectadas pelo vírus EBV, possivelmente, aumentando o risco de anormalidades genéticas e aparecimento do LB relacionado ao EBV. A co-infecção pela malária e vírus EBV em idade precoce (100% aos 3 anos de idade) na África Equatorial e talvez a

infecção pelo EBV no Brasil^{16,19} são eventos que possuem um papel importante na patogênese dos LB. (Figura 6) Outros fatores ambientais ainda não determinados podem também influenciar na freqüência e tipo de quebra em diferentes regiões geográficas.

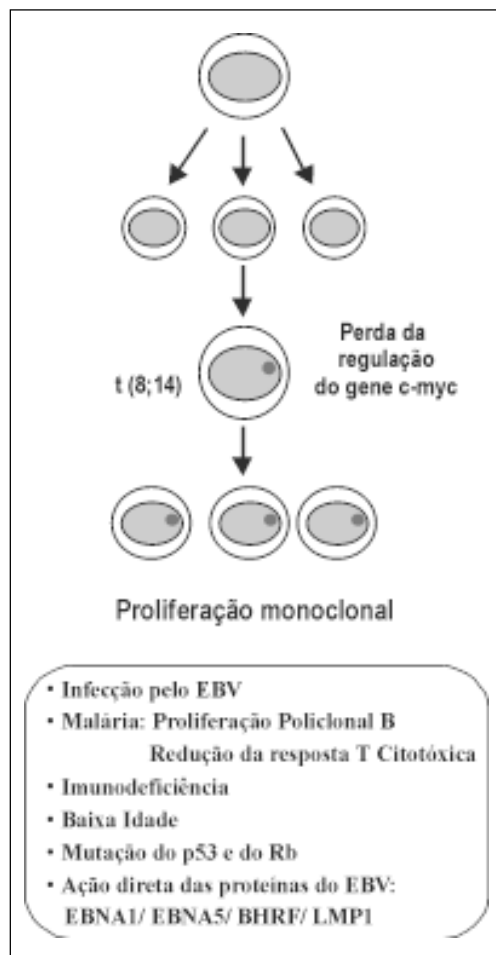


Figura 6. Eventos na patogênese do linfoma de Burkitt.

CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

Algumas considerações podem ser feitas com base no extenso número de estudos na área da genética molecular dos linfomas. É provável que a heterogeneidade dentro de um mesmo tipo de linfoma esteja relacionada a diversidade das alterações moleculares. Adicionalmente, existe a possibilidade de que esses estudos possam ser utilizados na terapêutica direcionada para correção de uma lesão genética específica.

Uma recente tecnologia com desenvolvimento de um *chip* de cDNA para identificação da expressão de genes foi utilizada para estudar os genes expressos em

linfomas de células B.⁴⁵ A validação dessas e outras tecnologias na identificação de novos marcadores tumorais permitirá um estudo abrangente dos tumores e representa um potente alvo terapêutico.

Nos últimos anos, o grande avanço na compreensão da patogênese dos linfomas tem permitido uma melhor definição diagnóstica e classificação dessas neoplasias. Espera-se que este conhecimento possa, no futuro, apontar para estratégias de profilaxia e intervenções terapêuticas mais eficazes visando a redução da incidência e morbidade dos linfomas, especialmente na infância.

