



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
FACULDADE DE MEDICINA  
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL  
MESTRADO EM PATOLOGIA

NADJANE BARBOSA DE AMORIM MIRANDA

EXPRESSÃO DE p53 E RECEPTOR DE ESTROGÊNIO EM  
LINFOMA DE HODGKIN

FORTALEZA  
2007

## FICHA CATALOGRÁFICA

M672 e      Miranda, Nadjane Barbosa de Amorim  
                 Expressão de p53 e receptor de estrogênio em  
                 linfoma de Hodgkin./ Nadjane Barbosa de Amorim  
                 Miranda. Fortaleza. 2007  
                 68f.

                 Orientador: Prof. Dr. Francisco Dario Rocha Filho  
                 Dissertação (Mestrado) Universidade Federal do  
                 Ceará. Faculdade de Medicina. Departamento de  
                 Patologia e Medicina Legal.

                 1.Doença de Hodgkin. 2. Proteína p53. 3. Recepto-  
                 res estrogênicos. I. Título.

                 CDD 616.994 46

NADJANE BARBOSA DE AMORIM MIRANDA

**EXPRESSÃO DE p53 E RECEPTOR DE ESTROGÊNIO  
EM LINFOMA DE HODGKIN**

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Patologia do Departamento de Medicina Legal da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Patologia.

Orientador: Prof. Dr. Francisco Dario Rocha Filho

FORTALEZA  
2007

NADJANE BARBOSA DE AMORIM MIRANDA

## **EXPRESSÃO DE p53 E RECEPTOR DE ESTROGÊNIO EM LINFOMA DE HODGKIN**

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Patologia do Departamento de Medicina Legal da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Patologia.

Aprovada em: 11/10/2007

### BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Francisco Dario Rocha Filho (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará

---

Profa. Dra. Iguaracyra Barreto de Oliveira Araújo  
Universidade Federal da Bahia

---

Prof. Dr. Ronald Feitosa Pinheiro  
Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará

---

Prof. Dr. Francisco Valdeci de Almeida Ferreira  
Universidade Federal do Ceará

*Aos nossos pacientes,  
que esperam de nós a resposta.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, nosso Pai, que com misericórdia e paciência espera todos os dias que façamos o que é certo e nos renova sempre as oportunidades.

Ao Prof. Francisco Valdeci de Almeida Ferreira, médico e professor incansável, de uma energia e dedicação que nos estimula ao aprendizado e nos dá o exemplo de trabalho digno. Pelo seu trabalho à frente do Serviço de Patologia do Hospital do Câncer do Ceará e toda a sua contribuição ao que é hoje a Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, impossíveis de resumir neste parágrafo. Muito obrigada.

Ao Prof. Francisco Dario Rocha Filho, meu orientador, generoso ao compartilhar seus conhecimentos e paciente com as minhas dificuldades, humildemente agradeço.

À minha mãe amada, Enedilze, pelo exemplo de caráter, dedicação, amor e firmeza que demonstrou na criação dos seus filhos, transmitindo-nos valores que a escola não poderia nos dar.

Ao meu amado esposo, Siderval, companheiro de cada letra digitada, cada desafio superado e cada alegria que encontrei nessa jornada.

Às minhas filhas, Camila, Carolina e Marina, bênçãos de Deus na minha vida, responsáveis por incontáveis momentos de alegria, de quem roubei horas preciosas, investidas nesse trabalho.

Aos meus irmãos, Selenita, Cláudio, Adalberto e Elisa, pelo amor e paciência comigo.

Aos colegas do Hospital do Câncer do Ceará, em especial Andréa, Franklin, Adriana e Ana Paula, pelo apoio em todas as vezes em que encontrei dificuldades.

Aos funcionários do Serviço de Patologia do Hospital do Câncer do Ceará, pela competência e disponibilidade em contribuir com nosso aprendizado.

A Paula, secretária do Mestrado, pela dedicação dispensada a nós mestrandos.

Aos colegas do Mestrado, pela alegria de caminharmos juntos.

“Pela fê entendemos que os mundos pela Palavra de Deus foram criados; de maneira que aquilo que se vê não foi feito do que é aparente.”

Hebreus, 11:3



## RESUMO

O linfoma de Hodgkin é uma neoplasia com elevados índices de sobrevida global e sobrevida livre de doença e seu comportamento e bases moleculares têm sido estudadas. Sabe-se que a p53 é uma proteína que controla a progressão do ciclo celular e mutações do gene TP53 prolongam a meia-vida da proteína alterando os mecanismos de apoptose e o controle da proliferação celular. Cerca de 50% dos tumores humanos têm mutações no TP53 e acredita-se que nos outros restantes a via de sinalização da p53 esteja comprometida por outros mecanismos. No linfoma de Hodgkin tem sido encontrada expressão de p53 e a detecção de gene TP53 mutado é rara. Ainda não está definido se a p53 serve como marcador prognóstico no linfoma de Hodgkin. Não há estudos sobre a expressão de p53 em linfoma de Hodgkin na população do estado do Ceará. Os receptores de estrogênio (RE) já foram detectados por imuno-histoquímica em células de medula óssea normal, além de outros tecidos não hematopoiéticos. Há evidência de que os estrogênios têm um papel na diferenciação dos linfócitos B e regulação da apoptose. Sendo o linfoma de Hodgkin uma neoplasia de origem na célula B, onde a resposta imune parece contribuir na sua patogenia, torna-se de particular interesse avaliar o papel do estrogênio nesse processo. Ainda não sabemos qual a expressão de receptores de estrogênio nos linfomas e qual sua influência no comportamento dessa neoplasia. Neste trabalho estudamos a expressão de p53 e receptor de estrogênio em linfoma de Hodgkin no Ceará. Foram estudados 39 casos de linfoma de Hodgkin confirmado por exame histo-patológico e por imuno-histoquímica e um grupo controle de 10 casos de linfonodos com hiperplasia reativa, não relacionada a linfoma. Foi feito estudo imuno-histoquímico com marcadores para p53 e RE $\alpha$ . A idade dos pacientes variou entre 5 e 63 anos, 21% foram do sexo masculino, a apresentação inicial da doença foi em linfonodo cervical em 59% dos casos e 56% dos indivíduos apresentavam sintomas B. Quanto ao subtipo histológico, 56% dos casos eram de linfoma de Hodgkin(LH) clássico esclerose nodular, 27% celularidade mista, 14% rico em linfócitos e 3% eram LH predominância linfocitária. Não houve casos de depleção linfocitária na amostra estudada. A p53 foi positiva em 53% dos casos e no grupo controle em 10%. O RE foi negativo nos casos de LH, com marcação persistente dos neutrófilos (citoplasma) e marcou em 80% dos casos, em células histiocitárias, com marcação para-nuclear (golgiana) e difusa citoplasmática (fraca). Concluímos que a expressão de p53 ocorre em mais de 50% dos casos de LH, conforme já relatado na literatura e que há expressão de RE $\alpha$  citoplasmática em tecido linfóide, mas não no LH. Há expressiva marcação no citoplasma dos neutrófilos. Outros estudos são necessários para avaliar a expressão do RE $\beta$  e seu papel na patogênese do LH.

**Palavras-chave:** Linfoma de Hodgkin, p53, receptor de estrogênio.

## ABSTRACT

Hodgkin's lymphoma is an entity where free disease and overall survival is prolonged by treatment and its molecular basis has been studied. In previous literature is described p53 as a protein that controls progress of cellular cycle and TP 53 gene mutations prolong half-life of protein, modifying the mechanisms of apoptosis and regulation of cellular proliferation. About 50% of human cancers have TP53 mutations and the investigators believe that in the others the signaling mechanisms of p53 are altered by other ways. Hodgkin's lymphoma cells stain for p53 frequently, but detection for TP53 gene mutation is rare. It's not well established if p53 is a prognostic factor in Hodgkin's lymphoma. There is no trial about p53 expression on Hodgkin's lymphoma in Ceará state. Estrogen receptor was detected by immunohistochemical analysis in normal bone marrow cells and other non-hematopoietic tissues. There is evidence that estrogen has a role on differentiation of B-cells and on regulation of apoptosis. If Hodgkin's lymphoma (HL) a B-cell neoplasm, with immune response seems to contribute in its pathogenesis, it's interesting to study the role of estrogen on Hodgkin's lymphoma and its influence on this neoplasm behavior. We studied p53 and estrogen receptor expression in Hodgkin's lymphoma on Ceará state. Were studied 39 cases of Hodgkin's lymphoma confirmed by histopathological studies and by immunohistochemical analysis and a control group with 10 cases of benign lymphoid hyperplasia. The samples were stained with p53 and estrogen receptor (ER)  $\alpha$  anti-bodies. The age of patients varied between 5 and 63 years, 21% were males, the initial presentation of disease was cervical adenopathy on 59% of cases and B symptoms were present on 56% of patients. On classification by histological subtypes, 56% were classical HL nodular sclerosis, 27% mixed cellularity, 14% lymphocyte-rich and 3% were HL lymphocyte predominance. In this sample, lymphocyte-depleted subtype was not found. Positive staining for p53 occurred on 53% of cases and 10% of control group. Estrogen receptor was negative in all cases of Hodgkin's lymphoma, but showed positive staining in neutrophilic cells. In control group was founded ER positivity in 80% of cases, in histiocytic cells, with para-nuclear staining and cytoplasmic diffuse. In conclusion, p53 expression occurs in more than 50% of Hodgkin's lymphoma cases, as described previously, and there is expression of ER $\alpha$  in lymphoid tissue, but not on HL. There is persistent positivity in neutrophil cytoplasm. Another investigations are necessary to evaluate ER $\alpha$  and ER $\beta$  on RS cells and their role on the pathogenesis of Hodgkin's lymphoma.

**Key-words: Hodgkin's lymphoma, p53, estrogen receptor.**

## LISTA DE GRÁFICOS

1. Classificação por faixa etária .....	43
2. Estadiamento .....	44
3. Distribuição dos casos por classificação do linfoma de Hodgkin .....	44
4. Distribuição dos casos quanto à intensidade de marcação de p53 .....	48

## **LISTA DE TABELAS**

1. Estadiamento do linfoma de Hodgkin .....	28
2. Expressão de p53 e RE na amostra e no grupo controle .....	46
3. Positividade dos marcadores por subtipo histológico .....	48

## LISTA DE FIGURAS

1. Linfoma de Hodgkin clássico .....	22
2. Expressão de p53 em um caso de linfoma de Hodgkin clássico .....	45
3. Expressão de RE em linfonodo reativo .....	46
4. Expressão de RE em linfonodo reativo. Detalhe da marcação difusa nos histiócitos e algumas células com marcação para-nuclear .....	47

# SUMÁRIO

	<b>Pág.</b>	
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>14</b>
1.1	Justificativa do trabalho.....	14
1.2	Linfoma de Hodgkin: revisão bibliográfica.....	15
1.2.1	Histórico.....	15
1.2.2	Epidemiologia.....	17
1.2.3	Etiologia.....	19
1.2.4	Aspectos histológicos.....	22
1.2.5	Marcadores teciduais.....	24
1.2.6	Classificação do Linfoma de Hodgkin.....	25
1.2.7	Quadro clínico.....	26
1.2.8	Estadiamento.....	27
1.3	A Proteína p53.....	28
1.4	O sistema imunológico e os hormônios esteróides.....	34
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>39</b>
2.1	Objetivo geral.....	39
2.2	Objetivos específicos.....	39
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>40</b>
3.1	Estudo morfológico.....	40
3.2	Estudo Imuno-histoquímico.....	41
<b>4</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>43</b>
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>49</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>58</b>
	<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>59</b>
	<b>ANEXOS.....</b>	<b>66</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Justificativa do trabalho

O linfoma de Hodgkin é uma neoplasia com elevados índices de sobrevida global e sobrevida livre de doença e seu comportamento e bases moleculares têm sido estudados, para que sejam estabelecidos critérios de intensidade de tratamento e estratificar os pacientes em risco de recaída ou de complicações tardias. Muitos estudos estão voltados para os mecanismos de controle de proliferação celular e apoptose, na tentativa de entender as vias de sinalização e quais os fatores que podem interferir nesses processos e desencadear a expansão clonal e a formação de neoplasias malignas. A característica histo-patológica que torna o linfoma de Hodgkin uma entidade peculiar é o fato de que as células tumorais chamadas de células de Reed-Sternberg compõem menos de 1% do total das lesões, sendo estas circundadas por um substrato celular de natureza inflamatória e não neoplásica.

Sabe-se que a p53 é uma proteína que controla a progressão do ciclo celular e o gene TP53 encontra-se mutado em pelo menos 50% das neoplasias. Mutações no TP53 estão associadas na maioria dos casos com doença avançada ou resistência à terapia. Nos linfomas não-Hodgkin, a expressão de p53 na imuno-histoquímica está associada a mau prognóstico, principalmente nas formas agressivas e estágios avançados da doença. No linfoma de Hodgkin, as mutações de TP53 são raras e a expressão da p53 na imuno-histoquímica é frequente, mas o significado prognóstico desses achados ainda não foi estabelecido. Há poucos estudos nacionais sobre a expressão de p53 em linfoma de Hodgkin e essa avaliação ainda não foi feita no estado do Ceará.

Os hormônios esteróides regulam uma variedade de processos biológicos, incluindo o desenvolvimento do sistema imunológico. Já foram identificados receptores de estrogênio em células do tecido linfóide e vários outros tecidos não-hematológicos. Existem estudos mostrando o efeito anti-apoptose do estrogênio sobre os linfócitos B do sangue periférico e outros mostrando aumento da expressão de Bcl-2 em células esplênicas. Após os estudos iniciais sobre o papel dos receptores de estrogênio no câncer de mama e do trato genital, muitos trabalhos estão sendo realizados para avaliar a presença de receptores de estrogênio em outras neoplasias, como carcinoma urotelial e adenocarcinoma de cólon, onde o estrogênio parece ser um fator protetor. Estão em andamento estudos sobre risco de linfoma e leucemia associado ao uso de estrogênios. É frequente o questionamento por parte de mulheres em tratamento para linfoma sobre os riscos do uso de contraceptivos e reposição hormonal com estrogênios.

