



CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA EDUCAÇÃO E SAÚDE
GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

LUIZA GIAROLA SANT'ANNA

**O COMPORTAMENTO TELOMÉRICO DOS PORTADORES DA MUTAÇÃO
R337H DA SÍNDROME LI-FRAUMENI**

Trabalho de conclusão de curso em formato de artigo elaborado como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Biomedicina, sob a orientação da Prof.^a Dr.^a Fernanda Costa Vinhaes de Lima.

BRASÍLIA
2020

AGRADECIMENTOS

Depois de quatro anos mais um ciclo se encerra, o sentimento de dever cumprido e gratidão só aumentam. Essa longa caminhada foi importante para o meu crescimento profissional e pessoal. Tive o prazer de conhecer pessoas maravilhosas que me incentivaram pela busca do conhecimento e contribuíram para minha formação.

Gostaria de agradecer a Deus por ter me proporcionado saúde para ir atrás dos meus sonhos, por ter me guiado durante todos esses anos e me presenteado com uma família singular que é minha base.

Sou grata a minha família que sempre esteve ao meu lado demonstrando o seu amor, me incentivado e apoiando incondicionalmente nessa caminhada. Em especial minha irmã, que me acalmou nos momentos de nervosismo, me ajudou a superar as dificuldades e comemorou minhas vitórias como se fossem suas.

Sou agradecida também pelo UniCEUB, pela oportunidade de cursar Biomedicina com um corpo docente dedicado na melhor forma de ensinar, contribuindo para a formação de um profissional diferenciado e ético. Agradeço também pelas amigadas que levo comigo para o resto vida, especialmente, da Alessandra, da Amanda, da Danielly e da Fernanda, que tornaram minhas manhãs mais divertidas e leves durante esses sete semestres.

Obrigada à todas as pessoas que tornaram possível a formação desse artigo, primeiramente a professora Fernanda, por ter aceitado ser minha orientadora, pelo apoio, pela confiança e por ter me auxiliado na elaboração desse trabalho. Segundamente a minha irmã, Letícia, que teve a paciência e o carinho de ler todas as versões do meu TCC e também meu pai e a Juliana que me auxiliaram da melhor forma possível na elaboração e compreensão do meu artigo.

Dedico esse trabalho aos meus pais, que são os meus maiores exemplos, pois graças a eles tive a oportunidade de hoje concluir a minha graduação, em especial a minha mãe, que não pôde estar presente nesse momento, mas que sempre me incentivou a estudar e a seguir os meus sonhos.

O comportamento telomérico dos portadores da mutação R337H da Síndrome Li-Fraumeni

Luiza Giarola Sant'Anna¹
Fernanda Costa Vinhaes de Lima²

Resumo

A Síndrome de Li-Fraumeni (SLF) é caracterizada pela mutação germinativa no gene *TP53* de herança autossômica dominante. Esse gene sintetiza a proteína p53, responsável pelo reparo celular, que evita que as células mutáveis se proliferem, causando cânceres primários em pacientes jovens. Esse trabalho teve como objetivo relatar o comportamento telomérico em portadores da mutação R337H por meio de uma revisão bibliográfica narrativa, entre o período de 2005 a 2020. A principal mutação da SLF no Brasil é a R337H que provoca alterações no comportamento telomérico. Essa mutação ocorre no domínio da oligomerização, responsável pela formação telomérica. Os telômeros são localizados no final do cromossomo com a função de proteger o DNA contra a ação enzimática, porém em cada ciclo celular este é reduzido, caracterizando a senescência celular. O comportamento telomérico diferencia a R337H de outros casos, tornando a visualização dos telômeros um diagnóstico diferenciado e acessível à maioria da população.

Palavras-chave: R337H. Gene *TP53*. Proteína p53. Senescência celular. Telômeros.

Telomeric behavior of Li-Fraumeni Syndrome R337H mutation carriers

Abstract

Li-Fraumeni syndrome (LFS) is characterized by a germline mutation in the *TP53* gene of autosomal dominant inheritance. This gene encodes the synthesis of the p53 protein, responsible for repairing cellular structures, preventing the proliferation of mutated cells which could cause primary stages of cancer in young patients. The objective of this study was to describe telomeric behavior in carriers of R337H mutation by reviewing bibliography published between 2005-2020. The foremost mutation linked to LFS in Brazil is caused on the R337H sequence, leading to alterations in telomeric deportment. This occurs in domains of oligomerization, responsible for telomeric constitution. Telomeres are located at the end of chromosomes and function to protect DNA from enzymatic catalysis, however, with each cell cycle, the telomeres are shortened, defining the process of cellular senescence. Telomeric behavior distinguishes R337H from other instances, turning the examination of these telomeres a novel and accessible diagnosis for the population.

Key words: R337H, Gene *TP53*. Protein p53. Cell senescence. Telomeres.

¹Graduanda do Curso de Biomedicina do Centro Universitário de Brasília – UniCEUB.

²Doutora em Patologia Molecular. Professora do Centro Universitário de Brasília – UniCEUB.

1 INTRODUÇÃO

A Síndrome de Li-Fraumeni (SLF) é caracterizada pela mutação germinativa que ocorre no gene *TP53* com caráter autossômico dominante. Possui como característica principal a predisposição à inúmeros tumores primários malignos em pacientes jovens, incluindo principalmente câncer pulmonar, câncer cerebral, câncer adrenocortical, sarcomas de tecidos moles e ósseos e leucemias (LYNCH; GUIRGIS, 1979; LI *et al.*, 1988).

A SLF é considerada uma mutação rara que acomete em média um indivíduo a cada 20.000 pessoas no mundo. Apesar disso, sua gravidade é significativa devido ao risco de desenvolvimento tumoral nos portadores antes dos seus 40 anos ser superior a 50% (HEYMANN *et al.*, 2010).

O gene *TP53* é considerado o guardião do genoma por ser responsável pela síntese da proteína p53, que por sua vez, é encarregada pela homeostasia celular, isto é, quando as células apresentam anormalidades ativa-se uma via de sinalização. A p53 é responsável por reparar a anormalidade ou gerar apoptose, evitando assim a propagação da alteração celular, não facilitando o desenvolvimento tumoral (AUBREY; STRASSER; KELLY, 2016).

Em 2016 foram constatadas 113 famílias brasileiras portadoras da SLF, sendo que 97 famílias (85,8%) possuem a mutação específica R337H quando relacionadas à Síndrome de Li-Fraumeni (ANDRADE, 2016a). As principais características da mutação R337H são que os portadores apresentarem sintomas mais brandos, penetrância reduzida e envelhecimento mais saudável. Suspeita-se que esses fatores estejam relacionados com a senescência celular, umas das atividades primordiais dos telômeros, já que são determinadas por fatores genéticos. Como a Síndrome de Li-Fraumeni é causada por alterações genéticas, cria-se a hipótese de que essa mutação influencie no envelhecimento celular (ANDRADE *et al.*, 2015).

Os telômeros são localizados na parte final do cromossomo e tem como função proteger o ácido desoxirribonucleico (DNA). São formados por uma repetição específica de nucleotídeos e por um complexo proteico denominado Shelterina, ambos não são codificantes. Os mesmos são considerados biomarcadores do envelhecimento celular por não serem replicados na divisão celular, fazendo com que os mesmos fiquem mais curtos a cada divisão (BLASCO, 2005; AUBERT; LANSDORP, 2008; CALADO; YOUNG, 2009; O'SULLIVAN; KARLSEDER, 2010; LÓPEZ-OTÍN *et al.*, 2013).

O presente trabalho teve por objetivo descrever o comportamento telomérico de pacientes portadores da mutação R337H da Síndrome Li-Fraumeni e relatar as características da mutação germinativa que ocorre no gene *TP53*.

2 METODOLOGIA

Trata-se de uma revisão bibliográfica do tipo narrativa que consiste em um trabalho caracterizado principalmente por ser uma dissertação mais inespecífica. Logo não precisa utilizar todos os tipos de fontes existentes sobre o tema e sim selecionar um grupo de artigos e documentos para revisar, de acordo com as preferências do autor. É um trabalho subjetivo com embasamento da interpretação do redator sobre os artigos escolhidos e, conseqüentemente, não precisa seguir um protocolo rigoroso na elaboração (CORDEIRO *et al.*, 2007).

Para a realização da pesquisa foram coletadas informações das bases de dados Scielo (Scientific Electronic Library Online), PubMed (Public Medline), BVS (Biblioteca Virtual em Saúde), Google Acadêmico, sites institucionais e obras nacionais e internacionais. Para a busca foram utilizadas as palavras-chave: “Síndrome de Li-Fraumeni”, “Mutação R337H”, “Envelhecimento celular”, “Telômeros”, “Syndrome Li-Fraumeni”, “Telomere syndromes”, “Telomere”, “R337H mutation”, sendo pesquisado em português e inglês, separadamente e aos pares com o auxílio do conector “AND/E”.

Foram selecionados 52 artigos científicos e 3 livros publicados entre 2005 e 2020 nos idiomas inglês e português e analisados na íntegra. Alguns artigos científicos com data de publicação que antecedem esse período também foram incluídos no trabalho por serem considerados clássicos e relevantes para o tema.

