

RESUMO

A proliferação da célula tiroideana normal é regulada por fatores de crescimento estimuladores e inibidores, que atuam através de seus receptores de membrana e, subseqüentemente, através de transdutores citoplasmáticos. Na glândula normal adulta, o equilíbrio de sinais é tal que a proliferação é mínima, enquanto nas neoplasias o crescimento resulta de um distúrbio irreversível desse equilíbrio. Apesar do número de moléculas envolvidas nesse processo ser grande, apenas um pequeno subgrupo parece estar envolvido na tumorigênese tiroideana. Tais proteínas são codificadas pelos genes *RAS*, *RET*, *NTRK1* e *TP53*. O transdutor de sinais *ras* é ativado por mutações em ponto e constitui uma alteração genética precoce nos tumores com histologia folicular. Os genes dos receptores de crescimento *RET* e *NTRK1* são alterados por rearranjos cromossômicos do tipo translocação ou inversão nos carcinomas papilares e por mutações em ponto nos medulares. As alterações do gene *TP53*, por sua vez, têm sido observadas em carcinomas tiroideanos pobremente diferenciados e na maioria dos indiferenciados, o que sugere sua participação na progressão dessas lesões. O modelo molecular da carcinogênese tiroideana, embora ainda incompleto, pode fornecer instrumentos importantes para o diagnóstico diferencial e para o desenvolvimento de novas técnicas terapêuticas nesse grupo de neoplasias. (Arq Bras Endocrinol Metab 1999;43/5: 313-324)

Unitermos: Tiróide; Câncer tiroideano; Oncogene; Gene supressor

ABSTRACT

Proliferation of the normal thyroid cell is regulated by stimulatory and inhibitory growth factors acting through their cognate cell surface receptors and subsequently through intracellular transduction pathways. In the normal adult gland, the balance of signals is such that proliferation is negligible. In the neoplastic cells, growth results from an irreversible disturbance of this equilibrium. Despite the apparent diversity of potential signal molecules that might theoretically be involved, it seems that only a small subset is capable of engendering tumor growth and is, therefore, selected in human thyroid neoplasia. Such proteins are coded for by genes *RAS*, *RET*, *NTRK1* and *TP53*. The signal transducer *ras* is activated by point mutation and constitutes an early genetic alteration in tumors displaying a follicular histology. The genetic mechanisms for activation of growth factor receptor genes *RET* and *NTRK1* are translocations or inversions in the papillary carcinomas and point mutations in the medullary carcinomas. Alterations of *TP53* gene are reported in poorly differentiated and in most undifferentiated thyroid carcinomas suggesting that *TP53* deregulation can play a significant role in the mechanism of dedifferentiation and progression of the disease. Although incomplete, the molecular model of thyroid carcinogenesis provides relevant tools for a better differential diagnosis and for the development of novel therapeutic

Nilce Barril
Eloiza H. Tajara

Departamento de Biologia, Instituto
de Biociências, Letras e Ciências
Exatas de São José do Rio Preto,
UNESP, São José do Rio Preto, SP.

Recebido em 07/10/98
Revisado em 23/07/99
Aceito em 13/08/99

avenues for such group of neoplasias. (*Arq Bras Endocrinol Metab* 1999;43/5: 313-324)

Keywords: Thyroid; Thyroid cancer; Oncogene; Tumor suppressor gene

OS TUMORES DE TIRÓIDE SÃO COMUNS no homem e aproximadamente 10% dos adultos desenvolverão um nódulo na glândula ao longo de sua vida. Embora a maioria deles seja benigna, os carcinomas têm freqüências de aproximadamente cinco casos novos por ano em 100 mil indivíduos (1,2), e uma parte deles leva seus portadores à morte (3). De maneira geral, as neoplasias tiroideanas compreendem uma ampla variedade de fenótipos que incluem os nódulos e os adenomas foliculares benignos, os carcinomas medulares, os carcinomas foliculares e papilares bem diferenciados, além das formas anaplásicas mais agressivas e geralmente fatais (4). Os tumores foliculares e papilares representam os subgrupos mais comuns, sendo os primeiros de ocorrência isolada e encapsulados, muitas vezes associados com bócio endêmico e baixos níveis de iodo, enquanto os papilares são multifocais e relacionados com exposição prévia a radiação e a altos níveis de iodo (5).

Na tiróide, a célula folicular, que produz hormônio e concentra iodo, constitui o principal alvo durante o processo de tumorigênese. Sua transformação, que envolve estágios múltiplos e bem caracterizados morfológicamente, é consequência de dois mecanismos básicos: o estímulo não genotóxico para a proliferação e o acúmulo de mutações em genes relacionados com o controle do crescimento (6). O primeiro deles efetua-se geralmente via hormônio tireotrófico (TSH) da hipófise e, em função da elevação da taxa de divisão celular, aumenta a probabilidade de ocorrência de mutações genéticas. O segundo é decorrente da sensibilidade da glândula a fatores genotóxicos ambientais, tais como a radiação, especialmente após dano vascular (7-9).

O estímulo para crescimento, atuando isoladamente, leva ao desenvolvimento apenas de tumores benignos. Sua combinação com eventos mutagênicos, entretanto, em especial em oncogenes e genes supressores específicos, pode resultar na aquisição de fenótipos malignos que incluem proliferação excessiva, comportamento invasivo e metástase. A identificação dos genes alterados, da natureza das mutações e de seus efeitos sobre a estrutura e função da célula pode levar a um modelo de carcinogênese na tiróide, semelhante àquele desenvolvi-

do por Cho & Vogelstein (1992) (10) para a seqüência adenoma-carcinoma colorretal.

A tiróide oferece uma oportunidade única para desenvolvimento de um modelo desse tipo. Apresenta um grande número de lesões, seu epitélio é homogêneo na organização, no comportamento e na diferenciação e oferece rotas alternativas de progressão neoplásica que levam a patologias clinicamente distintas: o carcinoma papilar, o folicular e o medular. Os dois primeiros são aparentemente derivados da célula folicular e diferem quanto à morfologia, ao padrão de desenvolvimento e aos genes envolvidos enquanto o último origina-se da célula C produtora de calcitonina (11,12).

A proliferação das células foliculares da tiróide é regulada, primariamente, por sinais externos estimuladores, como o TSH, o IGF-1 (fator 1 de crescimento semelhante à insulina) e outros fatores de crescimento, e por sinais inibidores, como o fator β de crescimento tumoral (TGF β) e pela presença ou ausência de substâncias que, secundariamente, interferem na síntese ou no metabolismo do hormônio tiroideano, como o iodo. A mensagem iniciada por esses sinais converge para um mecanismo central regulador do ciclo celular, do qual participam muitos componentes responsáveis pela passagem das células de um estágio a outro do ciclo, como as ciclinas e as quinases dependentes de ciclinas (cdks), a proteína pRB, os inibidores de complexos cdks/ciclinas, as proteínas relacionadas com a manutenção da integridade do genoma e muitos fatores de transcrição (13).

Na tiróide normal, os sinais extracelulares estimuladores e inibidores atuam de forma equilibrada regulando a taxa de divisão celular (Figura 1). Nas neoplasias, ocorre um distúrbio irreversível desse equilíbrio através de mutações em um grupo de moléculas, que inclui os receptores de membrana para fatores de crescimento, as proteínas citoplasmáticas transdutoras de sinais e os fatores nucleares (14-19).

RECEPTORES DE MEMBRANA PARA FATORES DE CRESCIMENTO

Os principais receptores de fatores de crescimento envolvidos no câncer de tiróide não são aqueles previstos pela fisiologia normal da glândula, isto é, o receptor do TSH, do fator de crescimento epidérmico (EGF) e do IGF-1. Ao contrário, os genes preferencialmente atingidos são o *NTRK1* e o *RET*.