Sendo o linfoma de Hodgkin uma neoplasia de origem B, estando a célula de Reed-Sternberg cercada de células inflamatórias e moduladoras de resposta imune, faz-se necessário avaliar a expressão de receptores de estrogênio no linfoma de Hodgkin e qual o papel do estrogênio em sua patogenia ainda pouco elucidada.

## 1.2 Linfoma de Hodgkin: revisão bibliográfica

### 1.2.1 Histórico

O linfoma de Hodgkin foi a primeira neoplasia hematopoética descrita e precedeu a descrição dos outros linfomas em mais de sessenta anos, sendo também a primeira neoplasia onde se demonstrou o potencial curativo da quimioterapia.



Em 1832, numa época em que não havia microscópios e que as doenças infecciosas que causavam adenopatias eram freqüentes, Thomas Hodgkin descreveu uma doença que afetava os linfonodos e o baço, num trabalho intitulado “On Some Morbid Appearances of the Absorbent Glands and Spleen”, onde descrevia achados macroscópicos de necropsia de sete casos. Suas observações ficaram esquecidas por cerca de trinta anos, até que Robert Wilks descreveu os mesmos achados, chamando a nova entidade de doença de Hodgkin (De VITA, 1999) . Mais tarde revisados esses casos, três deles foram confirmados como linfoma de Hodgkin e os outros foram classificados como linfomas não-Hodgkin ou tuberculose.

A primeira descrição microscópica do linfoma de Hodgkin foi feita em 1872, por Langhans. As células gigantes que caracterizam a doença foram descritas independentemente por Sternberg em 1898 e Dorothy Reed em 1902, que então foram denominadas de células de Reed-Sternberg(RS) . Entretanto, durante quase mais um século, a linhagem de origem dessas células permaneceria obscura.

Ainda em 1902, a radioterapia foi usada pela primeira vez para tratar o linfoma de Hodgkin, por Pusey. A poliquimioterapia iniciada por De Vita em 1963 levou os índices de remissão completa da doença de 20% para 80%, muitos desses casos evoluindo para cura.

Atualmente, mais de 90% dos pacientes com diagnóstico de linfoma de Hodgkin em estágio inicial são curados, onde a quimio e a radioterapia combinadas constituem uma modalidade terapêutica efetiva (JOSTING et al, 2000). Sendo o linfoma de Hodgkin uma das neoplasias com melhores índices de cura e sobrevida, os médicos e pesquisadores discutem estratégias para redução de complicações tardias do tratamento quimio e radioterápico e melhora da qualidade de vida dos sobreviventes (YUNG, 2003). Paradoxalmente, ainda se multiplicam os

debates acerca da etiologia e da própria natureza da doença, hoje perseguidos em estudos moleculares.

O reconhecimento de que a célula RS é um linfócito B do centro germinativo do gânglio linfático levou ao conceito de que a doença de Hodgkin é um linfoma de células B (MARAFIOTI, 2000). Na classificação da Organização Mundial de Saúde mudou-se a designação de “doença de Hodgkin” para “linfoma de Hodgkin”. Numa reunião do Comitê de Aconselhamento Clínico, porém, a maioria dos clínicos expressou a opinião de que as características clínicas e terapêuticas tão particulares da doença em questão justificam a manutenção do termo “doença de Hodgkin”. Ambas as formas então permanecem em uso, mas há uma tendência a favor do termo “linfoma de Hodgkin” (SPECTOR, 2004).

### **1.2.2 Epidemiologia**

A incidência do linfoma de Hodgkin representa 12% do total de casos de linfomas e 0,6% do total de novos casos de câncer. A taxa de incidência vem caindo aproximadamente 1% ao ano e a taxa de mortalidade vem decrescendo 3,6% ao ano (De VITA, 1999).

No Brasil foram diagnosticados 499 casos de linfoma de Hodgkin no ano de 2000, com predominância de 1,3:1 para o sexo masculino. Quanto ao subtipo, 83 casos foram classificados como esclerose nodular, 35 como celularidade mista, 08 foram do tipo rico em linfócitos, 04 do tipo depleção linfocitária, 02 como outras formas de linfoma de Hodgkin e 367 foram classificados como de subtipo não especificado (INCA, 2000), o que ainda reflete as dificuldades de diagnóstico em nosso meio.

Os fatores de risco para desenvolvimento da doença e suas características patológicas diferem por grupo etário. Nos países desenvolvidos, onde as crianças têm melhores condições sócio-econômicas, o linfoma de Hodgkin é mais frequente em adultos jovens, enquanto que nos países em desenvolvimento há um pico de incidência na infância, o que sugere exposição a um agente infeccioso comum (JARRET, 2002).

A doença tem uma característica distribuição bimodal quanto à idade, o que já havia sido descrito por MacMahon em 1966. Nos países industrializados, o pico inicial ocorre por volta dos 20 anos e o segundo pico após os 50 anos (De VITA, 1999), predominando os casos de esclerose nodular (JARRET, 2002). Nos países em desenvolvimento como o Brasil, ocorre um pico inicial antes da adolescência e outro pico em idosos.

No Ceará, o pico inicial foi registrado em torno dos 10 anos. Havia predominância das formas celularidade mista e depleção linfocitária, esta última mais comum na sétima década de vida (FERREIRA et al, 1977). Num segundo estudo, foram avaliados 194 casos no Ceará, onde se manteve maior frequência do padrão celularidade mista (48,1%), mostrando um aumento na frequência dos casos de esclerose nodular (21,7%) e depleção linfocitária (20,2%), sendo mais frequentes os casos de celularidade mista em crianças e adultos jovens (PITOMBEIRA et al, 1982). Em um estudo de 1025 casos no estado de São Paulo, VASSALLO e cols. (2005) encontraram 31,5% dos casos de LH em crianças e adultos jovens, enquanto num estudo americano com 35.000 pacientes a proporção de indivíduos nessa faixa etária foi de 13% (KENNEDY et al, 1998). No estudo de VASSALLO (2005) a frequência de subtipos de LH foi semelhante àquela encontrada em países desenvolvidos, predominando a esclerose nodular (69,3%).

Num estudo feito por GIESTA em 2006 no Ceará, foram avaliados 97 pacientes com diagnóstico de LH, sendo encontrado apenas um pico de incidência (10 a 39 anos), sendo o tipo histológico mais comum a esclerose nodular (67%), seguido do tipo celularidade mista (21,6%), o que mostra uma modificação no perfil epidemiológico da doença no Ceará, aproximando-se do que é encontrado nos países desenvolvidos.

### **1.2.3 Etiologia**

A etiologia do linfoma de Hodgkin (LH) permanece desconhecida e pensou-se tratar de doença infecciosa, até pelo quadro febril cíclico. Embora a pesquisa por um vírus causador do LH ainda não tenha resultados conclusivos, os dados clínicos e epidemiológicos sugerem causa infecciosa.

O papel do vírus Epstein-Barr (EBV) na patogênese do LH tem sido estudado, e sua relação causal com o LH foi estabelecida. Numa proporção de casos de LH o genoma do EBV está presente nas células de Hodgkin e Reed-Sternberg, além da expressão de produtos do gene do EBV, o que sugere importante papel no processo patogênico da doença. Além disso, a história clínica de mononucleose infecciosa está associada a um risco aumentado de o indivíduo desenvolver linfoma de Hodgkin (JARRET, 2002). A ausência de EBV em tecidos linfóides não envolvidos pelo LH em indivíduos com a doença sugere que a associação EBV-LH não se deve a imunocomprometimento, mas uma complexa interação entre o vírus e seu hospedeiro (AMBINDER et al, 1993). Entretanto, MARAFIOTI (2000), estudando 25 casos de LH esclerose nodular através do isolamento da célula RS e técnicas de PCR, afirmou que a clonalidade das células RS não está relacionada à presença de infecção pelo EBV.

Em 1997, ABREU et al. encontraram 85,29% de positividade para EBV em linfoma de Hodgkin no Ceará, em 34 casos com idade entre 2 e 17 anos, principalmente no subtipo celularidade mista (100% dos casos). A expressão de LMP-1 ocorreu em 79,41% dos casos, EBER (hibridização in situ) foi positivo em 82,35%. Também foi encontrada frequência elevada de positividade para EBV em 90 casos de linfoma de Hodgkin em crianças em Salvador – BA, principalmente nos subtipos celularidade mista e depleção linfocitária (ARAÚJO, 2006).

Um outro estudo brasileiro mostrou positividade para EBV de 64,1% dos casos de linfoma de Hodgkin, sendo mais frequente no subtipo celularidade mista (VASSALLO, 2001).

Alguns autores sugerem que o linfoma de Hodgkin seja subdividido em três modelos de doença: o primeiro, como doença da infância, geralmente associada ao EBV e mais frequentemente do subtipo celularidade mista; o segundo modelo também associado ao EBV e subtipo celularidade mista, ocorrendo em idosos; o terceiro modelo, não associado ao EBV, mais comum em adultos jovens e usualmente do subtipo esclerose nodular (JARRET, 2003).

Nos países em desenvolvimento, a frequência de LH associado ao EBV é quase duas vezes maior que nos países desenvolvidos (JARRET, 2003).

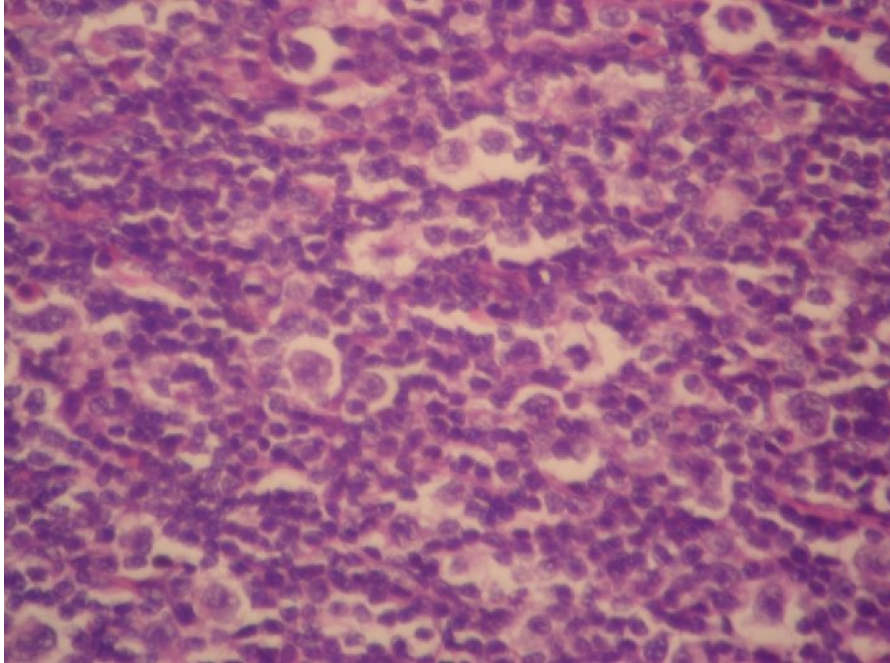
Existem ainda os casos de LH não associados ao EBV, os quais mostram uma distribuição de faixa etária unimodal, com pico de incidência em adultos jovens. Estudos moleculares são necessários para entendermos a biologia desse grupo de casos (JARRET, 2002). Em 1994, CHILOSI et al encontraram expressão de LMP-1 ou de EBER-1 em apenas 12 de 72 casos de linfoma de Hodgkin.

A ampla distribuição de casos assintomáticos de infecção pelo EBV na população adulta normal sugere que a etiologia viral não é a única implicada no linfoma de Hodgkin (STARATSCHEK-JOX et al, 2002).

O desenvolvimento de linfoma de Hodgkin é afetado pela hiperestimulação da imunidade e pela imunossupressão. Existe um risco seis vezes maior de LH em indivíduos submetidos a transplante alogênico de medula óssea (BARIS, 2000). Pacientes imunossuprimidos em geral e pacientes infectados pelo HIV têm um risco aumentado de desenvolver linfoma de Hodgkin (DIEHL, et al, 1995).

Parece haver um componente genético, indicado pela ocorrência de agregação familiar e de uma incidência duas a três vezes, maior em judeus americanos e ingleses. A incidência em irmãos gêmeos monozigóticos é muito maior do que em gêmeos dizigóticos (MACK et al, 1995; MAGGIO et al, 2002). A resposta imune aos agentes infecciosos pode ser influenciada pela variação genética na região do HLA classe II, com alguns loci aumentando a susceptibilidade e outros aumentando a resistência ao linfoma de Hodgkin (BARIS, 2000). Entretanto, em vista da baixa incidência da doença de Hodgkin, a avaliação do componente genético ainda merece estudos.

#### 1.2.4 Aspectos histológicos



**Figura 1:** Linfoma de Hodgkin clássico. (Arquivo pessoal)

O diagnóstico do linfoma de Hodgkin é histo-patológico, complementado pela imunohistoquímica.

O linfoma de Hodgkin (LH) clássico é uma neoplasia linfo-proliferativa caracterizada pela presença de células malignas denominadas Reed-Sternberg (RS) ou de suas variantes, uma população clonal de linhagem B, que é responsável por menos de 1% da massa tumoral. As demais células são elementos reativos, como linfócitos, células plasmáticas, eosinófilos, histiócitos e fibroblastos, ou seja, um substrato celular de aspecto inflamatório, o que levou, por muito tempo a vários questionamentos acerca da natureza inflamatória e não neoplásica da doença (MacMAHON, 1966).

Pode ocorrer eosinofilia proeminente na lesão tumoral, que pode se dever a dois fatores principais: aumento da migração de eosinófilos devido a fatores quimiotáticos locais e clearance reduzido de eosinófilos no tecido tumoral, ou seja, redução da apoptose. A eosinofilia é um fator de mau prognóstico no subtipo esclerose nodular (ENBLAD et al, 1993; VON WASIELEWSKI et al, 2000).

As células diagnósticas de RS são células grandes, com núcleos polilobados ou multinucleados. Cada lobo ou núcleo apresenta um nucléolo proeminente e eosinofílico. A cromatina destes núcleos é geralmente vesicular, com uma zona mais clara circundando o nucléolo. O formato do núcleo geralmente é arredondado, mas pode haver indentações. Podem ser encontradas figuras de mitose e de apoptose. O citoplasma é geralmente abundante e eosinofílico ou anfofílico. A célula RS é conhecida como “olho de coruja”.