3 DESENVOLVIMENTO

3.1 SÍNDROME DE LI-FRAUMENI

A Síndrome de Li-Fraumeni (SLF) foi descrita inicialmente em 1969 pelos pesquisadores Dr. Frederick Li e Dr. Joseph F. Fraumeni Jr. A pesquisa foi embasada em 280 registros de óbitos e em 418 prontuários de crianças norte-americanas diagnosticadas com neoplasia maligna da musculatura esquelética – rabdomiossarcoma (LI; FRAUMENI, 1969a).

No âmbito desses pacientes analisados, quatro famílias manifestavam uma incidência elevada de casos de sarcomas e câncer de mama na infância e/ou na juventude. Após comparar a frequência desses cânceres, que são pouco comuns em idade precoce, foi estabelecido um padrão de herança genética e descrito então como uma nova síndrome de câncer de natureza familiar (LI; FRAUMENI, 1969b).

A classificação inaugural foi criada com intuito de evitar que pacientes portadores de tumores primários, sem ter relação com a herança genética, fossem adicionados ou considerados

pertencentes à SLF. Os critérios utilizados consistiam em um probando portador de sarcoma em idade precoce (antes dos 45 anos) associado a dois familiares de primeiro e/ou segundo grau (antes dos 45 anos) portadores da síndrome, inicialmente chamada SBLA. Essa sigla tem origem americana onde S é para sarcomas, B representa cânceres de mama e de cérebro (*breast* e *brain*, respectivamente em inglês), L refere-se a leucemias, a câncer de laringe e o pulmonar (pulmão traduzido para o inglês: lung) e A de adrenocortical (LYNCH; GUIRGIS, 1979).

Essa identificação originou o critério Clássico, hoje utilizado para identificar a SLF. O parâmetro é um probando que manifesta um sarcoma em idade precoce e tenha no seu histórico familiar um parente de primeiro grau, o qual também apresente um câncer antes dos 45 anos e um segundo parente que seja diagnosticado com um sarcoma em qualquer idade (LI *et al.*, 1998).

As famílias que não se encaixam na conformação clássica, a mais comum de ocorrer, podem ter características da forma Like da síndrome, a qual se divide em três categorias, sendo elas: Birch, Eeles e Chompret (GIACOMAZZI *et al.*, 2013).

No perfil Birch, o probando apresenta um tumor pediátrico, ou um sarcoma, ou um câncer de sistema nervoso central (SNC) ou carcinoma adrenocortical (ADR) antes dos 45 anos. Possui dois parentes, de primeiro ou segundo grau, um apresentando câncer característico de Li-Fraumeni (sarcoma, tumor de SNC, mama, ADR ou leucemia) em qualquer idade e outro apresentando qualquer tipo de câncer antes dos 60 anos (BIRCH *et al.*, 1994).

A descrição de Eeles é utilizada em indivíduos que possuam dois familiares, de primeiro ou segundo grau, que apresentem algum desses cânceres: sarcoma, melanoma, câncer de mama, câncer de próstata, câncer pancreático, tumor de SNC, leucemia ou ADR (espectro estendido da síndrome de Li-Fraumeni) em qualquer idade (EELES, 1995).

A versão de Chompret, a qual sofreu alterações no decorrer das pesquisas, é, hoje, utilizada a versão do ano de 2015. Para se encaixar nessa opção é necessário um sujeito que tenha tumor característico da síndrome de forma prematura e um parente, de primeiro ou segundo grau, com tumor da SLF, exceto câncer de mama, ou com múltiplos tumores antes dos 56 anos. Outra conformação não depende do histórico familiar, é necessário que o probando possua múltiplos tumores, exceto câncer de mama, sendo que dois tumores devem pertencer aos cânceres característicos da síndrome e o primeiro deve ter ocorrido antes dos 46 anos. O último padrão consiste em um probando com câncer de mama antes dos 31 anos de idade (BOUGEARD *et al.*, 2015).

Com o avançar dos estudos foi comprovado que a SLF possui herança autossômica dominante com mutação germinativa no gene *TP53*, sendo encontrada na forma Clássica em 50% a 80% dos casos e na forma Like variando de 20 a 40% dos casos (MALKIN, 2011).

O gene *TP53* sintetiza a proteína p53 que é responsável por um amplo espectro de tumores primários malignos desde a infância até a velhice (TINAT *et al.*, 2009). Os indivíduos que não se encaixam nessa mutação podem apresentar outro fator causador, como alterações em outros genes ou alterações de causa ambiental que ainda não foram elucidados pela literatura (MALKIN, 2011).

A incidência mundial de pessoas que manifestam a Síndrome Li-Fraumeni portadoras da mutação *TP53* varia de 1 caso a cada 17.000-23.000. O risco dos portadores de desenvolver tumores é de 73% no sexo masculino e próximo de 100% no sexo feminino (índice alto pela incidência elevada de câncer de mama). A penetrância média para ambos os sexos na faixa etária de 20 anos é de 12%, até os 30 anos de 35%, aos 40 anos é de 52% e até 50 anos possui uma taxa de 80% de chance (TABORI, *et al.*, 2007; HEYMANN *et al.*, 2010).

Ao analisar a idade média do diagnóstico do primeiro câncer, observou-se que as mulheres eram mais suscetíveis, já que sua idade média é 29 anos e a dos homens é de 40 anos. Constatou-se também que quanto mais novo for o paciente no diagnóstico primário, maior a chance de surgimento de outros cânceres (HEYMANN *et al.*, 2010).

3.2 GENE *TP53* E PROTEÍNA p53

O câncer é uma patologia resultante da alteração celular que pode estar associada a diversos fatores como os epigenéticos e os ambientais. Essas modificações podem decorrer de etapas referentes ao ciclo celular, tais como apoptose, senescência, diferenciação, angiogênese e a capacidade migratória celular (TOLEDO; WAHL, 2006; WEINBERG, 2007).

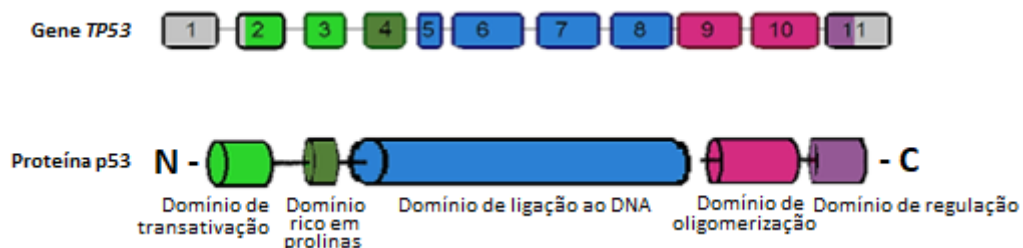
O tumor maligno que se origina de um fator epigenético tem a mutação celular atuando de forma negativa por ocorrência de uma falha ou alteração dos genes, sendo eles os proto-oncogenes e genes supressores tumorais, os quais são responsáveis por regular a carcinogênese através da ação no ciclo celular (LANE, 1994).

O principal gene relacionado ao câncer humano é o supressor tumoral *TP53* mutado, que se faz presente em pouco mais de 50% dos tumores de modo geral (WEINBERG, 2007).

O supressor de tumor *TP53* está localizado no cromossomo 17, no braço curto, região 1, banda 3 e sub-banda 1 (17p13.1). Possui 200.000 pares de base e se comporta em 11 éxons. Ele é encarregado pela tradução de uma proteína denominada p53 que é uma fosfoproteína nuclear que contém 393 aminoácidos (TOLEDO; WAHL, 2006).

A proteína p53 é constituída de 3 importantes regiões: região amino-terminal (formada pelo primeiro e segundo domínio), região central (formada pelo terceiro domínio) e a região carboxi-terminal (formada pelo quarto e quinto domínio). Os 5 domínios que compõem essas regiões são descritos como: primeiro domínio de transativação (resíduos 1 a 40), essencial para ação transcricional; o segundo domínio rico em prolinas (resíduos 61 a 94), responsável pela interação proteína-proteína e proteção contra degradação; o terceiro domínio de ligação ao DNA (resíduos 100 a 300), que se conectam a sequência de reconhecimento da área promotora de genes-alvo; o quarto domínio oligomerização (resíduos 324 a 355), responsável pela formação dos telômeros; e o último domínio regulador do C-terminal (resíduos 360 a 393), atuante na regulação da ligação ao DNA através do domínio de ligação (Figura 1) (TOLEDO; WAHL, 2006; WEINBERG, 2007).

Figura 1. Esquema representativo das estruturas do gene *TP53* e da proteína p53. Os retângulos representam os 11 éxons presentes do gene *TP53*, de diferente coloração de acordo com os domínios que formam na proteína p53. Os que apresentam coloração cinza, éxon 1 e parte dos éxons 2 e 11, são regiões não traduzidas.



Fonte: ANDRADE, 2016a.