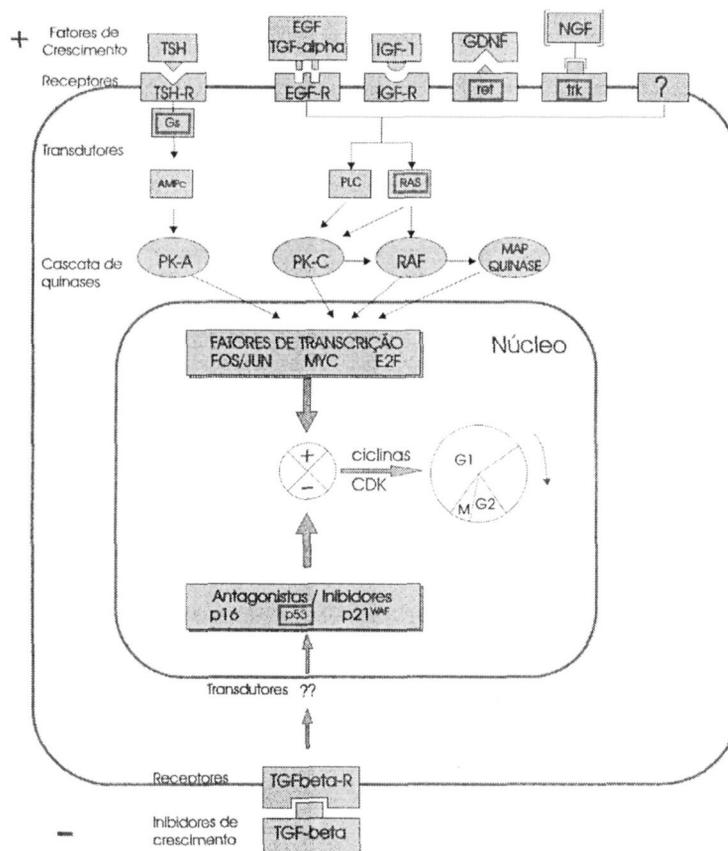


Figura 1. Modelo representativo da interação de sinais estimuladores e inibidores envolvidos na expressão de genes que atuam no ciclo celular das células foliculares da tireóide (adaptado de Wynford-Thomas, 1993).

O gene *NTRK1* ou *TRKA* foi mapeado na banda cromossômica 1q22 (20) e codifica um receptor para fatores neurotróficos (NGF), que são importantes na sobrevivência e na manutenção de células nervosas (21). O gene contém 17 exons responsáveis pela codificação de uma proteína transmembrânica de 140 Kd (Figura 2), que possui um domínio citoplasmático de tirosina quinase e uma região extracelular com um motivo rico em leucina flanqueado por resíduos de cisteína (22). Recentemente, mutações constitucionais em ponto nesse gene foram descritas em uma doença autossômica recessiva que se caracteriza por insensibilidade congênita à dor com anidrose (23).

O gene *RET* (*rearranged during transfection*) está localizado na banda cromossômica 10q11.2 (24) e apresenta uma seqüência formada por 21 exons com 4.726 nucleotídeos (25,26). Codifica três isoformas de uma proteína de membrana semelhante ao receptor do fator de crescimento epidérmico, que diferem entre si

por terem 51, 43 ou 9 aminoácidos na sua extremidade carboxila, em virtude de *splicing* alternativo do RNA mensageiro (*RET51*, *RET43* ou *RET9*). As isoenzimas são caracterizadas por três diferentes domínios: o extracelular, com uma região rica em cisteína e um sítio com homologia a caderinas, o transmembrânico e o citoplasmático, com atividade quinase (27-29). A presença do sítio com homologia a caderinas sugere a possibilidade de sua interação com Ca^{++} e de sua relação com adesão celular (28).

O ligante da proteína *ret* é o fator neurotrófico derivado de linhagem celular de *glia* (*GDNF*), um membro distante do fator β de crescimento transformante (30). A resposta fisiológica a esse fator requer a presença de uma outra proteína, a *DNFR α* , que forma um complexo com *GDNF* e com *ret* induzindo a dimerização e a autofosforilação dessa última, com conseqüente fosforilação de tirosinas no substrato citoplasmático correspondente (31). Várias proteínas são fosforiladas, ativadas ou

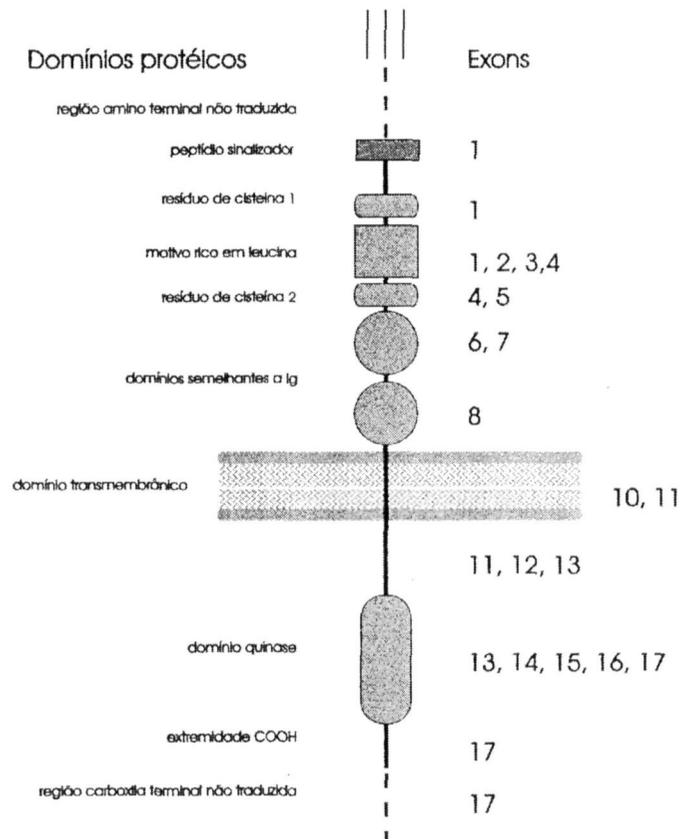


Figura 2. Representação esquemática da proteína *NTRK1* e a contribuição de cada exon para a sua estrutura (adaptado de Greco et al., 1996).

associadas com a *ret*, entre elas a p21^{ras}, a PLC γ , a Shc e a Grb2 (29). Tanto o gene *GDNF* como o *RET* têm sido ligados ao desenvolvimento da doença de Hirschsprung, uma malformação congênita causada pela ausência de neurônios no intestino, que afeta 1 em 5.000 recém-nascidos (32). A presença de uma mutação constitucional que leva à perda de função do *RET* sugere que esse gene, além de um papel na tumorigênese, está envolvido no desenvolvimento do sistema nervoso entérico.

Os genes *RET* e *NTRK1* codificam receptores que mostram expressão elevada em células derivadas da crista neural que, na tireóide, são representadas pelas células C. Essas células são localizadas adjacentes às foliculares e ajudam a regular os níveis de cálcio sérico através da síntese e secreção de calcitonina. As mutações em ponto no gene *RET* são consistentes nas formas hereditárias e esporádicas dos tumores medulares (33-35), que são provenientes das células C, enquanto alterações cromossômicas resultando em rearranjos do domínio quinase dos dois genes parecem ser um dos principais mecanismos da malignização da célula folicular, especialmente no carcinoma papilar (Tabela 1) (12).