AGRADECIMENTOS

A Geraldo Barroso Cavalcanti Jr. pelo auxílio nas ilustrações e as Dras Raquel C. Maia e Vivian M. Rumjanek pela revisão do texto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Tsongalis GJ, Coleman WB. Molecular Oncology: diagnostic and prognostic assessment of human cancers in the clinical laboratory. *Cancer Invest* 1998;16:485-502.
2. Griesser H, Mak TW. Ontogeny, distribution and functions of T-lymphocytes. In: Magrath IT, eds. *The non-Hodgkin's lymphomas*. London: Arnold, 1997:191-3.
3. Pals ST, Koopman G. Ontogeny and functions of B-lymphocytes. In: Magrath IT, eds. *The non-Hodgkin's lymphomas*. London: Arnold, 1997:213-8.
4. Magrath I. Molecular basis of lymphomagenesis. *Cancer Res* 1992;52:5529s-40s.
5. Devesa S. Non-Hodgkin's lymphoma time trends: United States and international date. *Cancer Res* 1992;52:5432s-40s.
6. Sandlung JT, Downing JR, Crist WM. Non-Hodgkin's lymphoma in childhood. *N Engl J Med* 1996;334:1238-48.
7. Non-Hodgkin's Lymphoma Pathologic Classification Project. National Cancer Institute sponsored study of classifications of non-Hodgkin's lymphomas. Summary and description of a working formulation of clinical usage. *Cancer* 1982;49:2121-35.
8. Harris NL, Jaffe ES, Stein H, et al. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Group. *Blood* 1994;8:1361-92.

9. Harris NL, Jaffe ES, Diebold J, et al. The World Health Organization classification of neoplastic diseases of the haematopoietic and lymphoid tissues: report of the Clinical Advisory Committee Meeting, Airlie House, Virginia, November 1997. *Histopathology* 2000;36:69-87.
10. Hutchison RE, Murphy SB, Fairclough DL, et al. Diffuse small noncleaved cell lymphoma in children, Burkitt's versus non-Burkitt's types. *Cancer* 1989;64:23-7.
11. Hutchison RE, Finch C, Kepner J, et al. Burkitt lymphoma is immunophenotypically different from Burkitt like lymphoma in young persons. *Ann Oncol* 2000;11:35-8.
12. Spina D, Leoncini L, Megha T, et al. Cellular kinetic and phenotypic heterogeneity in and among Burkitt's and Burkitt-like lymphomas. *J Pathol* 1997;182:145-50.
13. Levine PH, Blattner W. The epidemiology of human virus-associated hematologic malignancies. *Leukemia* 1992;6:54s-9s.
14. Levine PH, Kamaraju LS, Connelly RR, et al. The American Burkitt's Lymphoma Registry. *Cancer* 1982;49:1016-22.
15. Sandlung JT, Fonseca T, Leiming, et al. Predominance and characteristics of Burkitt lymphoma among children with non-Hodgkin lymphoma in northeastern Brazil. *Leukemia* 1997;11:743-47.
16. Araújo I, Foss HD, Stein H, et al. Expression of Epstein-Barr virus gene products in Burkitt's lymphoma in Northeast Brazil. *Blood* 1996;87:5279-86.
17. Magrath IT. Clinical features and management of NLHs. In: Magrath IT, eds. *The non-Hodgkin's lymphomas*. London: Arnold, 1997:778-810.
18. Klumb CE, Carriço KM, Maia RC, et al. Non-lymphoblastic lymphoma in children: clinical characteristics and results of treatment at Brazilian National Cancer Institute. *Proceedings of the 17th International Cancer Congress*, 1998.
19. Bacchi MM, Bacchi CE, Alvarenga M, et al. Burkitt's lymphoma in Brazil: strong association with Epstein-Barr virus. *Mod Pathol* 1996;9:63-7.
20. Gutiérrez MI, Hamdy N, Bhatia K, et al. Geographic variation in t(8;14) chromosomal breakpoint locations and EBV association in Burkitt's lymphoma. *J Ped Hematol/Oncol* 1999;6:161-8.
21. Heim S, Mitelman F. Malignant lymphomas. In: Heim S, Mitelman F, eds. *Cancer Cytogenetics*. New York: Wiley-Liss, 1995:266-309.
22. Willis TG, Dyer MJS. The role of immunoglobulin translocations in the pathogenesis of B-cell malignancies. *Blood* 2000;96:808-22.
23. Pelicci PG, Knowles DK, Magrath I. Chromosomal breakpoints and structural alterations of the c-myc locus differ in endemic and sporadic forms of Burkitt lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986;83:2984.
24. Bathia K, Splanger G, Hamdy N, et al. Mutations in the coding region of c-myc occur independently of mutations in the regulatory regions and are predominantly associated with myc/Ig translocation. *Curr Top Microbiol Immunol* 1995;194:389-98.
25. Cory S, Vaux DL, Strasser A, Harris AW, Adams JM. Insights from Bcl-2 and c-myc: malignancy involves abrogation of apoptosis as well as sustained proliferation. *Cancer Res* 1999;59:1685s-92s.
26. Lemaître JM, Buckle RS, Méchali M. c-Myc in the control of cell proliferation and embryonic development. *Adv Cancer Res* 1996;70:95-143.
27. Cinti C, Leoncini L, Nyongo A, et al. Genetic alterations of the retinoblastoma-related gene RB2/p130 identify different pathogenetic mechanisms in and among Burkitt's lymphoma subtypes. *Am J Pathol* 2000;156:751-60.
28. Fritsche M, Haessler C, Brandner G. Induction of nuclear accumulation of the tumor suppressor protein p53 by DNA-damaging agents. *Oncogene* 1993;8:307-18.
29. Lane DP. p53, guardian of genome. *Nature* 1992;358:15-6.
30. Hoppe-Seyler F, Butz K. Molecular mechanisms of virus induced carcinogenesis: the interaction of viral factors with cellular tumor suppressor proteins. *J Mol Med* 1995; 73:529-38.
31. Gaidano G, Ballerini P, Gong JZ, et al. P53 Mutations in human lymphoid malignancies: association with Burkitt's lymphoma and lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:5413-17.
32. Bhatia KG, Gutiérrez MI, Huppi K, Siwarski D, Magrath IT. The pattern of p53 mutations in Burkitt's lymphoma differs from that of solid tumors. *Cancer Res* 1992;52:4273-6.
33. Cherney BW, Bhatia KG, Sgadari C, et al. Role of p53 tumor suppressor gene in the tumorigenicity of Burkitt's lymphoma cells. *Cancer Res* 1997;57:2508-15.
34. Gutiérrez MI, Bhatia KG, Cherney B, Capello D, Gaidano G, Magrath IT. Intracloonal molecular heterogeneity suggest a hierarchy of pathogenetic events in Burkitt's lymphoma. *Ann Oncol* 1997;8:987-94.