A proteína p53 está presente nas células normais em níveis basais (LANE, 1994), mas quando a célula se encontra em estresse os níveis dessa proteína se elevam (TOLEDO; WAHL, 2006). Essa elevação é de suma importância, tendo em vista que é responsável por desacelerar o avanço do ciclo celular, permitindo assim um tempo maior no reparo do DNA na fase G1, antes da replicação do DNA na fase S (síntese presente na Interfase) e da mitose. Se o reparo for defeituoso, a proteína estimula a apoptose celular, evitando consequentemente a formação de células mutáveis, instáveis e com tendência a se tornarem malignas (WEINBERG, 2007).

A fosfoproteína nuclear p53 também atua fora da divisão celular realizando a homeostase da célula e agindo quando as mesmas apresentam sinais de estresse. Sua resposta a esses sinais está condicionada ao tipo, amplitude e durabilidade do sinal emitido. Essas células estressadas podem ser resultado de um dano na molécula de DNA, problemas metabólicos,

privação de nutrientes, hipóxia ou ativação oncogênica. Como reação a célula alterada, a p53 irá agir, mantendo a integridade do genoma, através de uma resposta mais apropriada podendo ser ela senescência celular, reparo do DNA e apoptose (PETITJEAN *et al.*, 2007; CICALESE *et al.*, 2009; AUBREY; STRASSER; KELLY, 2016).

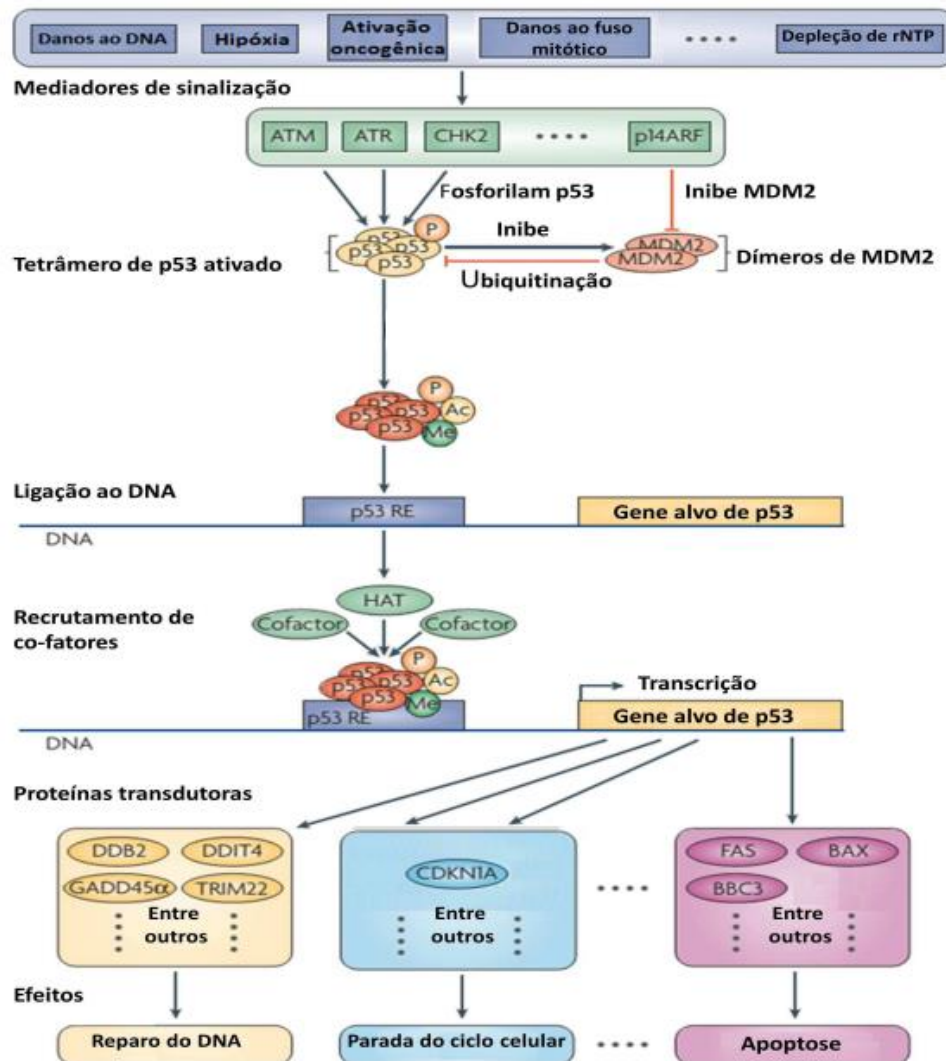
A ativação e resposta da p53 ocorre por ação de cinases sensíveis aos danos celulares, sendo as principais: Ataxia-telangiectasia mutada (ATM), Ataxia-telangiectasia relacionada (ATR) e *Checkpoint kinase 2* (CHK2) (Figura 2). Essas cinases são encontradas em células normais de forma inativa, que serão ativadas a partir de um sinal de estresse celular, ocorrendo assim uma autofosforilação que promove sua dissociação, conduzindo-a até a proteína p53 (DEY; LANE; VERMA, 2010).

Para ativar a p53 é necessário que ela se dissocie da proteína *mouse double minute 2* (MDM2) por meio das cinases que fosforilam a p53, alterando a sua estrutura conformacional e diminuindo a afinidade entre elas. Outra forma de separar a MDM2 da p53 é através da p14 *Alternative Reading Frame* (p14ARF), o qual é produto de um gene supressor tumoral que irá degradar ou se ligar diretamente a MDM2 impedindo a associação com a p53 (FENG; LIN; WU, 2011).

A MDM2 é incumbida de realizar a regulação negativa da p53 através da ubiquitinação. Ela conduzirá a p53 do núcleo para o citoplasma pelas proteínas exportinas, facilitando a degradação realizada pela protease proteassoma no citoplasma. Essas mudanças conformacionais, que dissociam a p53 da MDM2, irão ativar a p53 que formará um tetrâmero, isto é, um conjunto de quatro unidades de p53, dificultando o acesso das exportinas e conseguindo a ligação da p53 na região específica do DNA do gene-alvo, para que assim seja ativada uma resposta direcionada ao tipo de alteração celular. Para que seja possível a transcrição desse gene-alvo, a p53 recruta cofatores como a histona acetiltransferases (HAT), a qual é responsável pela acetilação das histonas que descompactam a cromatina, permitindo que ocorra o processo de transcrição (RILEY *et al.*, 2008; DEY; LANE; VERMA, 2010).

A transcrição gerará proteínas transdutoras, tais como: *DNA damage-binding protein 2* (DDB2), *DNA damage-inducible transcript protein 4* (DDIT4), *Growth arrest and DNA damage-inducible protein 45 alpha* (GADD45 α), *Tripartite motif-containing protein 22* (TRIM22), *Cyclin-dependent kinase inhibitor 1* (CDKN1A), *Cell Surface Death Receptor* (FAS), *BCL-2 associated protein X* (BAX), *BCL-2-binding component 3* (BBC3), entre outras específicas para cada tipo de alteração (FENG; LIN; WU, 2011).

Figura 2. Via de sinalização da p53 após sinais de estresse celular.



Fonte: modificado de RILEY *et al.*, 2008.

As diversas mutações no gene *TP53* podem apresentar variadas penetrâncias no desenvolvimento cancerígeno, a depender de onde ocorre a alteração no gene, normalmente do 5º a 8º éxons (responsáveis pela formação do domínio de ligação do DNA). Os *hotspots* mais recorrentes na SLF, que contabilizam 38% dos casos, são as alterações nos códons 175 (R175H), 248 (R248Q OU R248W), 273 (R273H), 282 (R282W) e 245 (G245S), com a exceção das mutações do códon 245 e da variante R248Q, que apresentam uma penetrância de 50% de chances de desenvolver um tumor aos trinta anos de idade. Já as mutações nos códons 213 (R213Q) e 125 (T125T) possuem penetrância reduzida, sendo 20% de chances de desenvolver um câncer aos 30 anos (WASSERMAN *et al.*, 2015; GUHA; MALKIN, 2017; AMADOU; ACHATZ; HAINAUT, 2018).

No Brasil a mutação que causa a SLF com maior frequência pertence ao códon 337 da proteína R337H. Esse códon se diferencia por não se apresentar no domínio de ligação de DNA e por ter uma baixa penetrância, principalmente em pacientes jovens, quando o índice de chances de desenvolver tumores malignos antes dos 30 anos cai para 15%. Dessa forma, existem mais portadores de SLF devido à essa modificação, pois os mesmos sobrevivem à idade reprodutiva e disseminam para seus sucessores (GARRITANO *et al.*, 2010).

