

**CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA E
HISTOPATOLÓGICA DA SÍNDROME DE *LI-
FRAUMENI* E SÍNDROME *LI-FRAUMENI LIKE*
EM PACIENTES BRASILEIROS**

MARIA NIRVANA DA CRUZ FORMIGA

**Tese apresentada à Fundação Antônio
Prudente para obtenção do título de Doutor
em Ciências**

Área de Concentração: Oncologia

**Orientadora: Dra. Maria Isabel Alves de Souza
Waddington Achatz**

Co-Orientadora: Dra. Maria Paula Curado

São Paulo

2016

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca da Fundação Antônio Prudente

Formiga, Maria Nirvana da Cruz

Caracterização clínica e histopatológica da síndrome de Li-Fraumeni e síndrome Li-Fraumeni like em pacientes brasileiros /

María Nirvana da Cruz Formiga - São Paulo, 2016.

158p.

Tese (Doutorado)-Fundação Antônio Prudente.

Curso de Pós-Graduação em Ciências - Área de concentração:
Oncologia.

Orientadora: Maria Isabel Alves de Souza Waddington Achatz

Descritores: 1. SÍNDROME DE LI-FRAUMENI/genética.
2. FENÓTIPO. 3. GENES P53. 4. SARCOMA. 5. CARCINOMA
ADRENOCORTICAL. 6. NEOPLASIAS DA MAMA.

DEDICATÓRIA

**A Deus, pelo dom da vida e bênçãos recebidas,
Ao meu querido e amado filho Henrique,
Ao meu esposo James, pelo apoio e companheirismo
Aos meus pais, Sônia e Francisco e aos meus irmãos, Cipriano e
Ricardo, por serem a base das virtudes e valores que carrego comigo**

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Dra. Maria Isabel Achatz, que além de todos os ensinamentos e orientação neste projeto, acreditou no meu potencial e me introduziu na Oncogenética

À minha co-orientadora, Dra. Maria Paula Curado, que sempre esteve disponível a ajudar e acreditou neste projeto.

Ao Dr. Vinicius Calsavara, do CIPE, por sua contribuição com a análise estatística

À toda equipe do Departamento de Oncogenética do A.C.Camargo Cancer Center pela amizade e pelo apoio durante a realização desse projeto: Amanda França, Gisleine Siqueira, Dra. Daniele Paixão, Kelvin Andrade, Karina Miranda, Fernanda Fortes

Aos pacientes e seus familiares que contribuíram de forma imensurável para o desenvolvimento deste trabalho

Aos funcionários da Pós Graduação e do Comitê de Ética em Pesquisa do AC Camargo Cancer Center pela ajuda

Aos funcionários da Biblioteca da Fundação Antônio Prudente por toda a colaboração e disponibilidade

RESUMO

Formiga MNC. **Caracterização clínica e histopatológica da síndrome de Li-Fraumeni e síndrome Li-Fraumeni like em pacientes brasileiros.** São Paulo; 2016. [Tese de Doutorado-Fundação Antônio Prudente].

INTRODUÇÃO: a Síndrome de Li-Fraumeni (LFS; OMIM#151623) é uma síndrome rara de predisposição hereditária ao câncer, de caráter autossômico dominante e de alta penetrância, relacionada a mutações germinativas no gene *TP53*. Os tumores típicos da LFS são sarcomas de partes moles e ósseos, leucemias, tumores do sistema nervoso central (SNC), tumores adrenocorticais e tumores de mama. No entanto, há uma variação no espectro tumoral de acordo com o genótipo. No Brasil, há uma alta prevalência da mutação germinativa p.R337H (presente em 0.3% da população do Sul e Sudeste) devido a um efeito fundador. O conhecimento do real espectro tumoral da síndrome associada a esta mutação fundadora ainda é objeto de discussão. **PACIENTES E MÉTODOS:** foram avaliados dados clínicos, retrospectivamente, a partir de prontuários médicos, de 247 pacientes com LFS e LFS portadores de mutações germinativas no gene *TP53*, atendidos no Departamento de Oncogenética do A.C.Camargo Cancer Center de 2001 a 2015. As características dos tumores apresentados pelos pacientes portadores de mutação (espectro tumoral, idade do diagnóstico do primeiro tumor e dos tumores subsequentes, tipo histológico dos tumores) foram comparadas entre o grupo de portadores da mutação p.R337H e o grupo de pacientes com as demais mutações patogênicas no gene *TP53*. As taxas de frequência das mutações (p.R337H *versus* outras mutações), assim como sexo (masculino e feminino) foram correlacionados com o *status* de óbito, desenvolvimento ou não de câncer, a idade do diagnóstico do primeiro câncer, tempo do primeiro câncer até aparecimento do segundo câncer, através do teste qui-quadrado ou teste exato de *Fisher*. Foi aplicado o Teste T para amostras independentes. O