Nesse último tipo de carcinoma, a ativação do gene *RET* ocorre por inversões ou translocações que originam diferentes oncogenes quiméricos, inicialmente designados por PTC (*papillary thyroid carcinoma*) ou, mais precisamente, por *RET/PTC1*, 2 e 3 (Figura 3). No *RET/PTC1*, o domínio quinase e o terminal 3' do *RET* são fundidos, após inversão, com a seqüência 5' de um outro gene, o *H4/D10S170*, localizado na banda 10q21. O ponto de quebra no *RET* ocorre em uma seqüência intrônica localizada entre os exons 11 e 12 e, no *H4/D10S170*, a quebra pode ocorrer em várias posições diferentes ao longo de um intron com aproximadamente 30 Kb (36,37). No *RET/PTC2* e 3, os rearranjos envolvem, respectivamente, um gene mapeado em 17q23 e responsável pela sub-unidade reguladora RI α da proteína quinase A (RI α PKA), que é um receptor do AMPc (monofosfato de adenosina cíclico) do tipo I (38), e um gene ainda não conhecido chamado de RFG (*RET-fused gene*) ou ELE1, localizado em 10q11.2 (37). Recentemente, foi descrito o rearranjo *RET/PTC4*, que também envolve o gene ELE1, mas com ponto de quebra diferente daquele observado no PTC3 (39).

A frequência dos rearranjos *RET*/*PTC* varia significativamente em regiões geográficas distintas, o que pode ser explicado por diferentes fatores ambientais e genéticos atuando nas populações estudadas (40,41). A ativação do protooncogene *RET*/*PTC1* e *RET*/*PTC4*, por exemplo, tem sido observada com frequências elevadas em populações que foram expostas à radioatividade (8,9,42,43,92).

A relevância clínica dos rearranjos citados em carcinomas papilares não está bem esclarecida. Alguns autores têm sugerido sua ligação com comportamento agressivo da lesão enquanto outros mostram dados contrários a essa hipótese ou, então, associação com idade de início precoce e envolvimento linfático (14). Wirtschafter et al. (1997) (44), por exemplo, demonstraram níveis elevados do RNAm dos genes *RET*/*PTC1* e *RET*/*PTC3* em pacientes portadores de tireoidite de Hashimoto, uma doença inflamatória autoimune, sem câncer papilar evidente.

No caso do gene *NTRK1*, sua ativação é realizada por mecanismos semelhantes aos observados para o gene *RET* como, por exemplo, a inversão que gera o oncogene *TRK* (*tropomyosin receptor kinase*), resultante da ligação do domínio quinase com as seqüências de um gene da tropomiosina, o *TPM3*, localizadas na banda 1q31 (45). Em alguns casos, esse domínio quinase é translocado para seqüências do gene *TPR* (*translocated promoter region*) mapeadas em 1q25, que foram originalmente identificadas como parte do oncogene *MET* e, nos últimos anos, como o gene codificador de um componente do complexo do

poro nuclear. Tal rearranjo é conhecido como *TRK-T1* e outros rearranjos envolvendo os mesmos dois genes, *TPR* e *NTRK1*, têm sido observados em carcinomas papilares e designados, respectivamente, *TRK-T2* e *TRK-T4* (46-48). Embora nesses dois últimos os pontos de quebra sejam diferentes, eles ocorrem dentro do mesmo intron, tanto do *TPR* como do *NTRK1*. Em consequência, ambos transcrevem o mesmo RNAm que é traduzido em uma oncoproteína de 1.323 aminoácidos. A caracterização molecular desses últimos rearranjos evidenciou que, da mesma forma que no *TRK-T1*, uma inversão do braço longo do cromossomo 1 é o mecanismo de ativação oncogênica (Tabela 1). Os estudos realizados por Greco et al. (1997) (47) demonstraram que os oncogenes *TRK-T2* e *TRK-T1* são estruturalmente muito diferentes. A porção *TPR* no *TRK-T2* apresenta 3.073 nucleotídeos enquanto no *TRK-T1* são observados apenas 598 nucleotídeos (Figura 3).

Além desses, um quarto tipo de ativação foi descrito, o *TRK-T3*, que apresenta o domínio quinase do *NTRK1* precedido por seqüências do gene *TFG* (*TRK fused gene*) mapeado no cromossomo 3 (48,49).

A análise comparativa dos oncogenes acima descritos em carcinomas papilares permite algumas conclusões. Na maioria dos casos, o rearranjo ativador é uma inversão e parecem existir regiões mais frequentemente envolvidas nas quebras. Após a fusão do domínio quinase desses genes, *RET* e *NTRK1*, com a extremidade 5' terminal de um outro, sua expressão, que é normalmente restrita a células neurais, passa a ocorrer nas

Tabela 1. Resumo dos principais rearranjos e mutações dos genes *RET* e *TRK* em diferentes doenças da tireóide (CP= carcinoma papilar; MEN= neoplasia endócrina múltipla; CME= carcinoma medular esporádico; FMTC= carcinoma medular familiar).

Protooncogene	Em ponto	Mutação			Doenças	
		Rearranjo cromossômico	Gene associado			Gene Quimérico
		Tipo	Designação	Locus		
NTRK1		inv (1)	TPM3	1q31	'TRK'	CP
NTRK1		inv (1)	TPR	1q25	TRK-T1	CP
NTRK1		t (1q;3)	TFG	3(q?)	TRK-T2, T4 TRK-T3	CP
RET		inv (10)	H4	10q21	RET/ <i>ptc1</i>	CP
RET		(q11.2q21)	R1 α	17q23	RET/ <i>ptc2</i>	CP
RET		t (10;17)	ELE1	10q11.2	RET/ <i>ptc3</i>	CP
RET		(q11;q23)	RFG			
RET	códon 918					MEN2B, CME
RET	códons 609, 611, 618, 620, 630, 634					MEN2A, FMTC

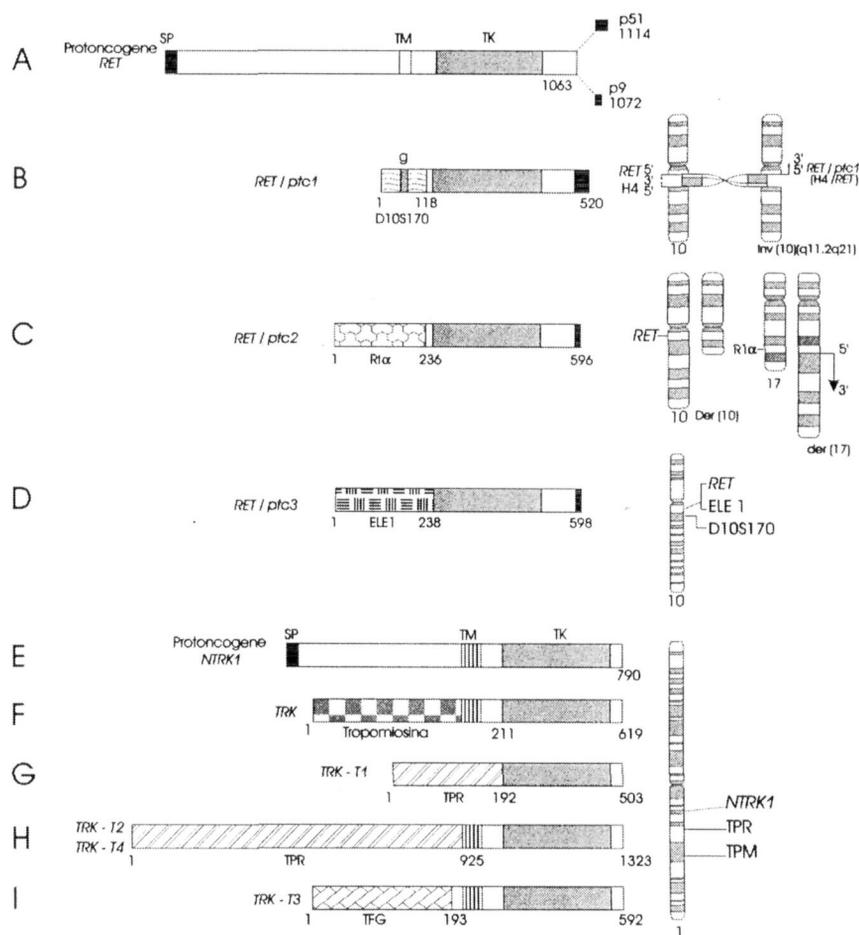


Figura 3. Representação esquemática dos genes *RET* (A) e *NTRK1* (E) e dos rearranjos *RET/ptc1* (B), *RET/ptc2* (C), *RET/ptc3* (D), *TRK* (F), *TRK-T1* (G), *TRK-T2* e T4 (H), *TRK-T3* (I). À esquerda estão apresentados os rearranjos gênicos e à direita os rearranjos cromossômicos correspondentes ou a localização dos genes envolvidos. SP= peptídeo sinalizador; TM= domínio transmembrânico; TK= domínio quinase da tirosina (adaptado de Pierotti et al., 1996).