3.3 MUTAÇÃO *TP53* R337H

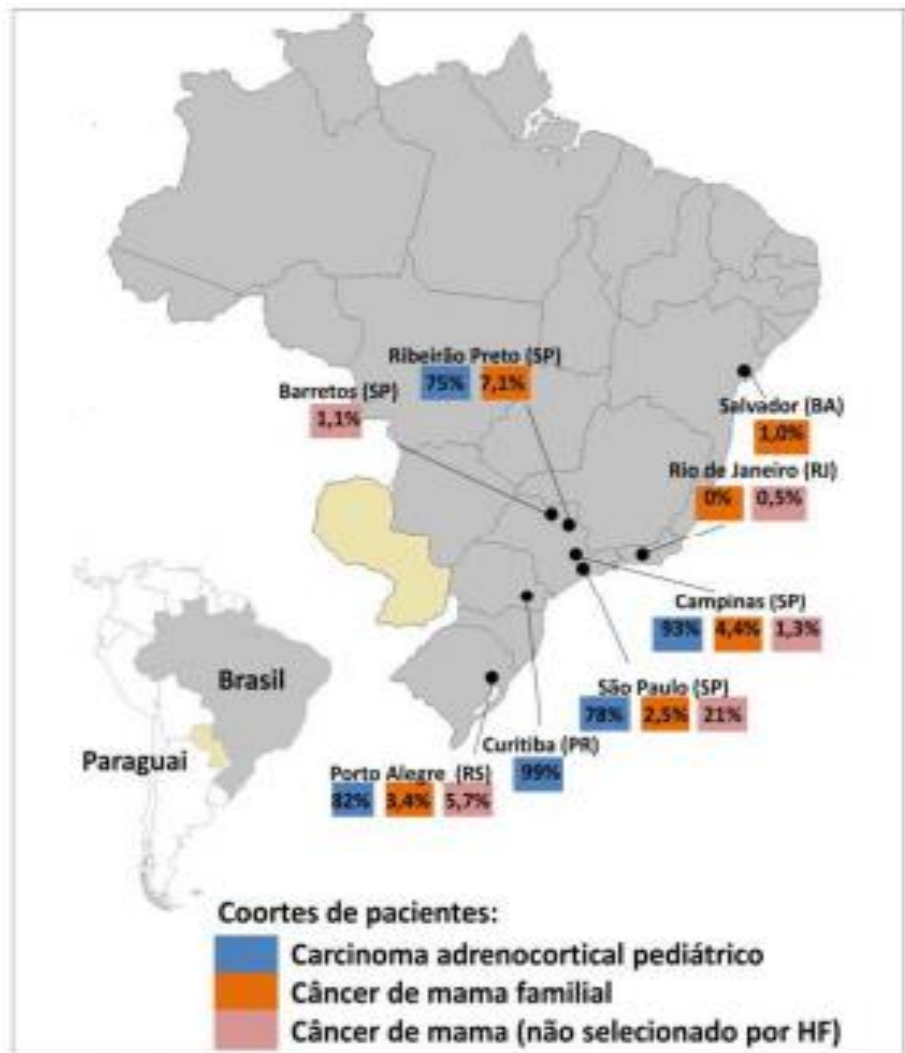
Após estudos realizados no ano de 2016, observou-se a existência de 113 famílias portadoras da síndrome no Brasil, sendo que dessas, 97 famílias apresentavam uma mutação específica nomeada R337H. Aqui, esta mutação representa cerca de 85,8% e mundialmente 10,9% entre as mais relacionadas à Síndrome de Li-Fraumeni (ANDRADE, 2016a).

A mutação R337H tem incidência nas regiões Sul e Sudeste de um caso a cada 300 indivíduos. O percentual em pacientes infantis que apresentam tumores adrenocorticais e/ou do plexo coróide é de, respectivamente, 80% e/ou 100% dos casos. O alto índice brasileiro de portadores, quando comparado mundialmente, fez com que pesquisadores suspeitassem que essa alteração descendia de um único ancestral (GARRITANO *et al.*, 2010).

Como decorrência dessa suspeita foi feito um estudo com haplótipos, a partir de um painel com 29 marcadores polimórficos intragênicos em 12 probandos que apresentavam a mutação R337H e que não possuíam nenhum vínculo familiar. Observou-se que todos apresentavam a mutação no mesmo haplótipo A3, confirmando a desconfiança de um único ancestral (PASKULIN *et al.*, 2015).

Tendo em vista que para esse fenômeno ocorrer de modo independente é raríssimo e por ser um conjunto de alelos que descendem de pessoas caucasianas, possivelmente de origem portuguesa, foi possível confirmar que se originou de um único tropeiro de descendência portuguesa. Essa suspeita fundamentou-se na distribuição geográfica dos probandos que se encontram espalhados pela rota dos tropeiros viajantes dos séculos XVIII e XIX, responsáveis por transportar mercadorias por uma rodovia específica que ia de Porto Alegre à São Paulo (Figura 3) (GARRITANO *et al.*, 2010).

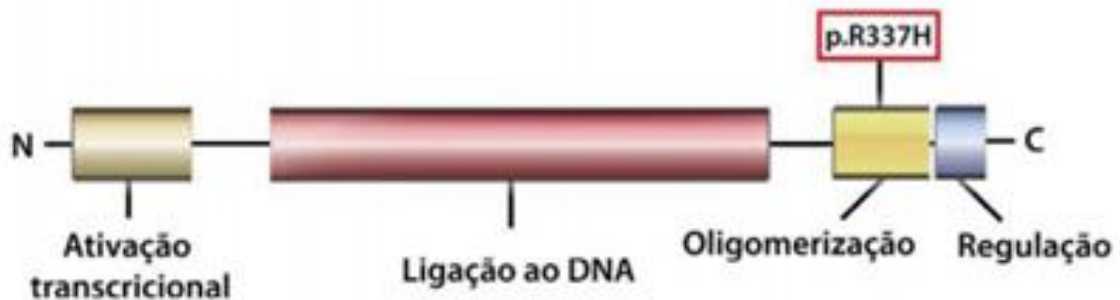
Figura 3. Mapa representativo da frequência da mutação R337H e os tumores mais associados a mutação em regiões próximas a rota dos tropeiros.



Fonte: Adaptado de ANDRADE, 2016a.

Essa mutação é um subgrupo pertencente a Síndrome Li-Fraumeni, que consiste em uma alteração estrutural no gene *TP53*, localizada no éxon 10 e no domínio de oligomerização, mais especificamente no códon 337. Nesse códon é onde será alterado uma base nitrogenada (de guanina para adenina) que alterará o nucleotídeo CGC por CAC, deixando de ser uma arginina (R) para ser uma histidina (H), transformando assim a configuração da proteína p53 (Figura 4) (ACHATZ *et al.*, 2007).

Figura 4. Esquema representativo dos diferentes domínios da proteína p53 (representação sem escala). A mutação R337H encontra-se fora do *hotspot* de mutações (domínio de ligação ao DNA).



Fonte: FORTES, 2018.

A modificação no domínio de oligomerização causará uma instabilidade quando houver alteração intracelular do pH e da temperatura, melhor dizendo, quando o pH celular se torna mais alcalino (>7) em temperaturas mais elevadas ($>36,5^{\circ}\text{C}$). Essa mudança faz com que a histidina do códon 337 não consiga comportar-se como uma ponte doadora de hidrogênio, afetando a ligação com o aminoácido 352. A desnaturação causará uma mudança conformacional da proteína, resultando na perda da ligação de alta afinidade com moléculas de ácido desoxirribonucleico (DNA) e, conseqüentemente, no desenvolvimento tumoral (LALLI, 2010).

Por ser uma mutação que está relacionada com a alteração do pH e altas temperaturas, foi inicialmente associada ao câncer adrenocortical. As crianças são os principais portadores, pois a glândula supra-renal proporciona essas mudanças no microambiente celular para o remodelamento, o que ocorre com maior frequência no desenvolvimento fetal e na infância. Essa troca também é utilizada para realização de suas atividades, tais como, o mecanismo apoptótico (ACHATZ; ZAMBETTI, 2016; GUHA; MALKIN, 2017).

O córtex adrenal durante a embriogênese é responsável por manter a placenta íntegra e funcional e tem sua maturação rápida, tornando-o adulto precocemente. Após o nascimento o córtex retrocede com auxílio do mecanismo apoptótico, perdendo aproximadamente metade do peso. Com a alteração da proteína p53 algumas células continuam a proliferar e crescer, ocasionando o surgimento de tumores adrenocorticais (ADR), de dois a três anos mais tarde (ACHATZ; ZAMBETTI, 2016).

A mutação R337H também é associada a outros tecidos que passam por esse processo, causando os seguintes cânceres: de mama em pacientes pediátricos, carcinomas de plexo

coroide e neuroblastoma, que estão relacionados a Síndrome de Li-Fraumeni (CUSTODIO *et al.*, 2011; SEIDINGER *et al.*, 2011; GIACOMAZZI *et al.*, 2013; SEIDINGER *et al.*, 2015).

Uma das características marcantes dos portadores desse subgrupo é a manifestação de senilidade mais tardia e sadia quando se compara com a população geral, ou seja, não apresentam doenças relacionadas a terceira idade (Osteoporose, Parkinson, Alzheimer e Hipertensão) e apresentam tônus muscular e cutâneo característicos de indivíduos mais jovens do que esperado pela idade (ANDRADE, 2016b).

Considerando que a mutação R337H tem a penetrância reduzida e apresenta um envelhecimento mais saudável, há a possibilidade de que ocorra um impacto diferente na biologia telomérica (ANDRADE, 2016b).