estimador de Kaplan-Meier e o teste de *log rank* foram utilizados para avaliar a influência das variáveis nos tempos de sobrevida global, tempo de aparecimento do primeiro câncer e tempo do primeiro câncer até aparecimento do segundo câncer. **RESULTADOS:** de 247 portadores de LFS incluídos no estudo, 193 pacientes eram portadores da mutação p.R337H. Deste total de 193 portadores da mutação p.R337H, 101 pacientes apresentaram câncer (52.3%) e 23,8% dos pacientes com câncer tiveram dois ou mais tumores ao longo da vida; enquanto dos 54 pacientes portadores de outras mutações no gene *TP53* (21.9% da população total), 39 pacientes tiveram câncer (72.2%), $p=0.009$. A idade média de diagnóstico do primeiro câncer nos portadores da mutação p.R337H foi de 30.8 anos, comparada a 28.9 anos nos portadores de outras mutações no gene *TP53*, $p=0.604$. nos portadores da mutação p.R337H, o primeiro tumor também ocorreu em idade mais precoce nas pacientes femininas (média de 34.7 anos *versus* 50.4 anos, $p<0.001$). Em relação ao espectro dos tumores p.R337H na nossa população, câncer de mama e sarcoma de partes moles foram os tumores mais frequentes, seguidos de carcinoma adrenocortical, perfazendo 70,5% dos tumores apresentados nesta população. Nos portadores de outras mutações no gene *TP53*, câncer de mama, sarcoma de partes moles, tumor de sistema nervoso central e sarcoma ósseo corresponderam a 69.3% de todos os tumores observados. Nossos dados revelam uma alta frequência de carcinoma adrenocortical (21.5%), carcinoma papilífero de tireoide (6.8%), adenocarcinoma de pulmão (4.9%) e carcinoma renal (4.3%) nos portadores da mutação p.R337H. Interessantemente carcinoma colorretal foi observado apenas nos portadores de outras mutações não-p.R337H. O sarcoma de partes moles nos portadores p.R337H mais frequente foi o leiomiossarcoma e a idade média de diagnóstico foi 46.8 anos; nos portadores das outras mutações, rabdomiossarcoma e leiomiossarcoma foram os subtipos mais frequentes e a idade média do diagnóstico foi 24 anos ($p=0.001$). A idade média de diagnóstico de câncer de mama foi 42.8 anos nos portadores da mutação p.R337H e 37 anos nos portadores das demais mutações no gene *TP53*

($p=0.029$). O câncer de mama nos portadores das outras mutações apresentavam hiperexpressão de HER2 em 62.5% dos casos, comparado a 19% nos tumores de mama das portadoras da mutação p.R337H.

CONCLUSÕES: nossos dados mostram um espectro tumoral distinto para os portadores da LFS com a mutação p.R337H. Esses dados podem ajudar a estabelecer um programa de rastreamento para esses portadores diferente do preconizado para os portadores das demais mutações no gene *TP53*.

SUMMARY

Formiga MNC. **[Clinical and histopathologic characterization of Li-Fraumeni syndrome and Li-Fraumeni like syndrome in Brazilian patients]**. São Paulo; 2016. [Tese de Doutorado-Fundação Antônio Prudente].