As células RS variantes são mononucleares, muitas vezes chamadas de células de Hodgkin, apresentando as mesmas características das células RS clássicas, exceto que o núcleo não é polilobado e é único. As células lacunares apresentam o núcleo com pequenas lobulações, os nucléolos menos proeminentes e têm citoplasma abundante. Após fixação com formalina ocorre a retração do citoplasma e forma-se um halo claro em torno do núcleo. As células em apoptose também podem ser vistas, sendo chamadas de células mumificadas (SOARES, 2001).

As células RS representam uma expansão clonal de células originadas de uma única célula B do centro germinativo (MARAFIOTI et al, 2000). Elas se caracterizam pela ausência completa ou apenas baixa expressão dos principais genes específicos das células B. O silêncio dos genes pode ser consequência de mutações específicas, ausência de fatores de transcrição ou



silêncio epigenético, sendo este último já descrito em estudo de “probing” de células de LH (USHMOROV et al, 2006).

A relação entre células dendríticas foliculares e células RS tem sido estudada e alguns trabalhos mostram que estas células estão presentes nos tipos predominância linfocítica nodular e esclerose nodular, os quais são considerados de melhor prognóstico (ALMEIDA, 2006).

A células tumorais produzem diversas citocinas que podem ser responsáveis pelos achados clínicos da doença: interleucina-1, interleucina-2, fator de necrose tumoral  $\alpha$  (caquexina) e  $\beta$ , fator estimulador de granulócitos e macrófagos, interleucina-5, interleucina-6, interleucina-7 e interleucina-13. Também tem sido demonstrada expressão de interleucina-10 nas células RS, considerado um marcador de ativação celular (HERBST et al, 1996).

### **1.2.5 Marcadores teciduais**

CD15: encontrado primariamente em monócitos e macrófagos, também expresso em granulócitos, linfócitos T, células infectadas pelo citomegalovirus e na maioria das células RS. Não é de uma linhagem específica, tendo uma grande distribuição em tecidos normais humanos e em grande variedade de tumores malignos e benignos. Sua expressão pode ser membranar, para-nuclear, citoplasmática ou uma combinação destes.

CD30: antígeno marcador de ativação, presente em linfócitos B ativados, linfócitos T e monócitos. Sua marcação pode ser membranar, para-nuclear ou ambas. Expressa-se em quase 100% dos casos de linfoma de Hodgkin clássico, sendo que a perda antigênica do material pode

ser a causa da não expressão do antígeno. Pode ser positivo no linfoma não-Hodgkin anaplásico de grandes células.

CD20: é uma fosfoproteína transmembrana não glicosilada com funções de canal de cálcio. Está envolvido na regulação da ativação, proliferação e diferenciação dos linfócitos B. É expresso nos linfócitos pré-B medulares e linfócitos B maduros, não sendo expresso pelos plasmócitos. Apesar de recentes evidências sugerirem que a célula RS é de linhagem B, a maior parte delas não expressa CD20.

### **1.2.6 Classificação do linfoma de Hodgkin**

Atualmente a classificação empregada é a proposta pela Organização Mundial de Saúde (OMS) (JAFFE et al, 2001), que divide o linfoma de Hodgkin em dois grupos principais:

- Predominância linfocitária nodular - a arquitetura do linfonodo é total ou parcialmente substituída por um infiltrado nodular ou nodular e difuso, com a presença de esparsas células neoplásicas grandes, linfocíticas e/ou histiocíticas (RS variantes), as quais são positivas para CD45, CD20, CD79a, Ig de cadeia pesada e leve), negativas para CD15 e geralmente negativas para CD30. A marcação por LMP-1, que indica infecção latente pelo vírus EBV, não é encontrada nas células neoplásicas. Corresponde a cerca de 5% dos casos de LH.
- Linfoma de Hodgkin clássico - subdividido em esclerose nodular tipos I e II, celularidade mista, depleção linfocitária e rico em linfócitos. As células neoplásicas desse grupo são geralmente positivas para CD30 e CD15 e negativas

para marcadores de linhagem B. As células RS e H aparecem em meio a um rico infiltrado inflamatório. No subtipo esclerose nodular, são encontradas também as células lacunares, variantes da célula RS.

### **1.2.7 Quadro Clínico**

A maioria dos pacientes com LH clássico se apresenta com aumento dos linfonodos da região cervical e supraclavicular, às vezes também com acometimento de outras regiões linfonodais. Geralmente, a linfadenopatia é indolor ou levemente dolorosa à palpação ou após ingestão de álcool. O mecanismo da dor associada ao álcool não é conhecido e esse sintoma não tem significado prognóstico. Os pacientes podem também apresentar fadiga e fraqueza. Em mais da metade dos casos, ocorre envolvimento mediastinal. O envolvimento sistêmico é raro no LH. A medula óssea está infiltrada em menos de 5% dos casos (SPECTOR, 2001).

Os sintomas B, como são chamados a ocorrência de febre, sudorese e perda ponderal ocorrem em cerca de 25% dos pacientes e está relacionado a doença avançada e pior prognóstico. A febre é inicialmente baixa, vespertina, podendo até mesmo passar despercebida. Quando a doença não é controlada, a febre pode se tornar alta, persistente e debilitante, podendo ser intermitente (SPECTOR, 2001).

Quando há envolvimento mediastinal, inicialmente este é assintomático e mais frequente no mediastino anterior, gânglios paratraqueais e peri-brônquicos, progredindo para compressão de hilos pulmonares e parede torácica. Os sintomas de lesão expansiva torácica são tosse seca, dispnéia, ortopnéia, dor torácica, rouquidão, pneumonite obstrutiva e síndrome compressiva da veia cava superior (STEIN, 2004).

O baço pode estar acometido em um terço dos pacientes, sendo que 20 a 30% desses têm tamanho normal. O envolvimento da medula óssea ocorre em 3 a 15% dos pacientes.

O envolvimento extra-nodal pelo linfoma de Hodgkin é mais comum em pacientes com infecção pelo HIV. Pode ocorrer na pele, trato gastro-intestinal e sistema nervoso central, onde a compressão medular é a principal forma de envolvimento (rara), necessitando de intervenção terapêutica imediata.

É frequente a ocorrência de anergia cutânea, devido à supressão da imunidade celular. Em consequência disso, podem ocorrer infecções como pelo herpes zoster e bacilo da tuberculose. A imunidade humoral geralmente está preservada.

### **1.2.8 Estadiamento**

Em se tratando de uma doença com boa resposta terapêutica, com elevada sobrevida e complicações tardias relacionadas ao tratamento, o estadiamento adequado define os critérios de quimio e radioterapia, melhorando a chance de resposta terapêutica e minimizando as complicações. O sistema de estadiamento é baseado na classificação de Ann Arbor, modificado na revisão de Cotswolds, conforme apresentado na tabela 1:

**Tabela 1:** Estadiamento do Linfoma de Hodgkin (BUCCHERI, 2006).

Estádio	Classificação Ann Arbor	Revisão de Cotswolds
I	Comprometimento de uma única região linfática (I) ; pode ocorrer envolvimento localizado de um órgão ou sítio extra-nodal por contiguidade (I <sub>E</sub> )	Inalterado
II	Duas ou mais regiões linfáticas do mesmo lado Do diafragma (II); pode haver envolvimento De órgão ou sítio extra-nodal por contiguidade (II <sub>E</sub> )	Hilos D e E: uma área cada, Independente do mediastino Anotar nº de sítios envolvidos
III	Comprometimento de regiões linfáticas em ambos Os lados do diafragma (III); pode haver envolvimento de sítio ou órgão extra-nodal por contiguidade (III <sub>E</sub> )	III1 – baço e/ou linfonodos hilares, esplênicos, celíacos e portais.  III2 – linfonodos para-aórticos, ilíacos e mesentéricos.
IV	Envolvimento multifocal de um ou mais órgãos ou tecidos extra-linfáticos, com ou sem comprometimento nodal associado.	Inalterado
A	Ausência de sintomas sistêmicos	Inalterado
B	Presença de sintomas sistêmicos	Inalterado
E	Envolvimento extra-nodal por contiguidade	Inalterado
X		Bulky – massa > 10cm
RC(nc)		Remissão completa não confirmada (imagens residuais anormais)

### 1.3 A proteína p53

O ciclo celular é um processo rigorosamente controlado e durante a progressão nas suas diferentes fases a própria célula verifica sua integridade funcional em momentos específicos do ciclo, chamados de pontos de checagem. A proteína p53 é uma das mais importantes proteínas ativadas pelos sensores dos pontos de checagem, controlando a progressão do ciclo celular na transição de G1 para a fase S ( BARCINSKI, 2004).

O gene TP53 foi identificado pela primeira vez em 1979 como oncogene, em virtude da sua associação com o “Simian vírus” (Sv 40) de macaco e por sua alta semelhança química com os indutores de tumor e está localizado no braço curto do cromossomo 17, na região 17p13.3, sendo composto de 11 éxons, que codificam 393 aminoácidos, formando a proteína p53, assim nomeada pelo seu peso molecular (LAMB et al, 1986). Trata-se de uma fosfoproteína nuclear com funções na parada do ciclo celular, morte programada das células (apoptose), inibição do crescimento tumoral e preservação da estabilidade genética, sendo mais conhecida como vigilante da integridade do genoma. Essas funções podem ser executadas através de vários caminhos bioquímicos, incluindo ativação de transcrição, supressão transcricional e inibição da replicação do DNA (IMAMURA et al.,1994).

A p53 é encontrada em pequenas quantidades no interior da maioria das células normais, sendo a meia vida do tipo selvagem “Wild type” extremamente curta, de 6 a 20 minutos, tornando o nível da proteína baixo para ser identificado por imunohistoquímica na maioria dos tecidos normais. As mutações do TP53 prolongam a meia-vida da proteína e esta estabilidade permite sua detecção pelos métodos de imunohistoquímica (IMAMURA et al, 1994). Células que carregam o gene TP53 são capazes de retardar a entrada na fase S do ciclo celular, depois de injúria no DNA, enquanto aquelas sem TP53 ou com TP53 mutante podem entrar na fase S antes do reparo do DNA. Desta maneira, as mutações do TP53 podem permitir que rearranjos ou amplificações gênicas possam ocorrer. A propriedade da p53 na manutenção da integridade do genoma não é detectada na célula normal, tendo, por este motivo, sido descrita inicialmente como oncogene quando descoberta (ARRUDA, 2004). Cerca de 50% dos cânceres humanos possuem mutações no TP53 e acredita-se que nos outros restantes a via de sinalização da p53 esteja comprometida por outros mecanismos. A p53 aumenta os níveis de expressão da proteína BAX

(envolvida na indução da apoptose) e diminui o nível de expressão da BCL-2 (função anti-apoptótica) (SILVA, 2004).

Quando a célula é submetida a um estresse capaz de induzir lesão do DNA, a molécula p53 é fosforilada e sua conformação se modifica, tornando-a mais estável. A p53 passa a funcionar como um fator de transcrição e induz a síntese de p21, a qual inibe a atividade de ciclinas específicas e o ciclo celular não prossegue (BARCINSKI, 2004).

Tem sido também estudado o papel do gene TP53 na angiogênese, já que este gene é um importante supressor tumoral e está inativado em cerca de 50% de todos os tumores malignos. Por inibir a angiogênese, o TP53 indiretamente induz apoptose e pode reverter tumores ao seu estado latente (TANDLE et al, 2004).

A alteração da expressão da p53 é um evento comum no câncer de bexiga e no carcinoma epidermóide de pênis e pode contribuir para a progressão do tumor em alguns pacientes. A alteração dos níveis de expressão do gene supressor tumoral no tumor primário não prediz metástase nodal ou aumento de sobrevida. Mutações do TP53 foram identificadas em 15-40% dos cânceres de mama, mas ainda não está definido seu papel no prognóstico dessa neoplasia. O TP 53 é o principal gene alterado em tumores de esôfago, sendo encontradas mutações em cerca de 40% dos carcinomas epidermóides e 70% dos adenocarcinomas desse órgão, sendo que essas mutações aparecem precocemente durante a progressão neoplásica. No adenocarcinoma de esôfago, as mutações são detectadas na lesão precussora do epitélio de Barret e nas áreas de displasia que precedem o tumor. No câncer colorretal as mutações em TP53 são identificadas em 50% dos casos e está relacionado a pior prognóstico e sobrevida mais curta. Cerca de 50% dos cânceres de cabeça e pescoço contêm mutações no gene TP53, estando

relacionada a recidiva precoce. A inativação do TP53 é um evento precoce em alguns subgrupos de astrocitomas, especialmente em adultos e são raras em pacientes pediátricos.

São encontradas mutações no TP53 em muitas famílias com susceptibilidade ao câncer e em indivíduos que desenvolvem múltiplos tumores primários, sendo comum em famílias com a síndrome de Li-Fraumeni, onde as mutações foram encontradas em 77% dos casos de síndrome de Li-Fraumeni clássica e 20% a 40% de síndrome de Li-Fraumeni-*like*. O risco mais elevado é nos pacientes do sexo feminino, devido à incidência do câncer de mama em jovens desse grupo. O sequenciamento do gene TP53 é indicado para pacientes, que preencham os critérios de diagnóstico da síndrome. Após detecção da mutação, o exame deve ser oferecido aos familiares em aconselhamento genético. Até o momento, porém, esse estudo não é feito rotineiramente, sendo oferecido apenas em centros de pesquisa.

Mutações no TP53 têm sido relatadas em várias neoplasias hematológicas, estando associadas na maioria dos casos com doença avançada ou com desenvolvimento de resistência à terapia. Nos linfomas não-Hodgkin, o estudo imunohistoquímico positivo para p53 e p21 foi determinado como de mau prognóstico (MOLLER et al, 1999; MARTINEZ, et al, 2001). As mutações do gene TP53 são mais frequentes nos casos de doença “bulky” e relacionadas a mau prognóstico numa série de pacientes com linfoma B difuso de grandes células (LEROY et al, 2002). Em síndromes mielodisplásicas as alterações de TP53 são mais encontradas em fenótipos avançados (5 a 10% dos casos), mas foi descrita por Magalhães (1999) alteração do TP 53 em casos de anemia refratária com implicações no prognóstico da doença.