3.4 TELÔMERO

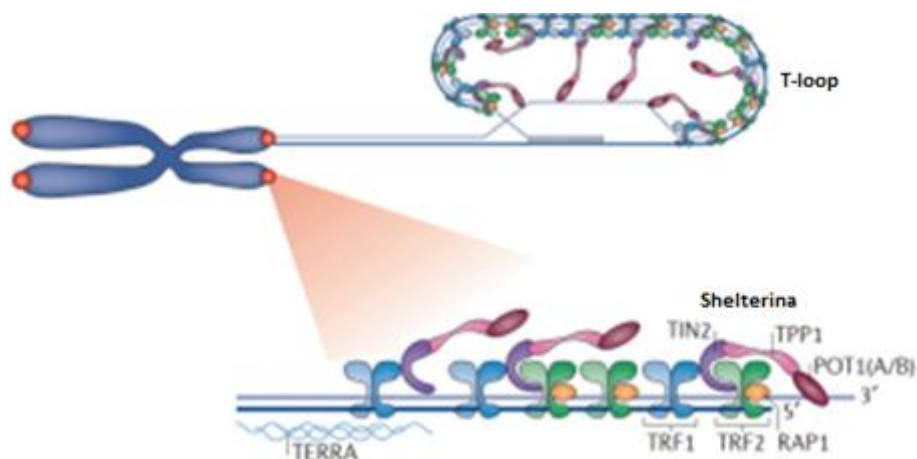
Os telômeros são complexos nucleoproteicos que formam uma sequência específica de bases nitrogenadas (TTAGGG) que se repetem compondo a fita dupla de DNA e uma estrutura proteica, chamada de shelterina. Estão localizados no final do cromossomo e podem variar de 9 a 15 kb de comprimento (CIFUENTES-ROJAS; SHIPPEN, 2012).

Para a estruturação dos telômeros, é necessária a ação das enzimas exonucleases, que são responsáveis pela formação das fitas simples ricas em guanina na extremidade 3', sendo essenciais para a formação do T-loop (Laço de Proteção Telomérica). Para a formação desse laço, é necessário que o complexo proteico Shelterina atue, sendo a *Telomeric Repeat Binding Factor 1* (TRF1) a proteína precursora, uma vez que irá se ligar na fita dupla de DNA recrutando outras proteínas pertencentes a esse complexo, como a *Telomeric Repeat Binding Factor 2* (TRF2), que também se ligará na fita dupla de DNA protegendo a fita simples 3' formada e fazendo a manutenção do T-loop. Em seguida, a proteína *Repressor Activator protein 1* (RAP1), a qual tem afinidade pela TRF2, irá se juntar a essa atuando na regulação transcricional. Por outro lado, a *Protection of telomeres protein 1* (POT1) irá interagir apenas com a fita simples 3' protegendo a mesma. Essa proteína tem uma forte interação com *TIN2-interacting protein 1* (TPP1) que, ao se conectarem, geram uma maior estabilidade facilitando assim a interação com a proteína *Telomerase reverse transcriptase* (TERT), responsável pelo recrutamento da telomerase. Por fim, a proteína *TRF1 interacting protein 2* (TIN2) irá formar uma ponte entre a TRF1 e a TRF2, que serão então ligadas à junção do TPP1-POT1 que precisará se dobrar para alcançar essa ponte para formar o laço (Figura 5) (ARMANIOS; BLACKBURN, 2012; KONG; LEE; WANG, 2013).

O laço formado tem como funcionalidade a proteção. Ele serve como uma capa que preserva o cromossomo contra atividades de reparo do DNA, impedindo ações de proteínas que possam causar fusão de extremidades, rearranjos e recombinações, evitando a perda de informações genéticas (PALM; LANGE, 2008; KUPIEC, 2014; WANG; ZHAO; LU, 2015).

O mecanismo Shelterina impede fusões cromossômicas e protege as extremidades do cromossomo, impossibilitando uma análise equivocada da quebra da fita dupla de DNA, a degradação prematura e a perda de informação genética. Esse complexo proteico também é importante para a síntese, manutenção e reparo do DNA telomérico (KONG; LEE; WANG, 2013; WANG; ZHAO; LU, 2015).

Figura 5. Estrutura do telômero e o laço *T-loop*. Apresenta *Telomeric repeat-containing RNA* (TERRA), codificado pelo DNA telomérico, também apresenta o complexo proteico chamado de Shelterina (TRF1, TRF2, POT1, RAP1, TIN2 e TPP1).



Fonte: LEE *et al.*, 2018.

3.4.1 SENESCÊNCIA CELULAR

O sistema de replicação do DNA celular não é capaz de realizar uma replicação celular completa do cromossomo, isto é, não consegue multiplicar a região telomérica, deixando como consequência os telômeros sujeitos a atuação das exonucleases, que em cada ciclo celular o reduz e o conduz a um envelhecimento celular (ZVEREVA; SHCHERBAKOVA; DONTSOVA, 2010; KUPIEC, 2014).

Para evitar uma senescência acelerada, o organismo utiliza a telomerase, uma enzima capaz de restabelecer o DNA telomérico através da elongação na extremidade 3' do cromossomo. Por isso é uma região mais comprida, tendo aproximadamente de 12 a 16

nucleotídeos a mais que a extremidade 5', e é enriquecida na base nitrogenada guanina (CIFUENTES-ROJAS; SHIPPEN, 2012; KUPIEC, 2014). Essa base nitrogenada tem como função ligar-se a proteínas, estabilizando os limites do cromossomo, impossibilitando a degradação por exonucleases, facilitando o reconhecimento dos telômeros dentro do núcleo e recrutando a telomerase que reconstrói a sequência de DNA telomérico em cada divisão celular (AZEVEDO; SUNKEL, 2012; ALBERTS; *et al.*, 2017).

A extremidade 5' é reconstituída a partir da complementação da nova fita formada pela telomerase, sendo a enzima responsável DNA polimerase. A replicação dessa nova fita não é completa, pois contém no seu final uma sequência iniciadora de RNA que, ao ser removida da extremidade 3', torna-se desemparelhada, fazendo com que a replicação não seja realizada pela polimerase e esta sequência, seja eliminada em cada ciclo celular (AZEVEDO; SUNKEL, 2012).

Em um novo ciclo esse novo fragmento formado, com exceção da a parte eliminada, será replicado novamente, eliminando a sequência iniciadora do RNA e o deixando em cada divisão celular mais curto, caracterizando a senescência dessa célula (AZEVEDO; SUNKEL, 2012; KUPIEC, 2014).

Para evitar que o envelhecimento das células ocorra de forma precoce e rápida, existe um mecanismo responsável pela transcrição reversa utilizando o próprio RNA interno da enzima telomerase. Ele irá aumentar ainda mais a extremidade 3', servindo de modelo para formação de fragmentos de Okasaki como uma molécula iniciadora, facilitando a ação da enzima polimerase que complementarará a extremidade 5' (AZEVEDO; SUNKEL, 2012).

Porém, um impasse é encontrado na formação dos segmentos de DNA nos telômeros, pois a telomerase, responsável pela reconstituição da fita telomérica que é reduzida a cada ciclo celular, só é expressa durante a embriogênese, tornando inativa nas células somáticas saudáveis (MAICHER; KASTNER; LUKE, 2012).

Portanto podemos concluir que a enzima telomerase está diretamente relacionada com o processo de senescência celular, pois quanto mais ocorrer divisão celular, maior será a redução da fita telomérica e conseqüentemente maior será a perda de função e atividades (ZVEREVA; SHCHERBAKOVA; DONTSOVA, 2010).

Se os telômeros atingirem um comprimento crítico, após sucessivas divisões celulares, deixando o complexo proteico Shelterina e o DNA telomérico instáveis, expostos e desprotegidos, facilitará o reconhecido como DNA danificado e gerará a apoptose celular (ZVEREVA; SHCHERBAKOVA; DONTSOVA, 2010; MAICHER; KASTNER; LUKE, 2012).

Esse comprimento crítico é conhecido como limite de Hayflick. O limite é importante para que as células já envelhecidas com problemas funcionais, não sejam multiplicadas. Como consequência, o limite de Hayflick consegue evitar a propagação de células defeituosas e inibir o ciclo celular (HORNSBY, 2007).

Durante toda a vida de um ser humano irão existir células, tanto em senescência como em replicação, sendo na fase infantil maior o número em replicação. Ao passar dos anos as células entram em processo de senescência, aumentando constantemente até a fase em que todas as células não serão mais capazes de se dividir (SHAY; WRIGHT, 2011).

3.4.2 COMPRIMENTO TELOMÉRICO EM PACIENTES PORTADORES DA SÍNDROME DE LI-FRAUMENI

Os telômeros de pacientes que portam mutações no gene *TP53* são menores quando comparados aos de pacientes sem mutações na mesma faixa etária. Os portadores da SLF apresentam também uma diferença maior com o passar dos anos do tamanho e dos desgastes dos telômeros quando comparados com indivíduos controles, caracterizando um maior nível de encurtamento (TRKOVA *et al.*, 2007).