células epiteliais mutantes da tiróide. Como consequência, ocorre autofosforilação constitutiva dos domínios citoplasmáticos do receptor, que induz sinais mitogênicos contínuos (12). Os carcinomas papilares com oncogenes *RET* e *NTRK1* rearranjados são indistinguíveis, tanto do ponto de vista morfológico como clínico. Os padrões de sinalização citoplasmática iniciada pelos seus dois produtos devem, então, ser superpostos em muitos passos, como mostram os estudos sobre a ligação desses receptores com o domínio SH2 das proteínas Shc e Grb2, que leva, possivelmente, à ativação de moléculas *ras* próximas à membrana celular (50).

Ao contrário dos rearranjos citados, as mutações pontuais têm sido verificadas somente no gene *RET* e apenas em carcinomas medulares de tiróide, tanto

esporádicos como familiares isolados ou como parte da síndrome de neoplasia endócrina múltipla-MEN 2 (33,51). As síndromes MEN incluem as formas MEN1, 2A e 2B. A primeira é caracterizada por tumores da pituitária e pancreáticos, hiperplasia da paratireóide e, ocasionalmente, por adenomas tiroideanos e da adrenal. A forma MEN2A manifesta predisposição ao câncer medular da tiróide (MTC), feocromocitoma, e hiperplasia da paratireóide, enquanto a MEN2B exhibe MTC e feocromocitoma, além de fácies típica, neuromas de mucosa, megacólon e neuromegalia. Os pacientes com a forma familiar isolada (FMTC) desenvolvem apenas carcinoma medular, o que ocorre em fases tardias da vida, ao contrário dos afetados por MEN, cujo MTC tem início na infância ou na adolescência. Todas essas condições apre-

sentam padrão de herança autossômica dominante com expressividade variável e penetrância completa. Nos casos esporádicos, os tumores são geralmente unilaterais enquanto, nos familiares (MEN 2A, 2B e FMTC), os tumores são multifocais e bilaterais, indicando nesses últimos a presença de mutações constitucionais (52).

A variedade de fenótipos observados nos carcinomas medulares tem sido associada ao tipo de alteração envolvida (Figura 4 e Tabela 1). Por exemplo, no subtipo B da síndrome MEN2, a alteração atinge, em 94% dos pacientes, o códon 918 do domínio quinase do gene *RET* e modifica a especificidade do receptor, enquanto que, no subtipo MEN 2A e no FMTC, atinge qualquer um dos seis códons para cisteína nos exons 10 (códon 609, 611, 618 e 620) e 11 (630 e 634) do domínio extracelular, causando dimerização aberrante da molécula e ativação permanente (14,53), ou atinge o exon 15 do domínio intracelular (35). Alterações somáticas no códon 918, idênticas às observadas nos casos MEN 2B familiar, também têm sido detectadas nas formas esporádicas do carcinoma medular (51,54-58).

É provável que as mutações em ponto no *RET* não sejam suficientes para a tumorigênese. Como a maioria dos pacientes com MEN2 assintomáticos manifestam hiperplasia da célula C, a ativação herdada do gene deve levar apenas à proliferação celular na tireóide, sendo necessários eventos adicionais para o desenvolvimento do câncer (59). Os padrões de sinalização cito-

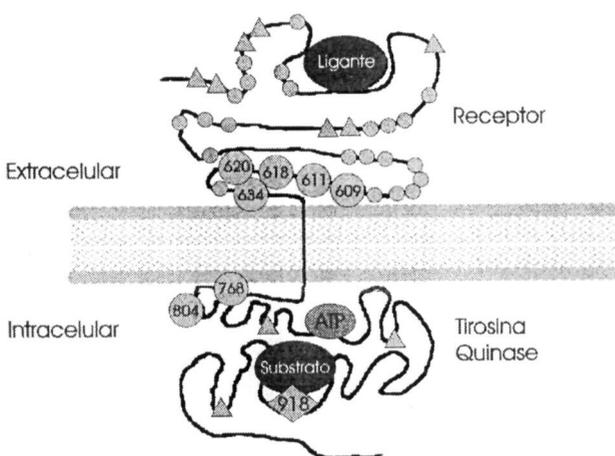


Figura 4. Representação esquemática da proteína *ret*. Os círculos representam os resíduos extracelulares ricos em cisteína. Os códons 609, 611, 618, 620, 634, 768 e 804 estão frequentemente mutados na síndrome de MEN2A e em FMTC e o códon 918 em MEN2B. Os triângulos indicam locais de mutações ou deleções descritas na doença de Hirschsprung (adaptado de Moley, 1997).

plasmática desencadeados pelas várias proteínas *ret* mutantes não devem ser os mesmos a resultar em valores prognósticos diferentes (60,61). Realmente, em pacientes com MEN2A, alteração em códons distintos parece indicar riscos diversos de desenvolvimento de feocromocitomas e hiperparatiroidismo, ou então, de associação com o fenótipo Hirschsprung (61,62). De maneira geral, as mutações no códon 918, que são associadas algumas vezes com fenótipos agressivos, podem ter um efeito importante após o desenvolvimento embrionário e fetal, uma vez que são vistas tanto nos casos esporádicos como em MEN2B. A presença apenas em casos familiares daquelas que afetam regiões da molécula ricas em cisteína devem ser críticas para a tumorigênese durante o desenvolvimento, mas não em tecidos adultos (14,33,54).

Além dessas considerações, deve ser salientado que a investigação de mutações no gene *RET* pode ser valiosa em indivíduos assintomáticos de famílias com câncer medular de tireóide. Uma conduta cirúrgica profilática, que tem morbidade baixa, é uma proposição importante durante o acompanhamento e o aconselhamento genético dos afetados (63).

Além do *RET* e do *TRK*, as lesões da tireóide podem apresentar mutações em outros genes que codificam proteínas de membrana. Seria esperado que ativações constitutivas do receptor do hormônio tireotrófico (TSHR) agissem como oncogênicas, dado que esse receptor representa o mecanismo principal pelo qual o TSH regula proliferação e diferenciação do tecido tiroideano (64). Entretanto, mutações em ponto no gene do TSHR têm sido descritas em adenomas hiperfuncionantes, que não são precursores do câncer de tireóide, e em alguns poucos carcinomas diferenciados que exibem uma resposta deficiente ao hormônio (18,65,66). Esses achados indicam que sua ativação ou de proteínas associadas pode participar da indução de processos proliferativos benignos ou conferir vantagem seletiva em clones com alterações genéticas adicionais.