No linfoma de Hodgkin, a imunohistoquímica para p53 em amostras de linfonodos congelados ou em parafina mostrou marcação em 60% a 80% dos casos de celularidade mista e



esclerose nodular. A marcação está localizada no núcleo das células de Reed-Sternberg ou suas variantes mononucleares. O acúmulo de p53 mutante somente nas células de Reed-Sternberg sugere um importante papel da p53 no processo neoplásico do linfoma de Hodgkin (IMAMURA et al, 1994). A inativação funcional da proteína p53 pode ocorrer após interação do produto selvagem do gene com diversas proteínas, tais como aquelas codificadas em diferentes viroses e produtos do oncogene MDM2, o que pode alterar as propriedades de transcrição e meia-vida da p53 (CHILOSI et al, 1994).

O oncogene MDM2 pode codificar proteínas capazes de se ligar à molécula de p53 e agir como antagonistas específicos da atividade do gene TP53 e este, por sua vez, pode induzir a atividade do gene MDM2, num mecanismo de auto-regulação (CHILOSI et al, 1994).

Não foi encontrada correlação entre infecção por EBV e reatividade de p53 nas células RS. Além disso, as células reativas que cercam as células RS (pequenos linfócitos, plasmócitos, eosinófilos e histiócitos) não marcam para p53, o que sugere ser as células RS o componente neoplásico do LH (IMAMURA et al, 1994).

O primeiro método de análise da p53 foi o southern blotting, mas essa técnica detecta apenas alterações grosseiras. Uma técnica indireta é a análise da perda de heterozigose, o que pode ocorrer na ausência de mutação detectável, mas essa análise requer também amostra de tecido normal do mesmo indivíduo. A técnica de reação em cadeia da polimerase detecta mutações pontuais, com especificidade de mais de 95%, porém sua execução requer tempo e muita experiência (IMAMURA et al, 1994).

A imunohistoquímica para p53 é a técnica mais simples de análise de sua integridade, embora não identifique as mutações relacionadas. Sua quantificação é difícil e

podem ocorrer resultados falso-positivos e falso-negativos. Em uma série de linfomas, foram encontrados 50% de tumores que marcavam p53, mas não foram detectadas mutações no gene TP53 nos mesmos casos. Linfonodos hiperplásicos não malignos (reativos) não marcam para p53. A análise imunohistoquímica para p53 pode auxiliar a separar linfonodos hiperplásicos não malignos dos linfonodos neoplásicos, mas não identifica aqueles que têm mutações detectáveis (NAKAMURA et al, 1993). Essa não concordância entre expressão de p53 e presença de mutação detectável também foi vista por Koduru et al (1997) e Villuendas et al (1993). A positividade para p53 na ausência de mutações detectáveis pode ser explicada pela interação da proteína selvagem com o oncogene MDM2. Num estudo com imunohistoquímica de 77 casos, 66 marcaram para MDM2, 61 foram positivos para p53. Nessa análise, 30% das amostras co-expressaram p53 e MDM2. Talvez esses achados possam explicar o fato de que as mutações de p53 são raras no linfoma de Hodgkin (CHILOSI et al, 1994).

Num trabalho de revisão da literatura em 1994, Imamura et al resumiram as principais características das alterações de p53 em neoplasias hematopoéticas:

1. Mutações de TP53 geralmente estão relacionadas a mau prognóstico ou recaídas.
2. Perda do braço curto do cromossomo 17 está associada a mutação de TP53 no alelo remanescente.
3. Linfomas B que têm p53 mutado geralmente têm *c-myc* ativado, mas a infecção por EBV não parece estar relacionada à mutação.
4. O linfoma de Hodgkin tem células RS positivas para p53, mas as células em volta (linfócitos, eosinófilos e macrófagos) não apresentam marcação, o que reforça a idéia de que se trata de uma reação benigna ao processo maligno. O linfoma de Hodgkin do tipo predominância linfocitária não tem células RS p53 positivas.

5. Indivíduos com síndrome de Li-Fraumeni têm uma mutação de TP53 e incidência aumentada de leucemias e linfomas.

A mutação de p53 está associada com mau prognóstico em leucemia linfoblástica aguda de células T (DICCIANNI et al, 1994), indução de resistência à quimioterapia em leucemia mielóide aguda e leucemia linfocítica crônica ( WATTEL et al, 1994; DÖHNER et al, 1995).

Existem ainda controvérsias quanto à relação entre a positividade de p53 e o prognóstico no linfoma de Hodgkin. Numa análise de 78 casos de LH, onde foi avaliada a sobrevida livre de doença em 5 anos, os pacientes que apresentaram positividade para bcl-2 e foram negativos para p53 tiveram pior prognóstico, com sobrevida de 55%. No grupo onde as células RS tinham baixa positividade para p53 e bcl-2 a sobrevida foi de 90%. Já aqueles que apresentaram alta positividade para p53 tiveram sobrevida de 100%, independente da expressão de bcl-2 (BRINK et al, 1998).

Um estudo brasileiro com 83 pacientes de LH analisou bcl-2, p53 e LMP-1, correlacionando com sobrevida livre de doença e sobrevida global, não sendo encontrada correlação entre a expressão dos marcadores citados e o prognóstico (SPECTOR et al, 2005).

#### **1.4 O sistema imunológico e os hormônios esteróides**

Os hormônios esteróides regulam uma variedade de processos biológicos, incluindo o desenvolvimento do sistema imunológico. Já foram identificados receptores de estrogênio em timócitos, linfócitos T e B, macrófagos e células endoteliais (CUTOLO et al, 1995). Os

hormônios sexuais são de particular interesse devido aos achados de que na formação de linfócitos B é seletivamente reduzida na medula óssea de camundongos adultos tratados com estrogênio. Além disso, a linfopoiese B eleva-se em camundongos machos castrados e fêmeas ooforectomizadas (IGARASHI et al, 2001).

Em mulheres durante a gestação, há uma redução seletiva das células pré-B, com redução na medula óssea de células responsivas a interleucina 7 (IL-7) e baixa proliferação de linfócitos, sem alteração da contagem de linfócitos B maduros recirculantes, nem dos progenitores mielóides ou eritróides na medula. A diferenciação dos linfócitos B está sujeita à regulação hormonal (MEDINA et al, 2000).

KHETAWAT et al (2000) encontraram receptores de estrogênio  $\beta$  e receptores de androgênio em megacariócitos normais e plaquetas, cuja transcrição é regulada durante a diferenciação do megacariócito.

É possível que o estrogênio também possa modular a expressão de sinais positivos de células do estroma, para crescimento e diferenciação de linfócitos B (SMITHSON, 1995). Os estudos sobre doenças auto-imunes têm sido direcionados à influência dos hormônios sexuais sobre o sistema imunológico, devido à incidência no sexo feminino ser dez vezes maior do que no sexo masculino. Os pesquisadores cada vez mais encontram evidências do papel do estrogênio na diferenciação dos linfócitos B e na regulação da apoptose.

As células B de murinos têm receptores de estrogênio  $\alpha$  e  $\beta$  e são responsivas ao estrogênio exógeno, o qual exerce efeito molecular direto sobre as células B. Na presença de estrogênio, a expressão de Bcl-2 está aumentada em células esplênicas de camundongos. A expressão aumentada de Bcl-2 também parece ser responsável pela redução da apoptose em

culturas de células de câncer de mama. Além disso, essa superexpressão aumenta a sobrevivência de células B auto-reativas. Observou-se expansão de células B progenitoras Bcl-2 + na medula óssea de camundongos tratados com estrogênio. Isso parece proteger as células B anti-DNA que normalmente evoluiriam para apoptose ainda imaturas.(GRIMALDI et al, 2002). Del RIO et al (2001) também mostraram em estudo in vitro o efeito anti-apoptose do estrogênio sobre os linfócitos do sangue periférico.

A proliferação do linfócito T é inibida por estrógeno e testosterona e há aumento da apoptose. A progesterona induz parada no ciclo celular e aumenta discretamente a apoptose em linfócitos T e B (McMURRAY et al, 2001).

Num estudo em modelo animal, MASARO et al. (2007) mostraram que a ooforectomia resultou em perda de alvéolos pulmonares e o tratamento com estradiol induziu regeneração alveolar.

O receptor de estrogênio  $\beta$  (RE $\beta$ ) está presente na mucosa colônica normal, nas células endoteliais, vasculares e entéricas, bem como linfócitos e células musculares intestinais. Já no adenocarcinoma de cólon a expressão do receptor de estrogênio (RE) está diminuída. Os dados sugerem que o RE $\beta$  tem um papel protetor na prevenção de transformação maligna do epitélio intestinal (KONSTATINOPOULOS et al, 2003).Foram encontrados 22% de casos de carcinoma urotelial papilar positivos para RE (CROFT et al., (2005).

O câncer de mama é caracterizado por desregulação da proliferação e apoptose celulares, desaparecimento de células mioepiteliais, transformação epitélio-mesênquima, instabilidade genômica e perda da organização e compartimentalização. Estão envolvidas várias moléculas como proto-oncogenes como c-MYC, Erb-2, EGFR, ciclina D1 e genes supressores de

tumor como TP53, p16, E-caderina. Mutações no TP53 foram identificadas em 15-40% dos casos, mas ainda há controvérsia sobre o valor de p53 como fator prognóstico nessa neoplasia. Já os fatores de risco ligados aos estrogênios e progesterona estão mais bem estabelecidos. Os receptores de estrógeno e progesterona são expressos em níveis basais muito baixos em células epiteliais mamárias normais, após a mulher entrar na maturidade. Cerca de dois terços dos cânceres de mama expressam níveis mais altos de receptor de estrogênio e estes são fatores preditivos de resposta à hormonioterapia. O receptor de estrogênio  $\alpha$  é mediador de inúmeras ações estrogênicas em células-alvo e sua ação depende da interação com moléculas co-repressoras e co-ativadoras. O receptor de estrogênio  $\beta$ , descrito mais recentemente, também se expressa no tecido mamário normal e maligno, mas suas funções e significado prognóstico ainda não estão esclarecidos.

A produção de glucocorticóides e hormônios sexuais é influenciada pelo citocromo P450 17 A1 e foi encontrada alteração do gene que codifica essa enzima associada a risco aumentado para linfoma não-Hodgkin difuso de grandes células (SKIBOLA et al, 2005).

Um estudo avaliou a expressão de receptor de estrogênio em 49 casos de LLC e apenas dois casos foram positivos.(MELO et al, 1990).

Um estudo prospectivo em usuárias de reposição hormonal mostrou risco aumentado para linfoma folicular e não houve associação com linfoma difuso de pequenas células (LLC) (CERHAN et al, 2002). Já num outro estudo (BEIDERBECK et al, 2003) não houve correlação entre uso de estrogênios e risco para linfoma.

SHIM et al. em 2006 estudaram a expressão de RE  $\alpha$  e  $\beta$  em tecidos linfóides humanos e encontraram positividade para RE  $\beta$  no baço, amígdalas, células mononucleares

periféricas e em culturas de células de linfoma de Hodgkin e linfoma de Burkitt. A expressão de RE  $\alpha$  só foi encontrada nos centros germinativos de tecido amigdaliano inflamado e apenas no citoplasma e não no núcleo. WATSON et al (1995) também demonstraram a presença de receptores de estrogênio na membrana citoplasmática de clones de células de tumor pituitário. O estrogênio age rapidamente em alguns tecidos como mama, osso, cérebro e sistema cardiovascular, sugerindo que sua ação depende não só da via genômica (receptores nucleares) como de sinais localizados na membrana celular. Os receptores de estrogênio localizados na membrana têm efeitos diferentes dos receptores localizados no núcleo (BJÖRNSTRÖM et al, 2004).

O gene do receptor de estrogênio está localizado no braço longo do cromossomo 6, uma região que está frequentemente alterada em neoplasias hematológicas. O gene do receptor de estrogênio está metilado em cerca de 90% dos casos de leucemia e linfoma e isso se traduz em bloqueio da transcrição do RE (ISSA et al, 1996). A metilação do RE está relacionada a prognóstico favorável em adultos com LMA (Li et al, 1999).

Sendo o linfoma de Hodgkin uma neoplasia de origem na célula B, onde a resposta imune parece contribuir na sua patogenia e tem a célula de Reed-Sternberg circundada de células inflamatórias, torna-se de particular interesse avaliar o papel do estrogênio nesse processo. Ainda não sabemos qual a expressão de receptores de estrogênio nos linfomas e qual a sua influência no comportamento dessa neoplasia.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Avaliar, por imuno-histoquímica, a expressão de p53 e receptor de estrogênio  $\alpha$  no linfoma de Hodgkin.

### **2.2 Objetivos específicos**

- a) Avaliar a distribuição dos casos de linfoma de Hodgkin por faixa etária;
- b) Avaliar a distribuição dos casos de linfoma de Hodgkin quanto ao estadiamento no momento do diagnóstico;
- c) Avaliar a distribuição dos casos de linfoma de Hodgkin por subtipo histológico;
- d) Observar a expressão de CD15, p53 e receptor de estrogênio por subtipo histológico do LH.



### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

Foram estudados 39 indivíduos com diagnóstico de linfoma de Hodgkin confirmado por exame histo-patológico (HE) e imuno-histoquímica. Foi realizada a revisão dos prontuários para preenchimento de dados clínicos e epidemiológicos.

Foi feito um grupo controle de 10 casos de linfonodos com hiperplasia reativa, não relacionados a linfoma.

Os blocos de parafina foram selecionados dos arquivos do Serviço de Anatomia Patológica do Instituto do Câncer do Ceará, obtidos de pacientes atendidos no período de janeiro de 2000 a outubro de 2006. Todos os blocos de parafina que foram selecionados estavam em boas condições para novos cortes, sem perda do material de biópsia.

Os blocos foram processados em micrótomo rotativo com cortes de 4 $\mu$ m de espessura, estendidos sobre lâminas de vidro, num total de cinco cortes para cada caso. Uma lâmina corada pela hematoxilina-eosina, uma para receptores de estrogênio, uma para p53 e as demais armazenadas como reserva.