O encurtamento do comprimento e a perda de funções têm sido associados com a transformação do tecido normal para um tecido neoplásico, gerando uma variedade de cânceres. Portanto, quanto mais rápido o encurtamento até o nível crítico, maior a ameaça e instabilidade no genoma e maior a chance de o paciente desenvolver precocemente células cancerígenas (TABORI *et al.*, 2007).

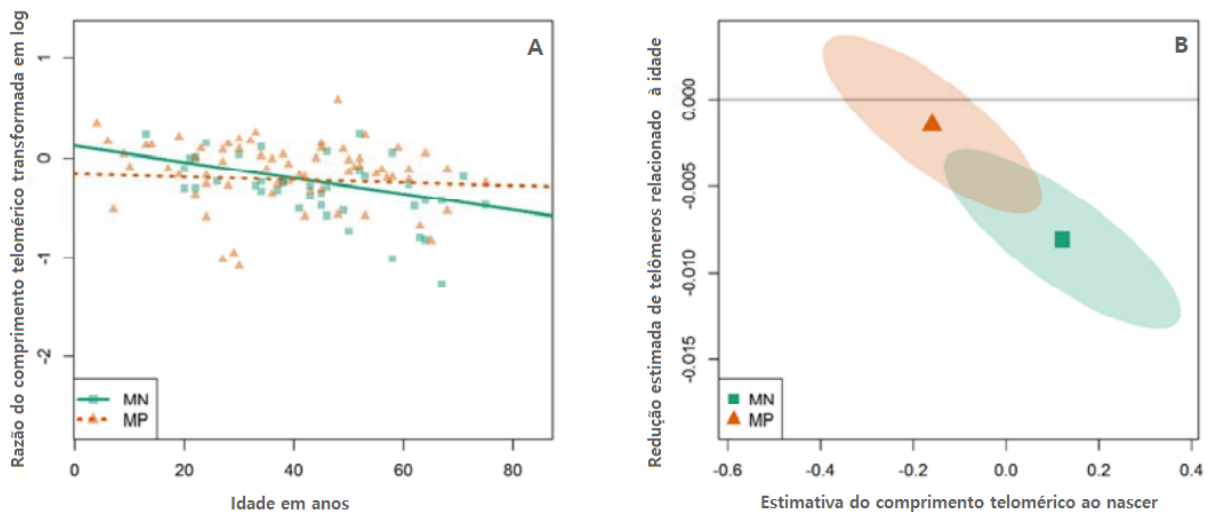
O comprimento telomérico de portadores da SLF, ao nascer, é menor que os selvagens, tendo em vista que a mutação no gene *TP53* permite que as células germinativas e somáticas, que contém telômeros reduzidos e com problemas funcionais, escapem da senescência celular e consigam proliferar. Esse acontecimento ocasiona a transmissão desses telômeros curtos e desgastados para próxima geração (TABORI *et al.*, 2007; TRKOVA *et al.*, 2007).

Segundo estudos foi possível estabelecer diferenças entre os portadores da mutação R337H e os indivíduos controle, saudáveis, da mesma faixa etária. Percebeu-se que os portadores da síndrome possuem um encurtamento telomérico reduzido, mesmo apresentando o telômero menor ao nascer. Esse fato foi justificado pelo tratamento dos pacientes com quimioterápicos (ANDRADE *et al.*, 2015).

É possível observar nos gráficos representados na figura 6, o comparativo referente ao comprimento e encurtamento teloméricos de indivíduos portadores da mutação R337H e indivíduos saudáveis. O gráfico “A” demonstra o comportamento do encurtamento telomérico

em pacientes com a mutação, apresentando uma regressão linear menos evidente com o passar dos anos, quando comparado com o encurtamento observado em indivíduos saudáveis. Ao nascer, o indivíduo portador da mutação R337H apresenta o tamanho do telômero menor, quando comparado aos indivíduos controle. Ao atingir, aproximadamente, a quarta década de vida, o tamanho dos telômeros desses indivíduos encontra-se muito semelhante. A partir desta idade, os dados se invertem, e o indivíduo com a mutação apresenta uma redução dos telômeros menos acentuada, quando comparado à indivíduos controle. Já o gráfico “B” apresenta os dados sobre o comprimento dos telômeros ao nascimento, onde o paciente com a mutação possui menor redução dos telômeros quando comparados com o controle (ANDRADE, 2016b).

Figura 6. Gráficos representativos do comprimento e encurtamento telomérico. O gráfico A demonstra o comprimento telomérico (em razão de log) ao passar dos anos. Já o B demonstra a estimativa do encurtamento dos telômeros relacionado à idade comparada com o comprimento dos telômeros ao nascer.



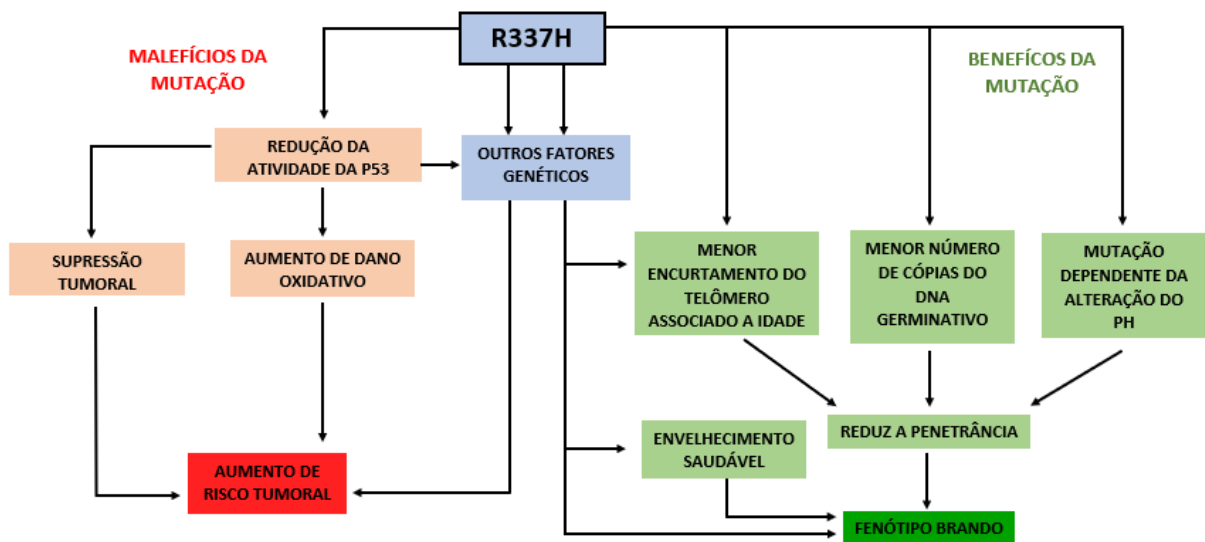
Legenda: MP: mutação positiva, MN: mutação negativa.

Fonte: Adaptado de ANDRADE, 2016b.

Ao analisar os probandos que apresentam mutação no gene *TP53*, foi possível observar maior redução dos telômeros em relação ao grupo controle e ainda maior diferença quando comparados com a mutação R337H. Sendo assim, a mutação pode ter dois efeitos importantes no envelhecimento celular e no processo carcinogênico. O fato da mutação R337H ser mais branda em seus sinais e sintomas quando comparada às outras mutações da SLF, por ter o desenvolvimento tumoral mais tardio e penetrância mais reduzida em pacientes jovens, pode ser justificada pela redução do comprimento dos telômeros ser menor que no grupo controle com a mesma faixa etária (ANDRADE *et al.*, 2015; ANDRADE, 2016b).

O fluxograma exposto na figura 7 apresenta os malefícios e os benefícios decorrentes da mutação R337H. O principal malefício apresentado é a redução da atividade da p53 devido ao aumento do pH e da temperatura, os quais acarretam alteração estrutural da proteína, instabilizando o tetrâmero formado de p53, inviabilizando a via de sinalização e, conseqüentemente, a manutenção da homeostasia celular. Este fato gera aumento do dano oxidativo, o qual aumentará o risco de formação de células cancerígenas (TABORI *et al.*, 2007; TRKOVA *et al.*, 2007; LALLI, 2010; ANDRADE, 2016b).

Figura 7. Fluxograma que apresenta os benefícios e malefícios causados aos pacientes portadores da mutação R337H.



Fonte: Adaptado de ANDRADE, 2016b.

Os benefícios manifestados pelos portadores da mutação R337H são: a baixa penetrância de 15% (a penetrância das outras mutações é 30%) e o envelhecimento saudável, que em conjunto geram um fenótipo mais brando. Essas vantagens são justificadas pelo menor encurtamento telomérico quando comparado com telômeros selvagens e com telômeros de outras mutações no gene *TP53*. Também é justificativa para a diminuição da penetrância da R337H o benefício do menor número de cópias de DNA germinativo com mutação, quando comparado as outras alterações pertencentes a síndrome de Li-Fraumeni. Ademais, para ocorrer essa alteração na proteína p53, é necessária uma mudança no pH e temperatura celular, por esse motivo, ocorre apenas em momentos específicos, ao contrário de outras mutações associadas a SLF que não necessitam de um ambiente peculiar. (TRKOVA *et al.*, 2007; LALLI, 2010; ANDRADE, 2016b).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A Síndrome de Li-Fraumeni apresenta herança autossômica dominante, caracterizada, em grande parte dos pacientes, por uma mutação germinativa no gene *TP53*, que causa inúmeros tumores primários desde a primeira infância até a fase senil.