A função da tireóide é controlada pelo hormônio TSH da hipófise e pelo iodo através de um mecanismo clássico de *feedback* negativo. O TSH ativa a tireóide enquanto níveis elevados de hormônio tiroideano inibem o TSH. Em situações de deficiência crônica de iodo, a estimulação pelo hormônio da hipófise é seguida por hipertrofia compensatória da glândula, dado que a tireoglobulina não é sintetizada (6). O TSH atua sobre a tireóide através do AMPc (monofosfato de adenosina cíclico) e de uma série de reações que ele desencadeia, resultando na síntese de proteínas características do estado diferenciado, entre elas a ti-

reoglobulina. Na verdade, as células da tiróide respondem a dois diferentes mecanismos: a cascata iniciada pela ligação do TSH-TSHR-AMPC e a cascata induzida por fatores de crescimento. Cada uma dessas cascatas envolve passos sucessivos de sinais intracelulares, fosforilação de substratos, transcrição gênica e síntese protéica, com superposição de algumas etapas (Figura 1). As principais diferenças entre elas resumem-se no efeito final, ou seja, na diferenciação e proliferação no caso da primeira, e na proliferação com perda de diferenciação na segunda (64).

Os sinais desencadeados pelos fatores de crescimento iniciam-se com a dimerização de seus receptores seguida da ativação de proteínas RAS, fosforilação de quinases de serinas e de quinases MAP (*mitogen-activated protein*), fosforilação de fatores de transcrição, indução de protoncogenes *c-jun*, *c-fos*, *c-myc* e outros, fosforilação de ciclinas e quinases dependentes de ciclinas (cdks) e da proteína pRb e, finalmente, liberação de fatores de transcrição E2F. A ativação constitutiva de qualquer dos fatores estimuladores dessa cascata leva a um aumento na proliferação celular. Do mesmo modo, a inativação de fatores inibidores, como os genes supressores de tumor Rb e TP53, produz o mesmo resultado (67).

As mutações nos genes RAS são encontradas em cerca de 50% de tumores foliculares benignos e malignos desde suas fases mais precoces, mas em frequência baixa nos carcinomas papilares, o que indica sua participação como iniciador da oncogênese em alguns grupos de lesões tiroideanas (11,68,69).

Uma outra seqüência de eventos, desencadeada por receptores de superfície e seus ligantes, é iniciada pela ativação de proteínas G da membrana com liberação das sub-unidades α e $\beta\gamma$ dessas proteínas. O sinal resultante estimula a p21^{ras} e também segue através das quinases MAP. Outro caminho na transdução dessa mensagem compreende a hidrólise de substratos pela fosfolipase C (PLC) com produção de diacilglicerol (DAG), ativação da proteína quinase C e, posteriormente, das quinases MAP (70).

No caso da cascata induzida pelo TSH, o seu receptor também ativa as proteínas G e, em seqüência, o AMPc, as quinases dependentes do AMPc e outras proteínas alvo não conhecidas mas diferentes daquelas envolvidas nos eventos iniciados pelos fatores de crescimento. O sinal converge para a indução de ciclinas e quinases dependentes de ciclinas e qualquer alteração em uma das etapas terá as mesmas conseqüências, ou seja, proliferação e diferenciação (64). Por exemplo, mutações em ponto que suprimem a atividade das proteínas G resultan-

do em estimulação contínua (71) levam a tumores tiroideanos hiperfuncionantes, os chamados adenomas tóxicos, e também aos carcinomas papilares com produção aumentada de hormônio tiroideano (11).

SUPRESSORES DE TUMOR

Do mesmo modo que ocorre em outros tipos de neoplasmas epiteliais, a progressão do processo maligno na tiróide depende não apenas da ativação de oncogenes mas também da inativação de genes supressores de tumor, como o TP53. Esse gene, localizado na banda p13 do cromossomo 17 (72), corresponde a uma seqüência de 16-20 Kb com 11 exons (73) e é o gene mais freqüentemente mutado em neoplasias humanas. A fosfoproteína nuclear de 53 Kd por ele codificada pode inibir a proliferação celular através do bloqueio da transcrição de outros genes e participa de muitas funções biológicas importantes, incluindo regulação do ciclo celular, diferenciação e morte celular programada ou apoptose. As alterações no gene que levam à sua inativação são em geral do tipo deleções ou mutações em ponto e muitas vezes têm um efeito dominante negativo (74,75).

O processo da tumorigênese tiroideana é particularmente instrutiva em relação à atuação do TP53 no processo de perda da diferenciação e no comportamento da célula tumoral. Mutações nesse gene são extremamente raras em ambas as formas de câncer diferenciado, o papilar e o folicular, mas são comuns nos tipos anaplásicos e pobremente diferenciados, o que sugere serem elas eventos finais da tumorigênese, com participação na progressão e na agressividade das lesões (76-82). A favor dessa hipótese, estão os resultados obtidos por Moretti et al. (1997) (83), em uma linhagem celular de carcinoma anaplásico positiva para o p53 mutado que, após a transfecção do gene selvagem, demonstrou supressão da agressividade e do fenótipo indiferenciado.

Em relação aos tumores medulares, que também representam formas diferenciadas do câncer tiroideano, os poucos dados sobre o papel do gene TP53 na sua iniciação e evolução são contraditórios, alguns destacando a importância da sua participação enquanto outros sugerindo um pequeno ou nenhum envolvimento no desenvolvimento desses tumores (citado por 84).

De maneira geral, é pouco provável que o gene TP53 seja o único supressor que participe do processo neoplásico na tiróide (85). Existem alguns dados, nem sempre confirmados, mostrando que outras proteínas inibidoras estão envolvidas, como por exemplo a p21^{WAF1} e a p16 (86-88). Ambas são responsáveis pelo bloqueio do ciclo celular em G1 através da

inibição dos complexos ciclina/quinase dependente de ciclina (89-91) e mutações nos seus genes ou alterações da sua expressão certamente podem ter efeitos importantes no controle da proliferação celular.

Em um estudo recente desenvolvido por Ward et al. (1998) (93), foi observado que ocorre perda de heteroziguidade (LOH) em diferentes regiões do genoma em tumores benignos e malignos da tiróide, o que sugere a participação de genes supressores de tumor no processo neoplásico. É interessante que, nesse trabalho, os autores verificaram uma distinção nítida entre o carcinoma folicular e papilar, tendo os primeiros uma prevalência mais alta de LOH, sugestiva de que tais tumores manifestam maior instabilidade cromossômica.

CONCLUSÕES

A evolução do câncer é um fenômeno de múltiplos passos que envolve várias alterações genéticas. No caso da tumorigênese tiroideana, muitos eventos têm sido referidos, alguns deles específicos para diferentes tipos de neoplasmas da glândula (Figura 5). A ativação dos genes *RAS*, por exemplo, repre-

senta um passo inicial e é freqüentemente observada em tumores com histologia folicular. Os rearranjos estruturais dos genes *RET* e *NTRK1* são característicos dos carcinomas papilares, enquanto as mutações em ponto no *RET* são observadas nas formas medulares. As alterações no receptor do hormônio tireotrófico e em proteínas G, por sua vez, parecem participar quase exclusivamente da indução de lesões proliferativas benignas.

O processo de progressão tumoral é ainda pouco esclarecido, sendo a única alteração consistente a presença da proteína p53 mutante, mas existem evidências sugestivas da participação de outras proteínas relacionadas com o controle do ciclo celular como, por exemplo, a p16 e a p21^{WAF1}.

A identificação dos genes que atuam na transformação da célula tiroideana e da natureza das mutações envolvidas pode trazer importantes esclarecimentos sobre os seus efeitos na estrutura e função celular e na diferenciação. Além disso, pode elucidar os mecanismos de atuação de agentes etiológicos, indicar medidas preventivas ou de tratamento e auxiliar no diagnóstico e prognóstico de diferentes condições.