#### **3.1 Estudo morfológico**

Para as lâminas que foram inicialmente coradas, foi feita a desparafinização em dois banhos de xilol., rehidratação em série descendente de etanóis, imersão em solução de hidróxido de amônio a 10% e lavagem em água corrente e água destilada. A coloração foi feita com hematoxilina-eosina (HE). A análise das lâminas foi realizada em microscópio óptico comum.

Foi realizada a confirmação do diagnóstico de linfoma de Hodgkin e a classificação conforme proposto pela Organização Mundial de Saúde em 2001.

### **3.2 Estudo imuno-histoquímico**

Foi feita a revisão das lâminas em arquivo para os marcadores CD30, CD 15 e fascina, além de CD45, CD20 e CD3.

Para a análise de p53 e receptor de estrogênio, foram utilizados marcadores com anticorpos monoclonais específicos: p53 Clone DO-7 (DAKO) e receptor de estrogênio  $\alpha$  Clone 1D5 (DAKO).

Os cortes de 4 a 5  $\mu$ m foram desparafinizados imediatamente antes da realização da técnica de imuno-histoquímica, sendo hidratados e lavados com solução salina tamponada, pH 7,6. A seguir, foi feito tratamento de recuperação antigênica com tampão citrato a 10mM, pH 6,0 para p53 e pH 2,0 para RE por 30 minutos em forno de microondas, por duas etapas de 10 minutos cada. Bloqueio com peroxidase endógena por dois ciclos de 5 minutos cada, com metanol contendo 0,03% de peróxido de hidrogênio. Os cortes então foram incubados com os respectivos anticorpos primários p53 e RE, diluídos 1:50 e incubados por 12 horas durante a noite, à temperatura de 4°C. Após lavagem com solução salina tamponada, as lâminas foram incubadas por 60 minutos com anticorpo secundário biotilado anti-IgG. Os cortes foram incubados com o complexo ABC (DAKO, USA) por 45 min. O complexo ABC foi preparado seguindo a orientação do fabricante e constou de solução na proporção de 5 $\mu$ l de avidina com 5 $\mu$ l de biotina em 5 ml de solução salina tamponada. Para visualização da reação, as lâminas foram

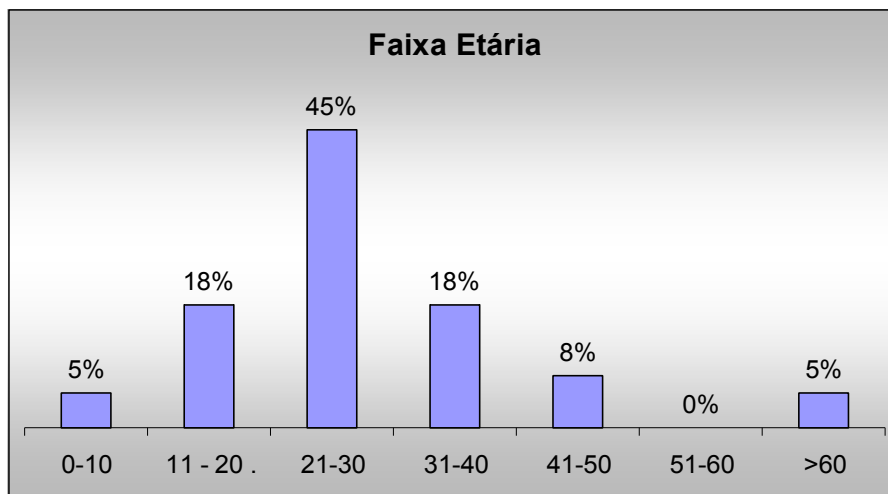
tratadas com solução diaminobenzidina (DAB, 1mg/ml) (DAKO, USA). Foi feita contra-coloração com hematoxilina e montagem de lamínula em bálsamo do Canadá.

Foi feita a leitura em microscópio óptico e interpretação da imunohistoquímica. Foi considerada positiva a marcação nuclear na cor marrom para ambos os anticorpos. Todo o procedimento de análise e interpretação foi feito juntamente com os patologistas do Instituto do Câncer do Ceará, Dr. Francisco Valdeci F. Almeida e Dr. Francisco Dario Rocha Filho.

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital do Câncer/Instituto do Câncer do Ceará.

## 4 RESULTADOS

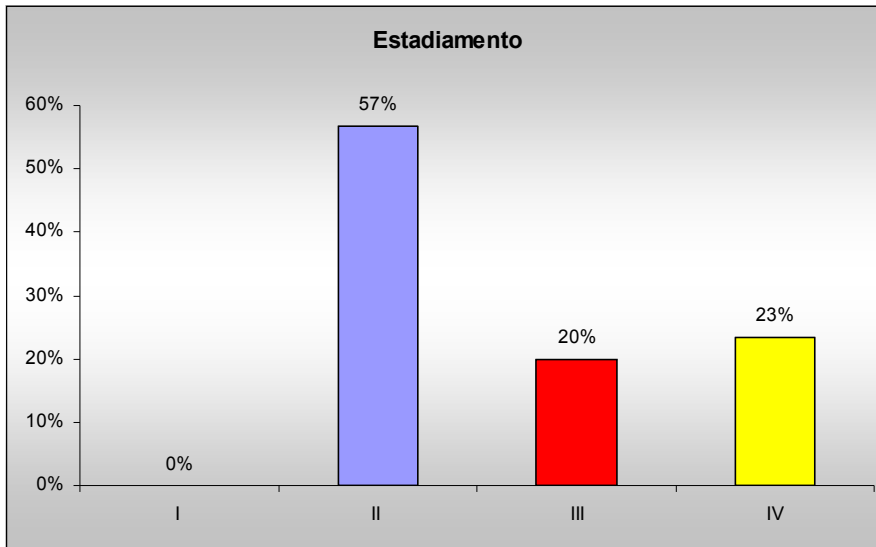
A população estudada foi de 39 indivíduos, com idade entre 5 e 63 anos, com média de 27 anos, sendo 21 (55%) do sexo masculino. O gráfico 1 mostra a classificação por faixa etária.



**Gráfico 1:** Classificação por faixa etária.

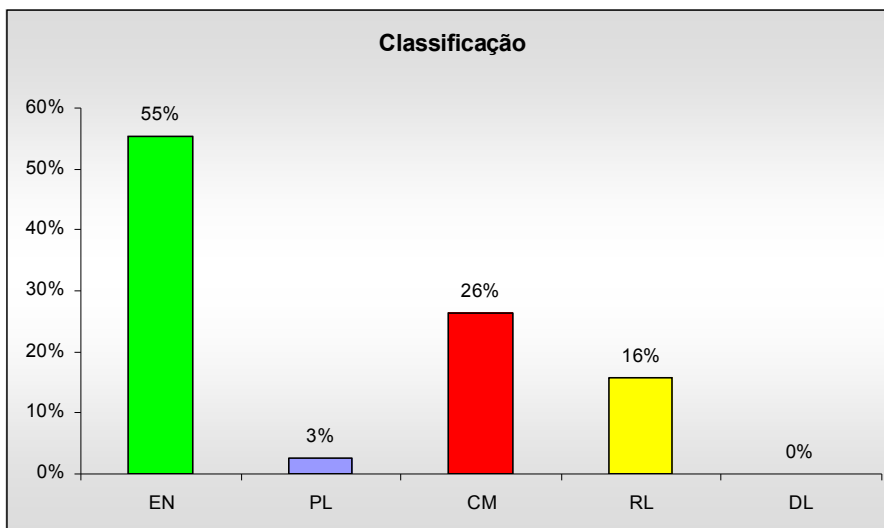
A primeira manifestação de doença foi de aumento de linfonodos cervicais em 59% dos casos e 56% dos indivíduos apresentavam sintomas B.

Quanto ao estadiamento, 57% dos indivíduos estudados iniciaram tratamento no estágio clínico II, 20% no estágio III e 23% no estágio IV. Não houve casos em estágio clínico I, conforme demonstrado no gráfico 2.



**Gráfico 2:** Estadiamento.

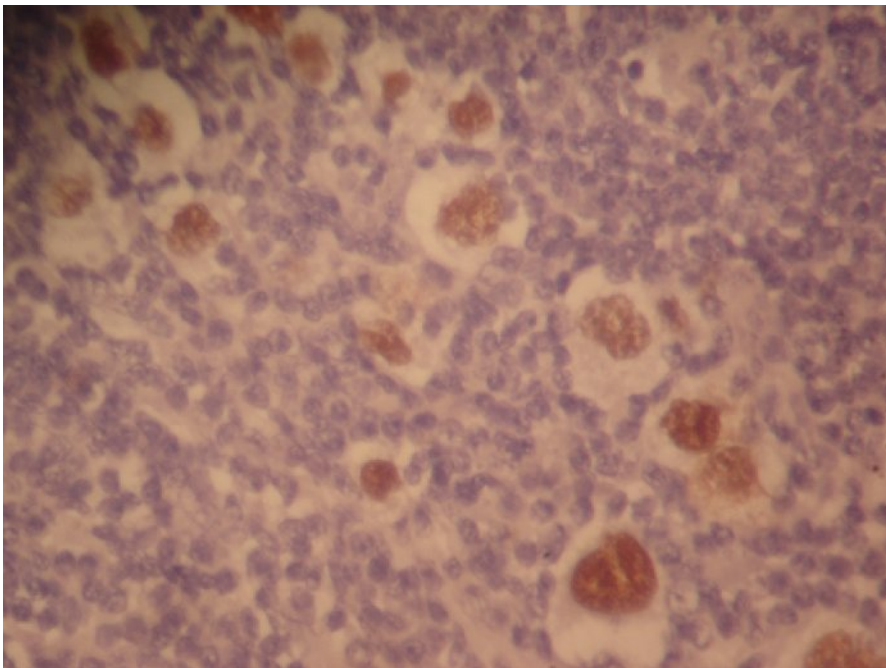
Quanto à classificação do linfoma de Hodgkin, 56% dos casos foram classificados como esclerose nodular, 27% celularidade mista, 14% rico em linfócitos e 3% predominância linfocitária. Não houve casos de depleção linfocitária na amostra estudada. (Gráfico 3)



**Gráfico 3:** Distribuição dos casos por classificação do linfoma de Hodgkin.

Foram consultados os registros de imuno-histoquímica para CD30 e CD15 dos casos estudados, onde o CD30 foi positivo em todos os casos e o CD15 foi positivo em 70,6% dos casos.

A análise imuno-histoquímica para p53 foi positiva em 53% dos casos, enquanto que no grupo controle foi de 10%. A figura 2 mostra a expressão de p53 em células RS.



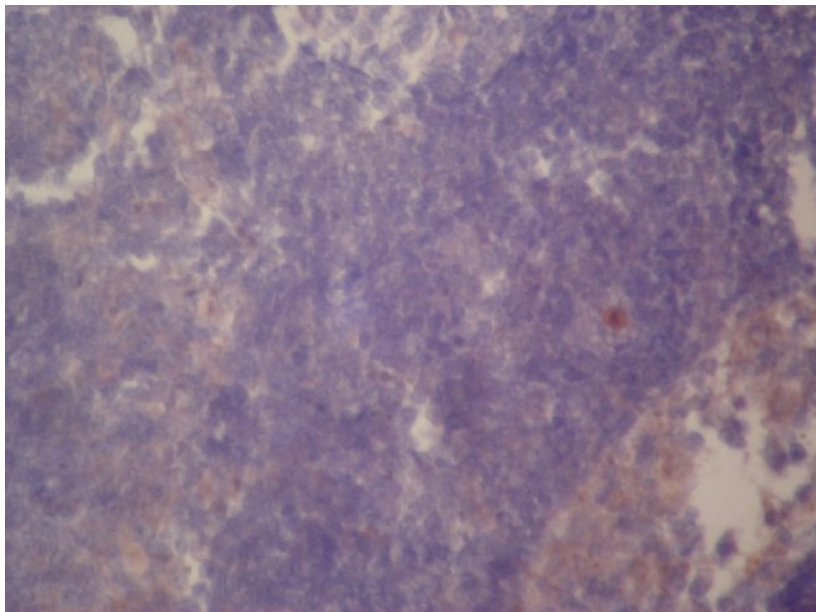
**Figura 2:** Expressão de p53 em caso de linfoma de Hodgkin clássico.

A análise imuno-histoquímica para receptor de estrogênio foi negativa em todos os casos, sendo que houve persistente marcação no citoplasma de polimorfonucleares. No grupo controle, houve marcação positiva em 80% dos casos, no citoplasma de histiócitos, difusa, de pouca intensidade e algumas vezes marcação para-nuclear (golgiana) intensa nessas mesmas células (Figuras 3 e 4). Também houve marcação no citoplasma de polimorfonucleares no grupo

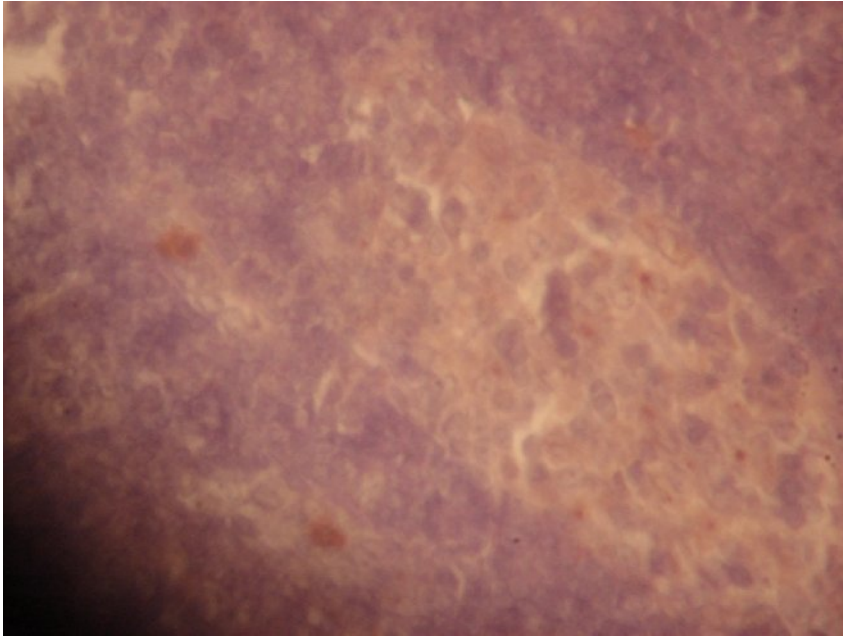
controle. Os pequenos linfócitos não marcaram. A tabela 2 mostra o percentual de casos positivos para p53 e RE na amostra de no grupo controle.