O gene *TP53* é responsável pela síntese da proteína p53. Essa proteína tem como função desacelerar o ciclo celular para um reparo mais preciso do DNA, como também, fora do ciclo, atuar no estresse das células por meio de três respostas principais: apoptose, reparo do DNA e senescência celular. Desse modo, os portadores da SLF não possuem a p53 totalmente funcional, apresentando problemas nas suas atividades o que, conseqüentemente, facilita a replicação de células defeituosas e cancerígenas.

A SLF é caracterizada por vários tipos de mutações no gene *TP53*. No Brasil, a que tem maior índice é a R337H, encontrada principalmente na rota dos tropeiros, na via que liga Porto Alegre a São Paulo. A diferença dessa mutação para as demais encontradas na literatura é que os probandos possuem uma penetrância reduzida, quando comparados a outros subgrupos da síndrome, deixando de ser de 30% e passando para 15% a chance do paciente apresentar tumores antes dos 30 anos. Além disso apresenta um comprimento telomérico maior e um encurtamento do telômero reduzido, o que justifica o envelhecimento saudável do paciente portador da mutação R337H.

Considerando que a incidência da mutação R337H é de 1 a cada 300 indivíduos nas regiões sul e sudeste e juntas contabilizam mais da metade da população brasileira, é importante ressaltar que, quando houver uma suspeita da Síndrome de Li-Fraumeni, devem ser realizados exames que demonstrem o comprimento dos telômeros dos probandos, pois esta é uma das principais características desta mutação. Além disso, esta análise torna-se mais acessível à população, pois possui um menor custo, quando comparada a exames de mapeamento genético.

No Brasil é difícil o acesso gratuito ao aconselhamento genético em razão das grandes filas de espera e ao alto valor dos exames. Uma parcela significativa da população brasileira não possui recursos financeiros para realizar exames na rede privada de saúde, com a finalidade de verificar o mapeamento genético e identificar as alterações presentes no DNA.

Uma das vigilâncias é por ultrassonografia abdominal, a qual deve ser realizada a cada 3 ou 4 meses até o paciente completar dez anos de vida (maior risco de ter cânceres adrenocorticais), permite o diagnóstico e tratamento precoces da R337H, possibilitando ao probando chegar a idades mais avançadas com melhoria das condições de saúde, não apresentando doenças associadas a velhice como Parkinson, Alzheimer, Osteoporose e

Hipertensão, além de apresentar tônus muscular e cutâneo menos desgastados. Sendo assim, conclui-se que a implementação do diagnóstico por meio do comprimento dos telômeros facilitará o acesso da população aos exames (devido ao seu baixo custo) e auxiliará no tratamento e na vigilância dos mais específicos casos de portadores da mutação R337H da Síndrome de Li-Fraumeni.

REFERÊNCIAS

- ACHATZ, M. I.; *et al.* The *TP53* mutation, R337H, is associated with Li-Fraumeni and Li-Fraumeni-like syndromes in Brazilian Families. **Cancer Lett**, Amsterdam, v. 245, n. 1-2, p. 96-102, jan. 2007. Doi: 10.1016/j.canlet.2005.12.039.
- ACHATZ, M. I.; ZAMBETTI, G. P. The inherited p53 mutation in the brazilian population. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine**, Woodbury, v. 6, n. 12, dec. 2016. Doi: 10.1101/cshperspect.a026195.
- ALBERTS, B.; *et al.* **Biologia Molecular da Célula**. Artmed, Porto Alegre, ed. 6, p. 1116-1254, 2017. Disponível em: http://tga.blv.ifmt.edu.br/media/filer_public/57/cc/57cc20c0-9ebd-48b4-b539-4b7e85100837/alberts_-_biologia_molecular_da_celula_-_6ed_-_2017.pdf.
- AMADOU, A.; ACHATZ, M. I. W.; HAINAUT, P. Revisiting tumor patterns and penetrance in germline *TP53* mutation carriers: temporal phases of LiFraumeni syndrome. **Current opinion in oncology**, Philadelphia, v. 30, n. 1, p. 23-29, jan. 2018. Doi: 10.1097/CCO.0000000000000423.
- ANDRADE, K. C. **Avaliação do comprimento telomérico em portadores da Síndrome de Li-fraumeni**. 2016. 126f. Dissertação (Mestrado) - Fundação Antônio Prudente. FAPESP. São Paulo. 2016b. Disponível em: <https://pingpdf.com/pdf-avaliao-do-comprimento-telomeric-em-portadores-da-sindrome-de-.html>.
- ANDRADE, K. C.; *et al.* The germline *TP53* p.R337H mutation: a putative selective advantage? **Annual Meeting of the American Association for Cancer Research**, Philadelphia, p. 18-22, abr. 2015. Doi: 10.1158/1538-7445.AM2015-2753.
- ANDRADE, R. C. **Caracterização molecular de pacientes com suspeita clínica de Síndrome de Li-Fraumeni e Li-Fraumeni like**. 2016. 220f. Dissertação (Pós-Graduação) – Instituto Nacional de Câncer. INCA. Rio de Janeiro. 2016a. Disponível em: <https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&url=http://colecciona-sus.bvs.br/lildbi/docsonline/get.php%3Fid%3D1385&ved=2ahUKEwjPqfSNkvTIAhVPHrkGHRZrBVIQFjAAegQIAhAB&usg=AOvVaw1rzQiVUzkui942RrqKb4bd&cshid=1574093285606>.
- ARMANIOS, M.; BLACKBURN, E. H. The telomere syndromes. **Nature reviews. Genetics**, London, v. 13, n. 10, p. 693-704, out. 2012. Doi: 10.1038/nrg3246.
- AUBERT, G.; LANSDORP, P. M. Telomeres and aging. **Physiological Reviews**, Washington, v. 88, n. 2, p. 557-579, abr. 2008. Doi: 10.1152/physrev.00026.2007.

AUBREY, B. J.; STRASSER, A.; KELLY, G. L. Tumor-suppressor functions of the *TP53* Pathway. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine**, Woodbury, v. 6, n. 5, maio 2016. Doi: 10.1101/cshperspect.a026062.

AZEVEDO, C.; SUNKEL, C. E.; **Biologia Celular e Molecular**. Lidel, Lisboa, ed. 5, p. 139-203, 2012.

BIRCH, J. M.; *et al.* Prevalence and Diversity of Constitutional Mutations in the p53 gene among 21 Li-Fraumeni families. **Cancer research**, Chicago, v. 54, n. 5, p. 1298-1304, mar. 1994. Disponível em:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=.+Prevalence+and+Diversity+of+Constitutional+Mutations+in+the+p53+gene+among+21+Li-Fraumeni+families>.

BLASCO, M. A. Telomeres and human disease: ageing cancer and beyond. **Nature Reviews Genetics**, London, v. 6, n. 8, p. 611-622, ago. 2005. Doi: 10.1038/ngr1656.

BOUGEARD, G. *et al.* Revisiting Li-Fraumeni syndrome from *TP53* mutation carriers. **Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology**, New York, v. 33, n. 21, p. 2345-2352, jul. 2015. Doi: 10.1200/JCO.2014.59.5728.

CALADO, R. T.; YOUNG, N. S. Telomere diseases. **New England Journal of Medicine**, Boston, v. 361, n. 24, p. 2353-2365, dez. 2009. Doi: 10.1056/NEJMra0903373.

CICALESE, A.; *et al.* The tumor suppressor p53 regulates polarity of self-renewing divisions in mammary stem cells. **Cell**, Cambridge, v. 138, n. 6, p. 1083-1095, set. 2009. Doi: 10.1016/j.cell.2009.06.048.

CIFUENTES-ROJAS, C.; SHIPPEN, D. E. Telomerase Regulation. **Mutation research**, Amsterdam, v.730, n. 1-2, p. 20-27, fev. 2012. Doi: 10.1016/j.mrfmmm.2011.10.003

CORDEIRO, A. M.; *et al.* Revisão Sistemática: uma revisão Narrativa. **Comunicação Científica**, Rio de Janeiro, v. 34, n. 6, dez. 2007. Doi: 10.1590/S0100-69912007000600012.

CUSTODIO, G.; *et al.* Increased incidence of choroid plexus carcinoma due to the germline *TP53* R337H mutation in southern Brazil. **PLoS One**, San Francisco, v. 22, n. 3, mar. 2011. Doi: 10.1371/journal.pone.0018015.

DEY, A.; LANE, D. P.; VERMA, C. S. Modulating the p53 Pathway. **Seminars in cancer biology**, Philadelphia, v. 20, n. 6, p. 3-9, fev. 2010. Doi: 10.1016/j.semcancer.2010.02.004.

EELES, R. A. Germline Mutations in the *TP53* Gene. **Cancer surveys**, Oxford, v. 25, p. 101-124, 1995.