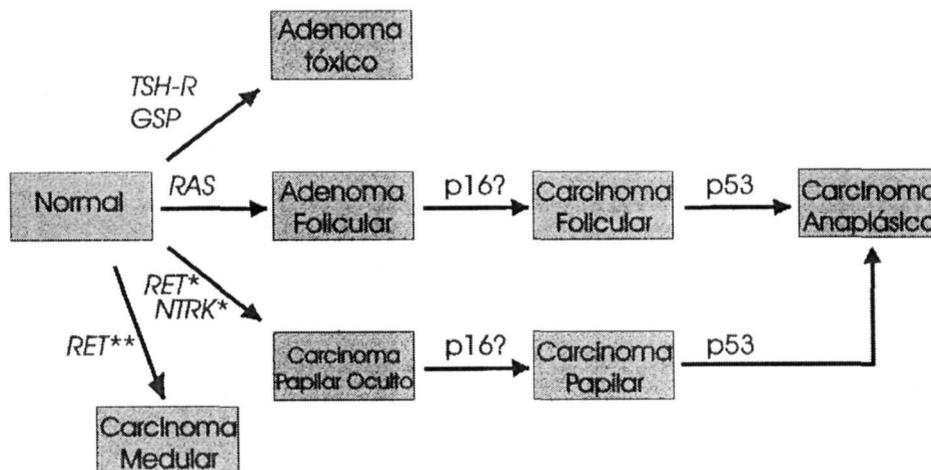


Figura 5. Diagrama das associações conhecidas entre genes específicos alterados e subtipos de tumores tiroideanos (adaptado de Wynford-Thomas, 1993).

REFERÊNCIAS

1. Salabe GB. Aetiology of thyroid cancer. **Thyroidology** 1994;6:11-9.
2. Fagin JA. Tumor suppressor genes in human thyroid neoplasms: p53 mutations are associated undifferentiated thyroid cancers. **J Endocrinol Invest** 1995;18:140-2.
3. Gupta KL. Neoplasm of the thyroid gland. **Clin Geriatric Med** 1995;11:271-90.
4. Wartofsky L, Ingbar SH. Diseases of thyroid. In: **Harrisons Principles Of Internal Medicine**. JD Wilson, ed; 12th ed.; New York; McGraw-Hill Inc, 1991:1692-712.
5. Guyton AC, All J. **Tratado de Fisiologia Médica**. Ed Guanabara Koogan S/A; Rio de Janeiro, 1997.
6. Williams ED. Mechanisms and pathogenesis of thyroid cancer in animals and man. **Mutation Res** 1995;333:123-9.
7. Mizuno T, Kyoizumi S, Suzuki T, Iwamoto KS, Seyama T. Continued expression of a tissue specific activated oncogene in the early steps of radiation-induced human thyroid carcinogenesis. **Oncogene** 1997;15:1455-60.
8. Nikiforov YE, Rowland JM, Bove KE, Monforte-Munoz H, Fagin JA. Distinct pattern of *ret* oncogene rearrangements in morphological variants of radiation-induced and sporadic thyroid papillary carcinomas in children. **Cancer Res** 1997;57:1690-4.
9. Nagataki S, Ashizawa K, Yamashita S. Cause of childhood thyroid cancer after the Chernobyl accident. **Thyroid** 1998;8:115-7.
10. Cho KR, Vogelstein B. Genetic alterations in the adenoma-carcinoma sequence. **Cancer** 1992;70:1727-31.
11. Wynford-Thomas D. Molecular genetics of thyroid cancer. **Trends Endocrinol Metab** 1993;4:224-32.
12. Pierotti MA, Bongarzone I, Borrello MG, Greco A, Pilotti S, Sozzi G. Cytogenetics and molecular genetics of carcinomas arising from thyroid epithelial follicular cells. **Genes Chromosom Cancer** 1996;16:1-14.
13. Wynford-Thomas D. Origin and progression of thyroid epithelial tumors: cellular and molecular mechanisms. **Horm Res** 1997;47:145-57.
14. Komminoth P. The *ret* proto-oncogene in medullary and papillary thyroid carcinoma. molecular features, pathophysiology and clinical implications. **Virchows Arch** 1997;431:1-9.
15. Romano MI, Grattone M, Karner MP, Moiguer S, Tetelbaum F, Romano LA, et al. Relationship between the level of c-myc mRNA and histologic aggressiveness in thyroid tumors. **Horm Res** 1993;39:161-5.
16. Oyama T, Suzuki T, Hara F, Lino Y, Ishida T, Sakamoto A, et al. *N-Ras* mutation of thyroid tumor with special reference to the follicular type. **Pathol Int** 1995;45:45-50.
17. Challeton C, Bounacer A, Du Villard J, De Vathaire F, Monier R, Schlumberger M, et al. Pattern of *ras* and *gsp* oncogene mutations in radiation-associated human thyroid tumors. **Oncogene** 1995;11:601-3.
18. Russo D, Arturi F, Schlumberger M, Caillou B, Monier R, Filetti S, et al. Activating mutations of the TSH receptor in differentiated thyroid carcinomas. **Oncogene** 1995;11:1907-11.
19. Wynford-Thomas D, Blaydes J. The influence of cell context on the selection pressure for p53 mutation in human cancer. **Carcinogenesis** 1998;19:29-36.
20. Valent A, Bernheim A. Mapping of the tyrosine kinase receptors TRKA (*NTRK1*), TRKB (*NTRK2*) and TRKC (*NTRK3*) to human chromosomes 1q22, 9q22 and 15q25 by fluorescence in situ hybridization. **Eur J Human Genet** 1997;5:102-4.
21. Klein R, Jing SQ, Nanduri V, O'Rourke E, Barbacid M. The *trk* proto-oncogene encodes a receptor for nerve growth factor. **Cell** 1991;65:189-97.
22. Greco A, Villa R, Pierotti MA. Genomic organization of the human *NTRK1* gene. **Oncogene** 1996;13:2463-6.
23. Indo Y, Tsuruta M, Hayashida Y, Karim MA, Otha K, Kawano T, et al. Mutations in the TRKA/NGF receptor gene in patients with congenital insensitivity to pain with anhidrosis. **Nature Genet** 1996;13:485-8.
24. Ishizaka Y, Ito HF, Tahira T, Ikeda I, Sugimura T, Tucker J, et al. Human *ret* proto-oncogene mapped to chromosome 10q11.2. **Oncogene** 1989;4:1519-21.
25. Takahashi M, Buma Y, Iwamoto T, Inaguma Y, Ikeda H, Hiai H. Cloning and expression of the *ret* proto-oncogene encoding a tyrosine kinase with two potential transmembrane domains. **Oncogene** 1988;3:571-8.
26. Myers SM, Eng C, Ponder BAJ, Mulligan LM. Characterization of *ret* proto-oncogene 3' splicing variants and polyadenylation sites: a novel c-terminus for *ret*. **Oncogene** 1995;11:2039-45.
27. Tahira T, Ishizaka Y, Ito HF, Sugimura T, Nagao M. Characterization of *ret* proto-oncogenes *mRNAs* encoding two isoforms of the protein product in human neuroblastoma cell line. **Oncogene** 1990;5:97-102.
28. Takahashi M, Asai N, Iwashita T, Isomura T, Miyazaki K, Matsuyama M. Characterization of the *ret* proto-oncogene products expressed in mouse L cells. **Oncogene** 1993;8:2925-9.
29. Ponder BA, Smith D. The men II syndromes and the role of the *ret* proto-oncogene. **Adv Cancer Res** 1996;70:180-222.
30. Durbec P, Marcos-Gutierrez CV, Kilkenny C, Grigoriou M, Wartiwaara K, Suvanto P, et al. GDNF signaling through the *ret* receptor tyrosine kinase. **Nature** 1996;381:789-93.
31. Jing S, Wen D, Yu Y, Holst PL, Luo Y, Fang M, et al. GDNF-induced activation of the *ret* protein tyrosine kinase is mediated by GDNFR-alpha, a novel receptor for GDNF. **Cell** 1996;85:1113-24.
32. Robertson K, Mason I, Hall S. Hirschsprung's disease: genetic mutations in mice and men. **Gut** 1997;41:436-41.
33. Fink M, Weinhaus LA, Niederle B, Haas OA. Distinction between sporadic and hereditary medullary thyroid carcinoma (MTC) by mutation analysis of the *ret* proto-oncogene. **Int J Cancer** 1996;69:312-6.
34. Leary DL, Marsh DJ, Richardson A-L. Genetic testing for familial cancer. **Arch Surg** 1997;132:1022-5.
35. Hosftra RMW, Fattoruso O, Quadro L, Wu Y, Libroia A, Verga U, et al. A novel point mutation in the intracellular domain of the *ret* protooncogene in a family with medullary thyroid carcinoma. **J Clin Endocrinol Metab** 1997;82:4176-8.
36. Grieco M, Santoro M, Berlingieri MT, Melillo RM, Donghi R,