**Tabela 2:** Expressão de p53 e RE na amostra e no grupo controle

	<b>P53</b>	<b>RE</b>
AMOSTRA	53%	0
CONTROLE	10%	80%



**Figura 3:** Expressão de RE em linfonodo reativo.



**Figura 4:** Expressão de RE em linfonodo reativo. Detalhe da marcação difusa nos histiócitos e algumas células com marcação para-nuclear.

Devido às diferenças de intensidade de marcação encontradas para p53, foi feita uma estratificação dos resultados, assim divididos:

0 = não houve marcação

1 = marcação leve ou +

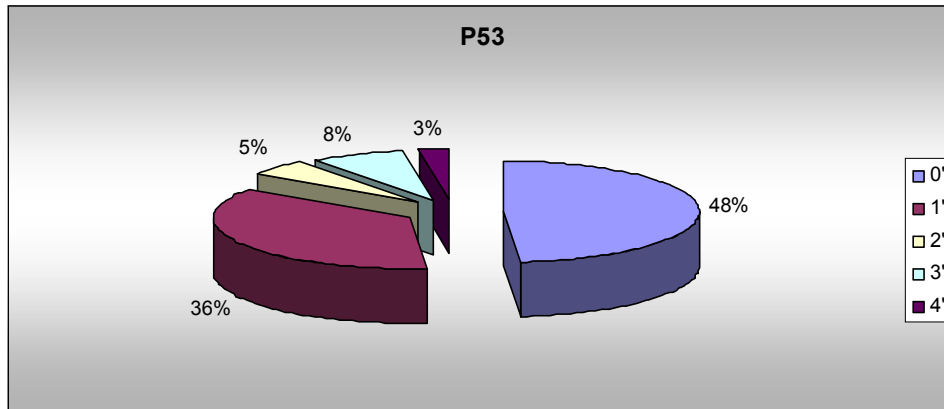
2 = marcação intermediária ou ++

3 = marcação intensa ou +++

4 = marcação em quase todas as células tumorais ou ++++

O gráfico 4 mostra a distribuição desses resultados.





**Gráfico 4:** distribuição dos casos quanto à intensidade de marcação de p53.

A tabela 3 mostra uma análise comparativa da expressão dos marcadores CD15 e p53 por subtipo de LH.

**Tabela 3:** Positividade dos marcadores por subtipo histológico\*

	CD 15	P53
RL	60%	60%
EM	68,4%	42,1%
CM	77,8%	66,7%
Total	70,6%	53%

\*PL houve apenas um caso, positivo para CD 15 e p53, negativo para RE.

DL: não houve caso deste subtipo na amostra.

A marcação de p53 foi semelhante à de CD15 quanto à distribuição por subtipo de LH e não houve significância estatística na associação entre p53 e subtipo histológico ( $p=0,9$ )

## 5 DISCUSSÃO

O linfoma de Hodgkin é uma doença onde os resultados de tratamento estão entre os melhores no campo da oncologia, a sobrevida livre de doença é longa na maioria dos casos e não há, até o momento, grandes avanços no tratamento em relação aos últimos vinte anos. Hoje os estudos estão concentrados em reduzir as complicações tardias secundárias ao tratamento, como segunda neoplasia, fibrose pulmonar e infertilidade, além de melhorar os resultados da quimioterapia nos casos de refratariedade e recaídas. Muitos estudos são direcionados à definição de critérios prognósticos, na tentativa de estratificar grupos de pacientes que necessitam de tratamento mais agressivo e prolongado, separando aqueles que podem ter resposta completa e duradoura com esquemas de quimioterapia mais curtos e/ou radioterapia apenas do sítio envolvido. Paradoxalmente, ainda é uma neoplasia cuja biologia ainda não está bem elucidada e que parece ser influenciada por diversas substâncias como citocinas, hormônios, partículas virais e fatores quimiotáxicos.

Os fatores ambientais e sócio-econômicos têm indiscutível papel na incidência e forma de apresentação do LH, o que se torna evidente nas diferenças epidemiológicas entre populações de países desenvolvidos e aqueles em desenvolvimento.

No estado do Ceará, notamos uma profunda modificação ao longo do tempo em relação à epidemiologia da doença. Em 1977, FERREIRA et al encontraram um pico de incidência em torno dos 10 anos e outro em torno dos 60 anos. Em 1982, PITOMBEIRA et al relataram a maioria dos casos ocorrendo em maiores de 15 anos. Os trabalhos mais recentes mostram que a distribuição por faixa etária parece não ser mais bimodal como descrito na

literatura, passando a apresentar a maioria dos casos em indivíduos com idade entre 10 e 40 anos. Este resultado é semelhante ao encontrado por GIESTA (2006) no Ceará e ao relatório do INCA (2000) sobre a incidência de LH no Brasil. Também no presente trabalho houve predominância nas idades entre 11 e 40 anos, com um único pico de incidência, por volta dos 20 anos, conforme os dados mais recentes da literatura.

Houve um aumento dos casos do subtipo esclerose nodular e progressiva redução da frequência dos casos de celularidade mista, aproximando-se do que é visto em países desenvolvidos (PINTO et al, 2006). Em crianças, porém continua a ser mais frequente o subtipo celularidade mista os quais têm ainda frequente positividade para EBV (ABREU, et al, 1997), já havendo uma tendência a uma curva semelhante àquela observada em adultos (dados não publicados, PITOMBEIRA, 2006).

As mudanças epidemiológicas observadas acompanham mudanças significativas na qualidade de vida, saneamento básico e atenção primária à saúde, as quais têm ocorrido no Brasil e principalmente na Região Nordeste nos últimos vinte anos. Têm sido implementados programas de assistência à saúde da família, ampliados os programas de vacinação e orientação sobre higiene e alimentação. Não sabemos se algum desses fatores podem influenciar isoladamente, mas o fato é que a melhoria de indicadores de saúde tem sido observada, em concordância com as modificações dos aspectos epidemiológicos do linfoma de Hodgkin.

Quanto ao estadiamento, os pacientes continuam a ter diagnóstico de LH em estágio clínico II ou mais avançado, sendo rara a admissão de pacientes no início da doença. Também apresentam os sintomas B na época do diagnóstico em mais da metade dos casos.

No linfoma de Hodgkin, a literatura descreve expressão de p53 por imunohistoquímica no núcleo das células RS e nas variantes mononucleares em cerca de 70% dos casos, onde o número de células positivas varia de 10% a 60% em cada amostra. A marcação predomina nos casos de LH clássico tipo esclerose nodular e celularidade mista (IMAMURA, MIYOSHI e KOEFFLER, 1994). Nas outras hemopatias, a p53 se expressa preferencialmente em doenças agressivas, como no linfoma B de grandes células, LLA e no linfoma de Burkitt, ou em fase acelerada, como LMC em crise blástica. Na fase crônica da LMC e leucemia crônica de células T a expressão de p53 é rara. Na LLA-T as mutações de TP53 são raras, mas na recaída da mesma doença, as mutações são encontradas em 30% dos casos.

Na amostra em estudo, a positividade para p53 teve frequência de 53%, um pouco menor do que o descrito na literatura. Quando analisada por subtipo histológico de LH, a distribuição de casos positivos foi semelhante para as formas clássicas CM e RL, sendo discretamente menos frequente no subtipo EN. Como só houve um caso de PL e nenhum de DL, a análise de expressão de p53 nesses subtipos não pode ser feita. Quando comparada a expressão de p53 à de CD15 no linfoma de Hodgkin, a marcação foi semelhante e não houve significância estatística quanto à distribuição por subtipo histológico.

Nas hemopatias malignas, a p53 se expressa mais em doenças que apresentem altos índices de proliferação celular, sendo menos frequentes nas formas de evolução indolente. Ainda não está esclarecido se esses achados são consequência de alterações epigenéticas e as mutações do TP53 seriam mais um fator em meio a outros subsequentes a esse processo ou se essas mutações são fatores determinantes na transformação das hemopatias para formas mais agressivas. Já no linfoma de Hodgkin, as mutações no gene TP53 são raras e a expressão de p53 ocorre em torno de 70% dos casos. Essa expressão pode ocorrer devido a acúmulo de p53 nas

células RS e variantes, de alguma forma contidas pelas células inflamatórias que cercam as células tumorais. Talvez a baixa frequência de detecção de mutações no gene TP53 esteja relacionada ao fato de que no linfoma de Hodgkin, apenas 1% das células são realmente neoplásicas. Também ainda não está esclarecido se a expressão de p53 tem algum papel prognóstico no linfoma de Hodgkin.

No grupo controle, houve positividade para p53 em 10% dos casos. Está descrito na literatura que a análise imuno-histoquímica para p53 é adequada para marcação de células neoplásicas. O clone de anticorpo para p53 utilizado no presente estudo marca também a proteína do tipo selvagem que porventura tenha se acumulado na célula, como pode ocorrer na hiperplasia linfonodal benigna. Os dez casos separados como grupo controle foram biópsias de linfonodos com hiperplasia reativa retirados de pacientes com outras neoplasias. A positividade foi em apenas um caso, com marcação leve (+) em célula dendrítica e não sabemos a causa.

A expressão de RE nos casos de LH foi negativa nas células tumorais. Já no grupo controle, a positividade para RE teve frequência de 80%, expressando-se em histiócitos com marcação citoplasmática difusa e em algumas dessas células com marcação intensa para-nuclear. Apesar de termos encontrado poucos trabalhos relacionados a expressão de RE em linfomas, os estudos mostram que a perda de expressão está relacionada a alteração nos mecanismos reguladores da apoptose. O  $17\beta$ -estradiol aumenta a expressão de proto-oncogenes nucleares (c-myc, c-fos, c-jun) que podem estimular a proliferação celular, podendo agir rapidamente nas células-alvo. (CUTOLO, 1995) Em células B o estrogênio tem função de mediador dos efeitos anti-apoptóticos através da regulação da BCL-2 (SKIBOLA, 2005).

A inativação da expressão do gene de RE está associada a metilação de ilhas CpG (ISSA, 1996). As ilhas CpG são regiões promotoras dos genes, ricas em dinucleotídeos citosina-guanina (CpG). As alterações de metilação do DNA possuem um papel central no desenvolvimento e na progressão de vários cânceres humanos, estando associada à repressão transcricional de vários genes que atuam como controladores negativos do crescimento e desenvolvimento tumoral. Essas alterações são consideradas epigenéticas porque alteram a constituição química do DNA, mas não diretamente a sequência de nucleotídeos (RAINHO et al, 2004). No estudo de ISSA et al (1996), em tecido hematopoiético normal foi encontrada mínima metilação das ilhas CpG do gene RE (1 a 9%). Nas leucemias agudas examinadas, todas apresentaram extensa metilação do gene RE, além da mesma alteração ter sido encontrada em 50% dos casos de LMC em fase crônica, 100% dos casos de LMC em crise blástica e 60% dos linfomas. Não foi encontrada correlação dessas alterações com outras variáveis como idade dos pacientes, sexo ou subtipo histológico. O achado de metilação serviu inclusive como marcador de risco de recaída em pacientes que estavam em remissão completa no momento do exame.

O que encontramos na amostra examinada em casos de linfoma de Hodgkin, onde os linfonodos não neoplásicos expressam RE e as amostras tumorais foram negativas, está em concordância com os achados de não expressão do RE por metilação do gene nos estudos de ISSA et al.

Foi utilizado no presente estudo o anticorpo para receptor de estrogênio  $\alpha$ , que é o único disponível comercialmente. O trabalho de SHIM et al (2006), que avaliou a expressão de RE em tecidos hematopoiéticos utilizou anticorpo para RE $\alpha$  e  $\beta$  separadamente nos diferentes tipos de células e encontrou expressão de RE $\beta$  nuclear e citoplasmática em linfócitos periféricos, tecido amigdaliano, esplênico medula óssea e células RS e de linfoma de Burkitt em cultura.

Houve também expressão de RE $\beta$  em linfócitos e monócitos que infiltravam tecido tumoral em amostras de câncer de mama. Também houve marcação intensa de neutrófilos (nuclear e citoplasmática). O RE $\alpha$  foi encontrado apenas nos linfócitos do centro germinativo de tecido amigdaliano inflamado, com marcação citoplasmática, não se expressando na zona do manto, nem nos demais tecidos linfóides. Os autores não revelaram no estudo onde obtiveram o marcador para RE $\beta$ .

Um outro estudo feito com citometria de fluxo de células B de murinos mostrou que há expressão de RE $\beta$  em todos os estágios de desenvolvimento da célula B. O RE $\alpha$  foi detectado em células pró-B e pré-B e células B imaturas da medula óssea, células B transitórias e maduras, além de células B do centro germinativo do baço (GRIMALDI et al, 2002). Não sabemos se a ausência de expressão de RE $\alpha$  nos casos de linfoma de Hodgkin da amostra em estudo está relacionada a perda de função do receptor por metilação do gene ou se as células tumorais expressam somente RE $\beta$ .

Ainda causa curiosidade o fato de as células eosinofílicas em volta das células tumorais e nos linfonodos benignos expressarem persistentemente RE em sua membrana, com marcação intensa. São células reacionais, não neoplásicas, não marcam para p53. A possibilidade de ser marcação inespecífica para mieloperoxidase é remota, pois não houve marcação da mesma amostra no estudo de p53. Num estudo em cultura de células foi evidenciado receptor de estrogênio membranar (WATSON et al, 1995). Há evidências de que este receptor membranar tem mecanismos de ação e vias de sinalização diferentes dos receptores nucleares. Seriam necessários estudos para entender qual o papel dessas células em volta das células RS, se teriam algum efeito modulador ou papel na patogenicidade do LH. Estudos mostram que no subtipo esclerose nodular a eosinofilia está relacionada a mau prognóstico (ENBLAD, 1993).