35. Fan S, El-Deiry WS, Bae I, et al. p53 mutations are association with decreased sensitivity of human lymphoma cells to DNA damaging agents. *Cancer Res* 1994;54:5824-30.
36. Blandino G, Levine AJ, Oren M. Mutant p53 gain of function: differential effects of different p53 mutants on resistance of cultured cells to chemotherapy. *Oncogene* 1999;18:477-85.
37. Baumforth KRN, Young LS, Flavell KJ, Constandinou C, Murray PG. The Epstein - Barr virus and its association with human cancers. *J Clin Pathol* 1999;52:307-22.
38. Lyons SF, Liebowitz DN. The role of human viruses in the pathogenesis of lymphoma. *Semin Oncol* 1998;25:461-75.
39. Manet E, Yes-Bourillot P, Waltzer L, Sergeant A. EBV genes and B cell proliferation. *Crit Rev Oncol Hematol* 1998;28:129-37.
40. Cohen JJ. Epstein - Barr virus infection. *N Eng J Med* 2000;343:481-91.
41. Wilson JB, Bell JL, Levine AJ. Expression of Epstein - Barr virus nuclear antigen-1 induces B cell neoplasia in transgenic mice. *EMBO J* 1996;15:3117-26.
42. Liebowitz D. Epstein - Barr vírus and cellular signaling pathway in lymphomas from immunosuppressed patients. *N Eng J Med* 1998;338:1413-21.
43. Henderson S, Huen D, Rowe M, Dawson C, Johnson G, Rickinson A. Epstein - Barr virus-coded BHRF1 protein, a viral homologue of Bcl-2 protects human B-cells from programmed cell death. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:8479-83.
44. Szekely L, Selivanova G, Magnusson KP, Klein G, Wiman KG. EBNA-5, an Epstein - Barr virus-encoded nuclear antigen, binds to the retinoblastoma and p53 proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:5455-9.
45. Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature* 2000;403:503-11.