- Bongarzone I, et al. PTC is a novel rearranged form of the *ret* proto-oncogene and is frequently detected in vivo in human thyroid papillary carcinomas. **Cell** 1990;60:557-63.
37. Bongarzone I, Butti MG, Coronelli S, Borrello MG, Mondellini P, Pilotti S, et al. Frequent activation of *ret* proto-oncogene by fusion with a new activating gene in papillary thyroid carcinomas. **Cancer Res** 1994;54:2979-85.
38. Bongarzone I, Monzini N, Borrello MG, Carcano C, Ferraresi G. Molecular characterization of a thyroid tumor-specific transforming sequence formed by the fusion of *ret* tyrosine kinase and the regulatory subunit α of cyclic adenosine 3',5'-phosphate dependent protein kinase-A. **Mol Cell Biol** 1993;13:358-66.
39. Fugazzola L, Pierotti MA, Viganò E, Pacini F, Vorontsova TV, Bongarzone I. Molecular and biochemical analysis of *RET/PTC4*, a novel oncogenic rearrangement between *RET* and *ELE1* genes, in a post-Chernobyl papillary thyroid cancer. **Oncogene** 1996;13:1093-7.
40. Wajjwalku W, Nakamura S, Hasegawa Y, Miyazaki K, Satoh Y, Funahashi H, et al. Low frequency of rearrangements of the *RET* and *TRK* proto-oncogenes in Japanese thyroid papillary carcinomas. **Jpn J Cancer Res** 1992;83:671-5.
41. Zou M, Shi Y, Farid NR. Low rate of *RET* proto-oncogene activation (*PTC/RET* *PTC*) in papillary thyroid carcinomas from Saudi Arabia. **Cancer** 1994;73:176-80.
42. Pisarchik AV, Ermak G, Fomicheva V, Kartel NA, Figge J. The *RET/PTC1* rearrangement is a common feature of Chernobyl-associated papillary thyroid carcinomas from Belarus. **Thyroid** 1998;8:133-9.
43. Bounacer A, Wicher R, Schlumberger M, Sarasin A, Suárez HG. Oncogenic Rearrangements of *ret* proto-oncogene in thyroid tumors induced after exposure to ionizing radiation. **Biochimie** 1997;79:619-23.
44. Wirtschaffner A, Schimidt R, Rosen D, Kund N, Santoro M, Fusco A, et al. Expression of the *RET/PTC* fusion gene as a marker for papillary carcinoma in Hashimoto's thyroiditis. **The Laryngoscope** 1997;107:95-100.
45. Bongarzone I, Pierotti MA, Monzini N, Mondellini P, Manenti G, Donghi R, et al. High frequency of activation of tyrosine kinase oncogenes in human papillary thyroid carcinoma. **Oncogene** 1989;4:1457-62.
46. Greco A, Pierotti MA, Bongarzone I, Pagliardini S, Lanzi C, Della Porta G. *TRK-T1* is a novel oncogene formed by fusion of *TPR* and *TRK* genes in human papillary thyroid carcinomas. **Oncogene** 1992;7:237-42.
47. Greco A, Miranda C, Pagliardini S, Fusetti L, Bongarzone I, Pierotti MA. Chromosome 1 rearrangements involving the genes *TPR* and *NTRK1* produce structurally different thyroid-specific *TRK* oncogene. **Genes Chromosom Cancer** 1997;19:112-3.
48. Greco A, Fusetti L, Miranda C, Villa R, Zanotti S, Pagliardini S, et al. Role of the TGF N-terminus and coiled-coil domain in the transforming activity of the thyroid *TRK T3* oncogene. **Oncogene** 1998;16:809-16.
49. Greco A, Mariani C, Miranda C, Lupas A, Pagliardini S, Pomati M, et al. The DNA rearrangement that generates the *TRK-T3* oncogene involves a novel gene on chromosome 3 whose product has a potential coiled-coil domain. **Mol Cell Biol** 1995;15:6118-27.
50. Borrello MG, Pelicci G, Arighi E, De Filippis L, Greco A, Bongarzone I, et al. The oncogenic versions of the *RET* and *TRK* tyrosine kinases bind *shc* and *grb2* adaptor proteins. **Oncogene** 1994;9:1661-8.
51. Marsh DJ, Andrew SD, Eng C, Learoyd DL, Capes DG. Germline and somatic mutations in an oncogene: *RET* mutations in inherited medullary thyroid carcinoma. **Cancer Res** 1996;56:1241-3.
52. Moley JF. The molecular genetics of multiple endocrine neoplasia type 2A and related syndromes. **Annu Rev Med** 1997;48:409-20.
53. Borrello MG, Smith DP, Pasini B, Bongarzone I, Greco A, Lorenzo MJ, et al. *Ret* activation by germline *MEN2A* and *MEN 2B* mutations. **Oncogene** 1995;11:2419-27.
54. Eng C, Smith DP, Mulligan LM, Nagal MA, Healey CS, Onder MA, et al. Point mutation within the tyrosine kinase domain of the *ret* proto-oncogene in multiple endocrine neoplasia type 2B and related sporadic tumors. **Hum Mol Genet** 1994;3:237-41.
55. Hofstra RMW, Landsvater RM, Ceccherini I, Stulp RP, Stelwagen T, Luo Y, et al. A mutation in the *RET* proto-oncogene associated with multiple endocrine neoplasia type 2B and sporadic medullary thyroid carcinomas. **Nature** 1994;367:375-6.
56. Blaugrund JE, Johns MM, Eby YB, Ball DW, Bayli SB, Hruban RH, et al. *Ret* proto-oncogene mutations in inherited and sporadic medullary thyroid cancer. **Hum Mol Genet** 1994;3:1895-7.
57. Eng C, Mulligan LM, Smith DP, Hesley CS, Frilling A, Raue F, et al. Mutation of the *RET* proto-oncogene in sporadic medullary thyroid carcinoma. **Genes Chromosom Cancer** 1995;12:209-12.
58. Bugalho MJ, Frade JP, Santos JR, Limbert E, Sobrinho L. Molecular analysis of the *RET* proto-oncogene in patients with sporadic medullary thyroid carcinomas: a novel point mutation in the extracellular cysteine-rich domain. **Eur J Endocrinol** 1997;136:423-6.
59. Kolibaba KS, Druker BJ. Protein tyrosine kinases and cancer. **Biochim Biophys Acta** 1997;1333:217-48.
60. Marshall GM, Peaston AE, Hocker JE, Smith SA, Hanford LM, Tobias V, et al. Expression of multiple endocrine neoplasia 2B *ret* in neuroblastoma cells alters cell adhesion in vitro, enhances metastatic behavior in vivo, and activates *jun* kinase. **Cancer Res** 1997;57:5399-405.
61. Pasini A, Genest O, Legrand P, Schlumberger M, Rossel M, Fournier L, et al. Oncogenic activation of *RET* by two distinct FMTC mutations affecting the tyrosine kinase domain. **Oncogene** 1997;15:393-402.
62. Mulligan LM, Eng C, Healey CS, Clayton D, Kwok JB, Gardner E, et al. Specific mutations of the *RET* proto-oncogene are related to disease phenotype in *MEN2A* and FMTC. **Nature Genet** 1994;6:70-4.
63. Wells SA Jr, Skinner MA. Prophylactic thyroidectomy, based on direct genetic testing in patients at risk for the multiple endocrine neoplasia type 2 syndromes. **Exp Clin Endocrinol Diabetes** 1998;106:29-34.
64. Uyttersprot N, Allgeier A, Baptist M, Christophe F, Coppee M, Coulonval K, et al. The cAMP in thyroid. Signal transduction in health and disease advances. In: **Second Messenger And Phosphoprotein**, Ed Lippincott-Raven, Philadelphia, 1997.
65. Spambalg D, Sharifi N, Elisei R, Gross JL, Medeiros-Neto