O efeito do estrogênio no sistema imune começou a ser estudado nas doenças auto-imunes, por sua predominância em indivíduos do sexo feminino. O hormônio pode melhorar sintomas de algumas dessas doenças e agravar outras. Muitas teorias tem sido propostas, para explicar os efeitos contraditórios do estrogênio no sistema imune, acreditando-se que o mesmo tenha uma ação bifásica, diferente se o estímulo é feito com altos níveis de hormônio ou com baixos níveis. Sua função é mediada pelos receptores, que diferem nos tipos  $\alpha$  e  $\beta$  e sua localização nuclear, golgiana ou membranar, mas ainda não está elucidado o papel dos receptores em cada situação e nos diferentes tipos de células do organismo, especialmente nos diferentes tipos celulares do tecido linfóide.

Os estrogênios e androgênios podem suprimir linfopoiese na medula óssea e parece que o estrogênio tem um papel na indução de tolerância imunológica, sendo os linfócitos B auto-reativos eliminados se estes apresentarem anticorpos contra antígenos próprios na medula óssea (SHIM et al, 2006).

O câncer pode ser considerado uma doença genética complexa que resulta de alterações simultâneas em genes relacionados à proliferação, diferenciação e morte celular. Atualmente, mais de duzentos genes com essas funções já estão identificados. O equilíbrio entre proliferação e morte celular é mantido através de um complexo sistema de sinalização intra e extra-celular, que pode ser alterado por mecanismos genéticos e ambientais.(NICOTERA et al, 2004). Em câncer de mama, fatores de risco ligados à influência dos hormônios sexuais incluem a menarca precoce e menopausa tardia, relacionadas a maior exposição hormonal. Quanto à reposição hormonal em mulheres pós-menopausa, estudo prospectivo envolvendo mais de 16 mil mulheres mostrou que aquelas que fizeram uso de estrogênio combinado a progestágeno apresentaram maior risco de desenvolver câncer de mama em relação às mulheres que receberam



placebo. E outro estudo envolvendo mais de um milhão de mulheres na pós-menopausa demonstrou aumento do risco de câncer de mama naquelas que receberam terapia de reposição hormonal (FOLGUEIRA e BRENTANI, 2004).

O receptor de estrogênio  $\alpha$  tem sido amplamente pesquisado em câncer de mama e é controle da proliferação e apoptose celular, como ciclina D1, TGF $\alpha$ , Bcl-2, telomerase e receptor de progesterona. O receptor  $\beta$  foi descrito mais recentemente e pode estar expresso tanto em tecido mamário normal quanto maligno e seu papel no ciclo celular ainda não está totalmente esclarecido.

Em avaliações imuno-histoquímicas de RE em amostras de câncer de mama, foi observado expressão de RE $\alpha$ , no centro germinativo de linfonodos infiltrados, pelo tumor e essas células expressavam também CD21 e CD23, sendo classificadas como células dendríticas. O estrogênio pode ter um papel determinante na formação do centro germinativo (SAPINO et al, 2003).

Algumas translocações frequentemente observadas em neoplasias hematológicas estão associadas com a ativação de oncogenes através da ativação transcricional de proto-oncogenes. O gene do receptor de estrogênio está localizado numa região frequentemente alterada em neoplasias hematológicas, o braço longo do cromossomo 6. Foi encontrada metilação do gene em leucemias agudas, crônicas e linfomas, associada com supressão da transcrição do RE, podendo este ser um fator importante na patogênese das neoplasias hematológicas.

Atualmente, os indivíduos estão expostos a um número cada vez maior de substâncias que são ingeridas conscientemente ou inseridas nos alimentos das mais diversas formas, especialmente os hormônios esteróides. Atenção especial deve ser dada às mulheres, pois os

benefícios da terapia de reposição hormonal e o uso prolongado de contraceptivos têm consequências ainda não conhecidas na sua totalidade. O presente estudo é apenas uma tentativa inicial de entender onde os estrogênios podem se ligar aos seus receptores e interferir no controle da proliferação celular, para então estudarmos qual o seu papel na regulação do crescimento tumoral e sua patogênese nos linfomas de Hodgkin. Outros estudos serão necessários, pesquisando separadamente a expressão dos receptores de estrogênio  $\alpha$  e  $\beta$ , identificando cada tipo celular capaz de expressá-los e como essas células interagem entre si, sejam elas reativas ou tumorais e de que forma isso poderá influenciar o tratamento ou o prognóstico dos linfomas de Hodgkin.

## 6 CONCLUSÃO

Após a revisão dos registros clínicos, histo-patológicos e estudo imuno-histoquímico para p53 e receptor de estrogênio  $\alpha$  em 39 casos de linfoma de Hodgkin, conclui-se que:

1. A incidência do linfoma de Hodgkin foi maior entre os 11 e os 40 anos, com pico de incidência por volta dos 20 anos.
2. O subtipo histológico mais frequente foi de linfoma de Hodgkin clássico esclerose nodular, seguido do tipo celularidade mista.
3. A primeira manifestação da doença foi em linfonodo cervical em 59% dos casos.
4. A presença de sintomas B no momento do diagnóstico ocorreu em 56% dos casos.
5. A expressão de CD15 foi positiva em 70,6% dos casos.
6. Houve expressão de p53 em 53% dos casos e no grupo controle em 10% .
7. Não houve expressão de receptor de estrogênio  $\alpha$  nas células RS.
8. Houve expressão de receptor de estrogênio  $\alpha$  em 80% dos casos de hiperplasia linfonodal benigna, havendo marcação de histiócitos, intensa em região para-nuclear e difusa citoplasmática.
9. Houve expressão de receptor de estrogênio  $\alpha$  no citoplasma de neutrófilos, tanto nas amostras de linfoma de Hodgkin como nos linfonodos do grupo controle.

## BIBLIOGRAFIA

ABREU, E. S.; FERREIRA, F. V.; ROCHA FILHO, F. D.; et al. Doença de Hodgkin infanto-juvenil no Estado do Ceará e sua relação com o vírus de Epstein-Barr: parâmetros clínicos e análises morfológica, imuno-histoquímica e por hibridização *in situ*. **J. Bras. Patol.**, vol. 33, n. 4, p. 178-183, 1997.

ALMEIDA, J. M. M. F.; PITOMBEIRA, M. H.; MAGALHÃES, S. M. M.; et al. Células Dendríticas Foliculares: Imunofenotipagem no Linfoma de Hodgkin Clássico Esclerose Nodular. **Rev. Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, vol. 28, n. 1, p. 33-39, 2006.

AMBINDER, R. F.; BROWNING, P. J.; LORENZANA, I.; et al. Epstein-Barr virus and childhood Hodgkin's disease in Honduras and the United States. **Blood** Vol. 81, n. 2, p. 462-467, 1993.

ARAÚJO, I.; BITTENCOURT, A. L.; BARBOSA, H. S.; et al. The high frequency of EBV infection in pediatric Hodgkin lymphoma is related to the classical type in Bahia, Brazil. **Virchows Archive**, vol 449, n. 3, p. 315-319, 2006.

ARRUDA, L.G.R.. Neoplasias escamosas intra-epiteliais e invasoras da vulva: expressão de receptores de estrógeno e de progesterona, de p53 e de Ki-67 (MIB1) segundo a progressão tumoral. 2004. Dissertação (Mestrado) – Departamento de Patologia e Medicina Legal, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2004.

BARCINSKI, M. A. Morte Celular. In: FERREIRA, C. G.; ROCHA, J. C..Oncologia Molecular. 1ª. ed. Atheneu, 2004. Cap. 5, p. 57-63.

BARIS, D.; ZAHM, S. H.. Epidemiology of lymphomas. **Current Opinion in Oncology**, vol. 12, n. 5, p. 383-394, 2000.

BEIDERBECK, A. B.; HOLLY, E. A.; STURKENBOOM, M. C. J. M.; et al. No increased risk of non-Hodgkin's lymphoma with steroids, estrogens and psychotropics. **Cancer Causes and Control**, vol 14, n. 7, p. 639-644, 2003.

BJÖRNSTROM, L.; SJÖBERG, M.. Estrogen receptor-dependent activation of AP-1 via non-genomic signalling. **Nuclear Receptor**, vol 2, p. 3-14, 2004.

BRINK, A. A.; OUDEJANS, J. J.; VAN DEN BRULE, A. J.; et al. Low p53 and high bcl-2 expression in Reed-Sternberg cells predicts poor clinical outcome for Hodgkin's disease: involvement of apoptosis resistance? **Mod Pathol**, vol.11, n. 4, p. 376-383, 1998.

BUCCHERI, V.. Linfoma de Hodgkin. In: Terezinha Ferreira Lorenzi. Atlas de Hematologia 1ª. Edição. Guanabara Koogan, 2006, Parte E, p. 518-538.

CERHAN, J. R.; VACHON, C. M.; HABERMANN, T. M.; et al. Hormone replacement therapy and risk of non-Hodgkin lymphoma and chronic lymphocytic leukemia. **Cancer Epidemiology**, vol. 11, p. 1466-1471, 2002.

CHILOSI, M.; DOGLIONI, C.; MENESTRINA, F.; et al. Abnormal Expression of the p53-Binding Protein MDM2 in Hodgkin's Disease. **Blood**, vol 84, n. 12, p. 4295-4300, 1994.

CROFT, P. R.; LATHROP, S. L.; FEDDERSEN, R. M.; et al. Estrogen receptor expression in papillary urothelial carcinoma of the bladder and ovarian transitional cell carcinoma. **Archives Pathol Lab Med**, vol. 129, p. 194-199, 2005.

CUTOLO, M.; SULLI, A.; SERIOLO, B.; et al. Estrogens, the immune response and autoimmunity. **Clinical and Experimental Rheumatology**, vol. 13, p. 217-226, 1995.

DEL RIO, M. J.; VELEZ-PARDO, C. 17 $\beta$ -Estradiol protects lymphocytes against dopamine and iron-induced apoptosis by a genomic-independent mechanism. Implication in Parkinson's disease. **General Pharmacology**, vol. 35, p.1-9, 2001.

DeVITA Jr., V. T.; CANELLOS, G. P.. The Lymphomas. *Seminars in Hematology*, Vol. 36, No. 4, Supl 7, 1999.

DICCIANNI, M. B.; YU, J.; HSIAO, M.; et al. Clinical significance of p53 mutations in relapsed T-cell acute lymphoblastic leukemia. **Blood**, vol. 84, n. 9, p. 3105-3112, 1994.

DIEHL, V.; TESCH, H.. Hodgkin's Disease – Environmental or Genetic?. **New England Journal of Medicine**, vol. 332, n. 7, p. 461-463, 1995.

DÖHNER, H.; FISCHER, K.; BENTZ, M.; et al. p53 gene deletion predicts for poor survival and non-response to therapy with purine analogs in chronic B-cell leukemias. **Blood**, vol. 85, n. 6, p. 1580-1589, 1995.

ENBLAD, G.; SUNDSTROM, C.; GLIMELIUS, B.. Infiltration of eosinophils in Hodgkin's disease involved lymph nodes predicts prognosis. **Hematology Oncology**, vol.11, n. 14, p. 187-193, 1993.

FERREIRA, F. V. A.; OLIVEIRA, E.; ALENCAR, J.. Doença de Hodgkin: Peculiaridades Estatísticas em Fortaleza, Ceará, Brasil. **Rev. Med. Universidade Federal do Ceará**, vol. 17 (1-2), p. 15-18, 1977.

FERREIRA, F. V. A.; MENEZES, D. B.. Doença de Hodgkin: Interrelação Linfócitos-“células alvo” Como Índice Morfológico do Prognóstico. **Ver. Med. Universidade Federal do Ceará**, vol. 17 (1-2), p. 19-23, 1977.

FOLGUEIRA, M. e BRENTANI, M.. Câncer de mama. In: *Oncologia Molecular*, 1a.ed. Atheneu, 2004, cap. 13, p. 135-144.

- GIESTA, R. P. Fatores envolvidos na refratariedade do linfoma de Hodgkin clássico ao tratamento inicial com o esquema ABVD no Ceará – Brasil. Dissertação (Mestrado em Patologia) Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.
- GRIMALDI, C. M.; CLEARY, J.; DAGTAS, S.; et al. Estrogen alters thresholds for B cell apoptosis and activation. **Journal of Clinical Investigation**, vol. 109, n. 12, p. 1625-1633, 2002.
- HARRIS, C. C.; HOLLSTEIN, M. Clinical implications of the p53 tumor supressor gene. **N Engl. J. Med.** vol.329, p.1318-1327, 1993.
- HERBST, H.; FOSS, H.; SAMOL, J.; et al. Frequent expression of interleukin-10 by Epstein-Barr virus-harboring tumor cells of Hodgkin's disease. **Blood**, vol. 87, n. 7, p. 2918-2929, 1996.
- IGARASHI, H.; KOURO, T.; YOKOTA, T.; et al. Age and stage dependency of estrogen receptor expression by lymphocyte precursors. **PNAS**, vol.98, n. 26. p.15131-15136, 2001.
- IMAMURA, J.; MIYOSHI, I.; KOEFFLER, H. P.. p53 in Hematologic Malignancies. **Blood**, vol. 84, n. 8, p. 2412-2421, 1994.
- ISSA, J. P. J.; ZEHNBauer, B. A.; CIVIN, C. I.; et al. The Estrogen Receptor CpG Island Is Methylated in Most Hematopoietic Neoplasms. **Cancer Research**, vol 56, p. 973-977, 1996.
- JAFFE, ES; HARRIS, NL; STEIN, H; VARDIMAN, J. W. **World Health Organization Classification of Tumors. Pathology and Genetics of Tumours of Hematopoietic and Lymphoid Tissues.** Lyon: IARC Press; 2001.
- JARRET, R. Viruses and Hodgkin's lymphoma. **Annals of Oncology** vol. 13, Supl 1, p. 23-29, 2002.
- JARRET, R. Risk Factors for Hodgkin's Lymphoma by EBV Status and Significance of Detection of EBV Genomes in Serum of Patients with EBV-Associated Hodgkin's Lymphoma. **Leukemia and Lymphoma**, vol.44 Supl 3, p. S27-S32, 2003.
- JOSTING, A.; WOLF, J.; DIEHL, V. Hodgkin disease: prognostic factors and treatment strategies. **Current Opinion in Oncology**, vol. 12, p. 403-411, 2000.
- KHETAWAT, G.; FARADAY, N.; NEALEN, M. L.; et al. Human megakaryocytes and platelets contain the estrogen receptor  $\beta$  and androgen receptor (AR): testosterone regulates AR expression. **Blood**, vol. 95, n. 7, p. 2289-2296, 2000.
- KING, A.; GARDNER, L.; LOKE, Y.W.. Evaluation of oestrogen and progesterone receptor expression in uterine mucosal lymphocytes. **Human Reproduction**, vol. 11, n. 5, p. 1079-1082, 1996.
- KODURU, P.R.K.; RAJU, K.; VADMAL, V.; et al. Correlation Between Mutation in p53, p53 Expression, Cytogenetics, Histologic Type, and Survival in Patients With B-Cell Non-Hodgkin's Lymphoma. **Blood**, vol. 90, n. 10, p. 4078-4091, 1997.