GLOSSÁRIO

Proto-oncogenes - São a contrapartida normal dos oncogenes virais e contribuem para transformação neoplásica por alteração da sua função normal. A maioria dos proto-oncogenes estão envolvidos em processos celulares tais como regulação da transcrição de DNA, tradução de sinais de crescimento ou proliferação celular.

Transcrição - É o processo de gerar uma molécula de RNA a partir de uma fita dupla de DNA de um gene. A regulação da expressão gênica é predominantemente no nível de regulação da iniciação e alongação da transcrição. A enzima RNA polimerase é o componente chave desse processo. Existem regiões fixas de início e final da transcrição.

Fatores de transcrição - Proteínas específicas que se ligam a regiões de controle dos genes. Diversas famílias têm sido identificadas de acordo com sua conformação

tridimensional. Cada proteína possui domínios distintos de ativação e ligação em regiões do DNA.

Promotor - É uma região no gene onde após a ligação da enzima RNA polimerase é iniciada transcrição.

Enhancer - É um segmento de DNA acima, dentro ou abaixo do gene estrutural que ativa a transcrição desse gene quando ligado a proteínas específicas que também interagem com a RNA polimerase.

Splicing - O RNA transcrito primariamente contém algumas seqüências que não são parte do RNA mensageiro maduro e são chamadas de introns. Estas seqüências são removidas do transcrito primário do RNA por um processo chamado de splicing.

Exons - São regiões da fita de RNA transcrita primariamente que, em seguida ao splicing, formam o RNA mensageiro maduro

que codificará a seqüência específica de aminoácidos de uma proteína.

Introns - Regiões do RNA eliminadas durante o splicing. A função precisa dessas seqüências é desconhecida.

Animais transgênicos - São produzidos pela introdução de um gene intacto ou manipulado em um camundongo. Desta forma é possível estudar *in vivo* a função de um gene. Os métodos de produção de um camundongo transgênico são baseados na microinjeção de um DNA linear no núcleo de um óvulo fertilizado.

Codon - São três sucessivos nucleotídeos em um RNA mensageiro que codificam um específico aminoácido na seqüência polipeptídica. Sessenta e um codons codificam 20 aminoácidos e três são codons de sinalização do término da síntese polipeptídica.

Codon de iniciação - São 3 nucleotídeos onde a síntese da cadeia polipeptídica é iniciada. Em geral é o primeiro codon ATG, localizado 30 nucleotídeos abaixo do sítio de início da transcrição.

Poliadenilação - Em seguida à transcrição de um gene, um sinal específico próximo ao

final 3' do transcrito primário de RNA sinaliza que uma cauda de nucleotídeos adenina (A) deve ser adicionada. A precisa função da cauda poly A é incerta mas, parece estar relacionada à estabilidade do RNA mensageiro.

Rb - É o protótipo do gene supressor de tumor e age de forma recessiva. A eliminação ou inativação de ambas os alelos é necessária para manifestação do fenótipo tumoral. Recebeu este nome por ter sido inicialmente descrito em crianças com retinoblastoma. Estas crianças apresentam uma única cópia funcional do gene, posteriormente, ocorre inativação do alelo funcional por mutação, resultando em suscetibilidade para desenvolvimento de tumor.

Bcl-6 - Este gene é um fator de transcrição relacionado à diferenciação linfóide. A proteína Bcl-6 é expressa em células linfóides centro foliculares normais e representa um marcador histogênico de trânsito das células B pelo centro germinativo.

cDNA - É uma cópia complementar de DNA produzida por tecnologia de DNA recombinante. Em geral o c-DNA representa um RNA mensageiro de um gene de interesse.