- G, Fagin JA. Structural studies of the thyrotropin receptor and Gs alpha in human thyroid cancer. **J Clin Endocrinol Metab** 1996;81:3898-901.
66. Russo D, Tumino S, Anturi F, Vigneri P, Grasso G, Pntecorvi A, et al. Detection of an activating mutation of the thyrotropin receptor in a case of an autonomously hyperfunctioning thyroid insular carcinoma. **J Clin Endocrinol Metab** 1997;82:735-8.
67. Lewin B. **Gene V**. Ed. 1^o, Oxford University Press Inc, New York 1996.
68. Du Villard JA, Schlumberger M, Wicker R, Caillou B, Rochefort P, Feunteun J, et al. Role of *ras* and *gsp* oncogenes in human epithelial thyroid tumorigenesis. **J Endocrinol Invest** 1995;18:124-6.
69. Rochefort P, Caillou B, Michiels FM, Ledent C, Talbot M, Schlumberger M, et al. Thyroid pathologies in transgenic mice expressing a human activated *ras* gene driven by a thyroglobulin promoter. **Oncogene** 1996;12:111-8.
70. Rozengurt E, Smith-Sinnett J, Va-Lint J, Valverde AM. Protein Kinase D(Pkd): A novel target for diacylglycerol and phorbol esters. **Mutation Res** 1995;333:153-60.
71. Bourne HR, Sanders DA, McCormick F. The gtpase superfamily: conserved structure and molecular mechanism. **Nature** 1991;349:117-27.
72. Isobe M, Emanuel BS, Givol D, Oren M, Croce CM. Localization of gene for human p53 tumor antigen to band 17q13. **Nature** 1986;320:84-5.
73. Chang F, Syrjänen S, Terevahauta A, Syrjänen K. Tumorigenesis associated with the p53 tumor suppressor gene. **Br J Cancer** 1993;68:653-61.
74. Wang XW, Harris CC. If p53 tumor-suppressor gene: clues to molecular carcinogenesis. **J Cellular Physiol** 1997;173:247-55.
75. Hetts SW. To die or not to die-an overview of apoptosis and its role in disease. **JAMA** 1998;274:300-7.
76. Donghi R, Longoni A, Pilotti S, Michieli P, Della Porta G, Pierotti MA. Gene p53 are restricted to poorly differentiated and undifferentiated carcinomas of the thyroid gland. **J Clin Invest** 1993;91:1753-60.
77. Nakamura T, Yana I, Kobayashi T, Shin E, Karakawa K, Fujita S, et al. P53 gene mutations associated with anaplastic transformation of human thyroid carcinomas. **Jnp J Cancer Res** 1992;83:1293-8.
78. Fagin JA, Matsuo K, Karmakar A, Chen DL, Tang S-H, Koeffler HP. High prevalence of mutations of the p53 gene in poorly differentiated human thyroid carcinomas. **J Clin Invest** 1993;91:170-84.
79. Pollina L, Pacini F, Fontanini G, Vignati S, Bevilacqua G, Basolo F. Bcl-2, P53 and proliferating cell nuclear antigen expression is related to the degree of differentiation in thyroid carcinomas. **Bristh J Cancer** 1996;73:139-43.
80. Ito T, Ishizaka Y, Tahira T, Yamoto M, Miya A, Imaik K, et al. Identification and analysis of the ret proto-oncogene promoter region in neuroblastoma cell lines and medullary thyroid carcinomas from men 2a patients. **Oncogene** 1992;7:1201-6.
81. Nikiforov YE, Nikiforova MN, Gnepp DR, Fagin JA. Prevalence of mutations of *ras* and p53 in benign and malignant thyroid tumors from children exposed to radiation after the Chernobyl nuclear accident. **Oncogene** 1996;13:687-93.
82. Grebe SKG, Mciver B, Hay ID, Wu PS-C, Maciel LMZ, Drabkin HA, et al. Frequent loss of heterozygosity on chromosome 3p and 17p without *vhl* or p53 mutations suggest involvement of unidentified tumor suppressor genes in follicular thyroid carcinoma. **J Clin Endocrinol Metab** 1997;82:3684-91.
83. Moretti F, Farsetti A, Soddu S, Misiti S, Crescenzi M, Filetti S, et al. P53 re-expression inhibits proliferation and restores differentiation of human thyroid anaplastic carcinoma cells. **Oncogene** 1997;14:729-40.
84. Herfarth KKF, Wick MR, Marshall HN, Gartner E, Lum S, Moley JF. Absence of TP53 alterations in pheochromocytomas and medullary thyroid carcinomas. **Genes Chromosom Cancer** 1997;20:24-9.
85. Ho YS, Tseng SC, Chin TY, Hsieh LL, Lin JD. P53 Gene mutation in thyroid carcinoma. **Cancer Lett** 1996;103:57-63.
86. Jones CJ, Shaw JJ, Wyllie FS, Gaillard N, Schlumberger M, Wynford-Thomaz D. High frequency deletion of the tumor suppressor gene p16ink4a (*mts1*) in human thyroid cancer cell lines. **Mol Cell Endocrinol** 1996;116:115-9.
87. Shi Y, Zou M, Farid NR. Evidence of gene deletion of p21 (*waf1/cip1*), a cyclin-dependent protein kinase inhibitor, in thyroid carcinomas. **Brit J Cancer** 1996;74:1336-41.
88. Yane K, Konishi N, Kitahori Y, Naito H, Okaichi K, Ohnishi T, et al. Lack of p16/*cdkn2* alterations in thyroid carcinomas. **Cancer Lett** 1996;101:85-92.
89. Graña X, Reddy P. Cell cycle control in mammalian cells: role of cyclins, cyclins dependent kinases (cdks), growth suppressor genes and cyclin-dependent kinase inhibitors (Ckis). **Oncogene** 1995;11:211-9.
90. Serrano M, Hannon GJ, Beach D. A new regulatory motif in cell-cycle control causing specific inhibition of cyclin D/Cdk4. **Nature** 1993;366:704-7.
91. Sherr CJ. G1 Phase progression: cycling on cue. **Cell** 1994;79:551-5.
92. Learoyd DL, Messina M, Zedenius J, Guinea AI, Delbridge LW, Robinson BG. *RET/PTC* and *RET* tyrosine kinase expression in adult papillary thyroid carcinomas. **J Clin Endocrinol Metab** 1998;83:3631-5.
93. Ward LS, Brenta G, Medvedovic M, Fagin JA. Studies of allelic loss in thyroid tumors reveal major differences in chromosomal instability between papillary and follicular carcinomas. **J Clin Endocrinol Metab** 1998;83:525-30.

Endereço para correspondência:

Eloiza H. Tajara
Departamento de Biologia – IBILCE/UNESP
Caixa Postal 136
15054-000 São José do Rio Preto, SP.