FENG, Z.; LIN, M.; WU, R. The regulation of aging and longevity: a new and complex role of p53. **Genes Cancer**, Thousand Oaks, v. 2, n. 4, p. 443-452, abr. 2011. Doi: 10.1177/1947601911410223.

FORTES, F. P. **Alterações gênicas no carcinoma adrenocortical de pacientes portadores da síndrome de Li-Fraumeni**. 2018. 149f. Tese (Doutorado) - Fundação

Antônio Prudente. São Paulo. 2018. Disponível em:

<http://docs.bvsalud.org/biblioref/2019/09/1015262/fpfortes.pdf>.

GARRITANO, S.; *et al.* Detailed haplotype analysis at the *TP53* locus in p.R337H mutation carriers in the population of Southern Brazil: evidence for a founder effect. **Human Mutation**, New York, v. 31, n. 2, p. 143-150, fev. 2010. Doi: 10.1002/humu.21151.

GIACOMAZZI, J.; *et al.* A *TP53* founder mutation p.R337H is associated with phyllodes breast tumors in Brazil. **Virchows Archiv**, Berlin, v. 463, n. 1, p. 17-22, jul. 2013. Doi: 10.1007/s00428-013-1439-8.

GUHA, T.; MALKIN, D. Inherited *TP53* Mutations and the Li-Fraumeni Syndrome. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine**, Woodbury, v. 7, n. 4, mar. 2017. Doi: 10.1101/cshperspect.a026187.

HEYMANN, S.; *et al.* Radio-induced malignancies after breast cancer postoperative radiotherapy in patients with Li-Fraumeni syndrome. **Radiation oncology**, London, v. 5, p. 104, nov. 2010. Doi: 10.1186/1748-717X-5-104.

HORNSBY, P. J. Telomerase and the Aging Process. **Experimental gerontology**, Oxford, v. 42, n. 7, p. 575-581, jul. 2007. Doi: 10.1016/j.exger.2007.03.007.

KONG, C. M.; LEE, X. W.; WANG, X. Telomere Shortening in Human Diseases. **The FEBS journal**, Oxford, v. 280, n. 14, p. 3180-3193, jul. 2013. Doi: 10.1111/febs.12326.

KUPIEC, M. Biology of telomeres: lessons from budding yeast. **FEMS Microbiology Reviews**, Oxford, v. 38, n. 2, p. 144-171, mar. 2014. Doi: 10.1111/1574-6976.12054.

LALLI, E. Adrenal cortex ontogenesis. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**, Amsterdam, v. 24, n. 6, p. 853-864, dec. 2010. Doi: 10.1016/j.beem.2010.10.009.

LANE, D. P. P53 and human cancers. **British Medicinal Bulletin**, Oxford, v. 50, n. 3, p. 582-599, set. 1994. Doi: 10.1093/oxfordjournals.bmb.a072911.

LEE, Y. W.; *et al.* TRF1 participates in chromosome end protection by averting TRF2-dependent telomeric R loops. **Nature structural & molecular biology**, New York, v. 25, n. 2, p. 147-153, fev. 2018. Doi: 10.1038/s41594-017-0021-5.

LI, F. P.; FRAUMENI, J. F. Soft-tissue sarcomas breast cancer and other neoplasms. A familial syndrome? **Annals of Internal Medicine**. Philadelphia, v. 63, n. 4, p. 747-752, out. 1969a. Doi: 10.7326/0003-4819-71-4-747.

LI, F. P.; FRAUMENI, J. F. Rhabdomyosarcoma in children: epidemiologic study and identification of familial cancer syndrome. **Journal of the National Cancer Institute**, Washington, v. 43, n. 6, p. 1365-1373, dez. 1969b. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jnci/43.6.1365>.

- LI, F. P.; *et al.* A cancer family syndrome in twenty-four kindreds. **Cancer research**, Philadelphia, v. 48, n. 18, p. 5358-5362, set. 1988. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3409256>.
- LÓPEZ-OTÍN, C.; *et al.* The hallmarks of aging. **Cell**, Cambridge, v. 153, n. 6, p. 1194-1217, jun. 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3836174/>.
- LYNCH, H. T.; GUIRGIS, H. A. Childhood cancer and the SBLA syndrome. **Medical hypotheses**, London, v. 5, n.1, p. 15-22, jan.1979. Doi: 10.1016/0306-9877(79)90059-8.
- MAICHER, A.; KASTNER, L.; LUKE, B. Telomeres and disease: Enter TERRA. **RNA Biology**, Oxford, v. 9, n. 6, p. 843-849, fev. 2012. Doi: 10.4161/rna.20330.
- MALKIN, D. Li-Fraumeni syndrome. **Genes cancer**, Thousand Oaks, v.2, n.4, p. 475-484, abr. 2011. Doi: 10.1177/1947601911413466.
- O'SULLIVAN, R. J.; KARLSEDER, J. Telomeres: protecting chromosomes against genome instability. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, London, v. 11, n. 3, p. 171-181, mar. 2010. Doi: 10.1038/nrm2848.
- PALM, W.; LANGE, T. How shelterin protects mammalian telomeres. **Annual Review of Genetics**, Palo Alto, v. 42, p. 301-334, 2008. Doi: 0.1146/annurev.genet.41.110306.130350.
- PASKULIN, D. D.; *et al.* Ancestry of the Brazilian *TP53* c.1010G>A (p.Arg337His, R337H) Founder Mutation: Clues from Haplotyping of Short Tandem Repeats on Chromosome 17p. **Public Library of Science**, San Francisco, v. 10, n. 11, nov. 2015. Doi: 10.1371/journal.pone.0143262.
- PETITJEAN, A.; *et al.* Impact of Mutant p53 Functional Properties on *TP53* Mutation Patterns and Tumor Phenotype: Lessons From Recent Developments in the IARC *TP53* Database. **Human Mutation**, New York, v. 28, n. 6, p.622-629, jun. 2007. Doi: 10.1002/humu.20495.
- RILEY, T.; *et al.* Transcriptional Control of Human p53-regulated Genes. **Nature reviews. Molecular cell biology**, London, v. 9, n. 5, p. 402-412, maio 2008. Doi: 10.1038/nrm2395.
- SEIDINGER, A. L.; *et al.* Association of the highly prevalent *TP53* R337H mutation with pediatric choroid plexus carcinoma and osteosarcoma in southeast Brazil. **Cancer**, New York, v.117, n. 10, p. 2228-2835, maio 2011. Doi: 10.1002/cncr.25826.
- SEIDINGER, A. L.; *et al.* Occurrence of neuroblastoma among *TP53* p.R337H carriers. **PLoS One**, San Francisco, v.10, n.10, out. 2015. Doi: 0.1371/journal.pone.0140356.
- SHAY, J. W.; WRIGHT, W. E. Role of telomeres and telomerase in cancer. **Semin Cancer Biology**, Philadelphia, v. 21, n. 6, p. 349-353, out. 2011. Doi: 10.1016/j.semcancer.2011.10.001.
- TABORI, U.; *et al.* Younger age of cancer initiation is associated with shorter telomere length in Li-Fraumeni syndrome. **Cancer research**, Chicago, v. 67, n. 4, p. 1415-1418, fev. 2007. Doi: 10.1158/0008-5472.CAN-06-3682.

TINAT, J.; *et al.* 2009 version of the Chompret criteria for Li Fraumeni syndrome. **Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology**, New York, v. 27, n. 26, p. 108-109, set. 2009. Doi: 10.1200/JCO.2009.22.7967.

TOLEDO, F.; WAHL, G. M. Regulating the p53 pathway: in vitro hypotheses, in vivo veritas. **Nature Reviews Cancer**, London, v. 6, n. 12, p.909-923, dez. 2006. Doi: 10.1038/nrc2012.

TRKOVA, M.; *et al.* Telomere length in peripheral blood cells of germline *TP53* mutation carriers is shorter than that of normal individuals of corresponding age. **Cancer**, New York, v. 110, n. 3, p. 694-702, ago. 2007. Doi: 10.1002/cncr.22834.

WANG, C.; ZHAO, L.; LU, S. Role of TERRA in the Regulation of Telomere Length. **International Journal of Biological Sciences**, Lake Haven, v. 11, n. 3, p. 316-323, fev. 2015. Doi: 10.7150/ijbs.10528.

WASSERMAN, J.; *et al.* Prevalence and functional consequence of *TP53* mutations in pediatric adrenocortical carcinoma: a children's oncology group study. **Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology**, New York, v. 33, n. 6, p. 602-609, fev. 2015. Doi: 10.1200/JCO.2013.52.6863.

WEINBERG, R. A. **The Biology of Cancer**. Garland Science, New York, ed. 1, p. 864, 2007. Disponível em: http://www.nhri.org.tw/NHRI_ADM/userfiles/file/1010510.pdf.

ZVEREVA, M. I.; SHCHERBAKOVA, D. M.; DONTSOVA, O. A. Telomerase: structure, functions, and activity regulation. **Biochemistry**, Moscow, v. 75, n.13, p. 1563-1583, dez. 2010. Doi: 10.1134/S0006297910130055.