KONSTANTINOPOULOS, P. A.; KOMINEA, A.; VANDOROS, G.; et al. Oestrogen receptor beta (Er $\beta$ ) is abundantly expressed in normal colonic mucosa, but declines in colon adenocarcinoma paralleling the tumor's dedifferentiation. **European Journal of Cancer**, vol. 39, p. 1251-1258, 2003.

LAMB, P.; CRAWFORD, L. . Characterization of the human p53 gene. **Molecular and Cellular Biology**, vol. 6, n. 5, p. 1379-1385, 1986.

LEROY, K.; HAIOUN, C.; LEPAGE, E.; et al. P53 gene mutations are associated with poor survival in low and low-intermediate risk diffuse large B-cell lymphomas. **Annals of Oncology**, vol. 13, p. 1108-1115, 2002.

LI, Q.; KOPECKY, K. L.; MOHAN, A.; et al. Estrogen receptor methylation is associated with improved survival in adult acute myeloid leukemia. **Clinical Cancer Research**, vol. 5, p. 1077-1084, 1999.

MACK, T.; COZEN, W.; SHIBATA, D. K.; et al. Concordance for Hodgkin's disease in identical twins suggesting genetic susceptibility to the young-adult form of the disease. **New England Journal of Medicine**, vol. 332, n. 7, p. 413-418, 1995.

MacMAHON, B. Epidemiology of Hodgkin's Disease. **Cancer Research**, vol. 26, parte 1, p. 1189-1200, 1966.

MAGALHÃES, S.M.M.; PONTE, L. P.; FERREIRA, F. V. A.; et AL. p53 overexpression in refractory anemia. A immunohistochemical analysis of bone marrow biopsies. **Haematologica**, vol. 84, n.4, p. 377-378, 1999.

MAGGIO, E.; VAN DEN BERG, A.; DIEPSTRA, A.; et al. Chemokines, cytokines and their receptors in Hodgkin's lymphoma cell lines and tissues. **Annals of Oncology** vol. 13, Supl 1, p. 52-56 – 2002

MARAFIOTI, T.; HUMMEL, M.; FOSS, H.; et al. Hodgkin and Reed-Sternberg cells represent na expansion of a single clone originating from a germinal center B-cell with functional immunoglobulin gene rearrangements but defective immunoglobulin transcription. **Blood**, vol. 95 n.4 p.1443-1450, 2000.

MASSARO, D.; CLERCH, L. B.; MASSARO, G.D. Estrogen receptor- $\alpha$  regulates pulmonary alveolar loss and regeneration in female mice: morphometric and gene expression studies. **Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol**, vol. 293, p. L222-L228, 2007.

MARTINEZ, L.; KREMER, M.; KELLER, G.; et al. P53 Mutations in Nasal Natural Killer/T-Cell Lymphoma from Mexico. **American Journal of Pathology**, vol. 159, p. 2095-2105, 2001.

McMURRAY, R. W.; SUWANNAROJ, S.; NDEBELE, K.; et al. Differential effects of sex steroids on T and B cells: Modulation of cell cycle phase distribution, apoptosis and bcl-2 protein levels. **Pathobiology**, vol.69, n.1, p. 44-58, 2001.

- MEDINA, K. L.; STRASSER, A.; KINCADE, P. W.. Estrogen influences the differentiation, proliferation, and survival of early B-lineage precursors. **Blood**, vol. 95, n. 6, p. 2059-2067, 2000.
- MELO, N.; HOBDDAY, C.; DOWSETT, M.; et al. Oestrogen receptor (ER) analysis in B-cell chronic lymphocytic leukemia: correlation of biochemical and immunocytochemical methods. **Leukemia Research**, vol. 14, p. 949-952, 1990.
- MOLLER, M. B.; GERDES, A. M.; SKJODT, K.; et al. Disrupted p53 Function as Predictor of Treatment Failure and Poor Prognosis in B- and T-Cell Non-Hodkin's Lymphoma. **Clinical Cancer Research**, vol. 5, p. 1085-1091, 1999.
- NAKAMURA, H.; SAID, J. W.; MILLER, C.W.; et al. Mutation and Protein Expression of p53 in Acquired Immunodeficiency Syndrome-Related Lymphomas. **Blood**, vol. 82, n. 3, p.920-926, 1993.
- NICOTERA, P.; MELINO, G.. Regulation of the apoptosis-necrosis switch. **Oncogene**, vol.23, p. 2757-2765, 2004.
- PINTO, M. T.; FERREIRA, F. V. A.; PITOMBEIRA, M. S.; et al. Analysis of the association between Epstein-Barr virus and classic Hodgkin's lymphoma in adult patients from Ceará (Brazil) by immunohistochemistry and *in situ* hybridization. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, vol. 42, n.3, p. 201-205, 2006.
- PITOMBEIRA, M. S.; FERREIRA, F. V. A.; MARTINS, J. M.. Doença de Hodgkin I – Perfil Histopatológico no Estado do Ceará. **Rev. Med. Universidade Federal do Ceará**, vol. XXI-XXII nº ½ - p. 19-28, 1981/1982.
- POLLANEN, R.; SOINI, Y.; VAHAKANGAS, K.; et al. Aberrant p53 protein expression in cervical intra-epithelial neoplasia. **Histopathology**, vol. 23, n. 5, p. 471-474. 1993.
- RAINHO, C.A.; ESTEVES, L.I.C.V.; ROGATTO, S. R.. Mecanismos epigenéticos do Câncer. In: *Oncologia Molecular*, Ferreira, C. G. e Rocha, J. C. 1ª. Ed. Atheneu, 2004, cap. 8, p. 87-96.
- RIES, G.; KOSARY, L.; HANKEY, F.; MILLER, A.; EDWARDS, K. **SEER Cancer Statistics Review, 1973-1995**. National Cancer Institute, 1998.
- SAPINO, A.; CASSONI, P.; FERRERO, E.; et al. Estrogen receptor  $\alpha$  is a novel marker expressed by follicular dendritic cells in lymph nodes and tumor-associated lymphoid infiltrates. **American Journal of Pathology**, vol. 163, n. 4, p. 1313-1320, 2003.
- SHIM, G. J.; GHERMAN, D.; KIM, H. J.; et al. Differential expression of oestrogen receptors in human secondary lymphoid tissues. **Journal of Pathology**, vol. 208, p. 408-414, 2006.
- SILVA, R.L.A. Oncogenes e genes supressores de tumor. In: *Oncologia Molecular*, FERREIRA, C.G. e ROCHA, J.C.. 1ª. Ed. Atheneu, 2004, cap. 3, p. 29-42.



- SKIBOLA, C.; LIGTHFOOT, T.; AGANA, L.; et al. Polymorphisms in cytochrome P450 17A1 and risk of non-Hodgkin lymphoma. **British Journal of Haematology**, vol. 129, p. 618-621, 2005.
- SMITHSON, G.; MEDINA, K.; PONTING, I.; et al. Estrogen suppresses stromal cell-dependent lymphopoiesis in culture. **The Journal of Immunology**, vol. 155, p. 3409-3417, 1995.
- SOARES, F. A. A classificação morfológica e os aspectos histológicos do linfoma de Hodgkin. In: Hematologia Fundamentos e Prática. ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R.. 1ª. Ed. Atheneu, 2001, cap. 55, p. 599-607.
- SPECTOR, N. Doença de Hodgkin. In: Hematologia Fundamentos e Prática, ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R.. 1ª. Ed. Atheneu, 2001, cap. 56, p. 609-625.
- SPECTOR, N. Abordagem atual dos pacientes com doença de Hodgkin. **Rev. Bras. Hematologia e Hemoterapia**, vol. 26, n. 1, p. 35-42, 2004.
- SPECTOR, N.; MILITO, C. B.; BIASOLI, I.; et al. The prognostic value of the expression of Bcl-2, p53 and LMP-1 in patients with Hodgkin's lymphoma. **Leukemia Lymphoma**, vol. 46, n. 9, p. 1301-1306, 2005.
- STARATSCHEK-JOX, A.; SHUGART, Y. Y.; STROM, S. S.; et al. Genetic susceptibility to Hodgkin's lymphoma and to secondary cancer: workshop report. **Annals of Oncology**, vol 13, supl. 1, p. 30-33, 2002.
- STEIN, R.; MORGAN, D. Hodgkin Disease. In: Wintrobe's Clinical Hematology, Vol.II págs 2521-2554, 11a. ED. Lippincott Williams & Wilkins, 2004.
- TANDLE, A.; BLAZER, D.G.; LIBUTTI, S.K.. Antiangiogenic gene therapy of cancer: recent developments. **Journal of Translational Medicine**, vol. 2, p. 22-42, 2004.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ. Sistema de Bibliotecas. Guia para normalização de trabalhos acadêmicos de acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). Fortaleza, 2003.
- USHMOROV, A.; LEITHAUSER, F.; SAKK, O.; et al. Epigenetic processes play a major role in B-cell-specific gene silencing in classical Hodgkin lymphoma. **Blood**, vol.107, n. 6, p. 2493-2500, 2006.
- VASSALLO, J.; PAES, R. P.; SOARES, F. A.; et al. Histological classification of 1,025 cases of Hodgkin's lymphoma from the State of São Paulo, Brasil. **São Paulo Medical Journal**, vol. 123, n. 3, 2005.
- VELCULESCU; EL-DEIRY. Biological and clinical importance or the p53 tumor supressor gene. **Clin Chem**. V.42, n. 6 p. 858-868, 1996.

VILLUENDAS, R.; PIRIS, M. A.; ALGARA, P.; et al. The expression of p53 protein in non-Hodgkin's lymphomas is not always dependent on p53 gene mutations. **Blood**, vol 82, n.10, p. 3151-3156, 1993.

WASIELEWSKI, R.; SETH, S.; FRANKLIN, J.; et al. Tissue eosinophilia correlates strongly with poor prognosis in nodular sclerosing Hodgkin's disease, allowing for known prognostic factors. **Blood**, vol.95, n. 4, p. 1207-1213, 2000.

WATSON, C.; PAPPAS, T.C.; GAMETCHU, B.. The Other Estrogen Receptor in the Plasma Membrane: Implications for the Actions of Environmental Estrogens. **Environmental Health Perspectives**, vol. 103, Supl.7, p. 41-50, 1995.

WATTEL, E.; PREUDHOMME, C.; HECQUET, B.; et al. p53 mutations are associated with resistance to chemotherapy and short survival in hematologic malignancies. **Blood**, vol. 84, n.9, p. 3148-3157, 1994.

<http://www.inca.gov.br>, acessado em: 20 nov. 2006

YUNG, L. Hodgkin's lymphoma. **Lancet**, vol 361, p. 943-951, 2003.

## ANEXO 1: PROTOCOLO DE PESQUISA

## PROTOCOLO

INSTITUIÇÃO: \_\_\_\_\_ PRONT: \_\_\_\_\_ FICHA Nº: \_\_\_\_\_

NOME: \_\_\_\_\_ IDADE: \_\_\_\_ SEXO: \_\_\_\_ COR: \_\_\_\_\_

EST. CIVIL: \_\_\_\_\_ NATURAL: \_\_\_\_\_ PROC: \_\_\_\_\_ PROFISSÃO: \_\_\_\_\_

1º SINTOMA: \_\_\_\_\_ DATA: \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_ 1ª. CONSULTA: \_\_\_\_\_

LOCAL. 1º GÂNGLIO: \_\_\_\_\_ DATA: \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_

 FEBRE  PERDA DE PESO  PRURIDO  SUDORESE  DOR ASS.ÁLCOOL

ANTECEDENTES: \_\_\_\_\_

VACINAS: \_\_\_\_\_ SOROLOGIAS: \_\_\_\_\_

 TABAGISMO  ETILISMO  DROGAS  MONONUCLEOSE  RADIAÇÃO  TRANSFUSÕES ( \_\_\_\_\_ )

TIPO HISTOLÓGICO: \_\_\_\_\_ ESTADIAMENTO CLÍNICO: \_\_\_\_\_

IMUNOFENOTIPAGEM: \_\_\_\_\_

 MEDIASTINO  BAÇO  FÍGADO  MÉDULA ÓSSEA  OUTROS: \_\_\_\_\_

TC: \_\_\_\_\_ US: \_\_\_\_\_ RX: \_\_\_\_\_

DATA DO ANAT. PATOL.: \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_ BLOCO: \_\_\_\_\_

TRATAMENTO:

 ABVD  ESHAP  MOPP  DHAP  ICE  DEXA-BEAM  CMVA  MOPP-ABV

OUTROS: \_\_\_\_\_

RADIOTERAPITA: \_\_\_\_\_

RESULTADO:  RC  RP  SR  RECIDIVA DATA: \_\_\_\_\_

OBSERVAÇÕES: \_\_\_\_\_

RESULTADOS DA PESQUISA:

--

ANEXO 2: APROVAÇÃO DO PROJETO DE PESQUISA PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO HOSPITAL DO CÂNCER DO CEARÁ.