INTRODUCTION: Li Fraumeni syndrome (LFS, OMIM #151623) is a rare autosomal dominant genetic disorder inherited by germline *TP53* mutations. Carriers have a high lifetime risk of developing multiple early-onset childhood and adult cancers, including soft tissue and bone sarcomas, central nervous system (CNS) tumors, adrenocortical tumors (ACT), breast cancer and leucemia. However, tumor spectrum may have difference according to genotype. In Brazil, it is observed a high prevalence of a founder germline mutation p.R337H (present in 0.3% of the population in South and Southeast). The exact tumor profile associated to p.R337H carriers is unknown. **PATIENTS AND METHODS:** we have analyzed medical records of a cohort of 247 germline *TP53* mutation carriers, members of Brazilian families who fulfilled LFS/LFL clinical criteria, between 2001 and 2015 from the Oncogenetics Department at A.C.Camargo Cancer Center, Sao Paulo, Brazil. Clinical data were retrospectively evaluated and the tumor characteristics of carriers (tumor spectrum, age at diagnosis, histological subtype) were compared between p.R337H carriers and carriers of other mutations in *TP53* gene. The mutation status (p.R337H and other mutations) and gender (male and female) were correlated with death rate, cancer risk, age at diagnosis of cancer, interval between the first and the second cancer diagnosis, using the chi-squared test or Fisher's exact test. The T test was used for independent samples analysis. The Kaplan-Meier and log rank test were used to evaluate the influence of variables on overall survival, time and cancer the first time until onset of the second cancer. **RESULTS:** the study evaluated 247 patients with LFS, 193 patients had the mutation p.R337H.

Among 193 p.R337H carriers, 101 patients had cancer (52.3%) and 23.8% of cancer-affected carriers had two or more tumors lifetime; whereas from 54 non-p.R337H mutation carriers, 39 patients were cancer-affected (72.2%), $p = 0.009$. The mean age at diagnosis of first cancer in p.R337H carriers was 30.8 years old (yo) compared to 28.9 yo in non-p.R337H mutation carriers, $p = 0.604$. In p.R337H patients, the first tumor occurred at an earlier age in female patients (mean age at 34.7 yo vs. 50.4 yo, $p < 0.001$). Regarding the tumor spectrum in p.R337H carriers, breast cancer and soft tissue sarcoma were the most frequent tumors, followed by adrenocortical carcinoma (70.5% of the total of tumors). In non-p.R337H mutation carriers, breast cancer, soft tissue sarcoma, central nervous system tumor and bone sarcoma accounted for 69.3% of all tumors observed. Our results showed a high frequency of adrenocortical carcinoma (21.5%), papillary thyroid carcinoma (6.8%), lung adenocarcinoma (4.9%) and renal cell carcinoma (4.3%) in p.R337H patients. Interestingly, colorectal carcinoma was observed only in non-p.R337H mutation patients. Leiomyosarcoma was the most frequent sarcoma subtype in p.R337H carriers and the mean age at diagnosis was 46.8 yo; in non-p.R337H mutation patients, rhabdomyosarcoma and leiomyosarcoma were the most frequent subtypes and the mean age at diagnosis was 24 yo ($p = 0.001$). The mean age at diagnosis of breast cancer was 42.8 yo in p.R337H patients and 37 yo in non-p.R337H mutation patients ($p = 0.029$). The breast cancer in non-p.R337H mutation patients showed overexpression of HER2 in 62.5% of cases, compared to 19% in breast tumors from p.R337H carriers. **CONCLUSIONS:** our clinical cohort revealed a different tumor spectrum associated with p.R337H *TP53* mutation. The major limitation in our study was the relatively small sample of non-p.R337H mutation carriers to compare with p.R337H carriers. Notwithstanding, our findings offer insight into exploring a distinct cancer screening protocol for p.R337H mutation carriers in Brazil.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Características da célula tumoral.....	2
Figura 2	Heredograma de uma família com Síndrome de Li-Fraumeni.....	8
Figura 3	Tumores inicialmente descritos na LFS.....	13
Figura 4	Tumores associados a mutações germinativas no gene <i>TP53</i> (n=1644).....	17
Figura 5	Localização do gene <i>TP53</i> no braço curto do cromossomo 17 na posição 13.1.....	30
Figura 6	O gene <i>TP53</i> e a proteína p53.....	30
Figura 7	Vias de sinalização da proteína p53.....	32
Figura 8	Sequenciamento do gene <i>TP53</i> : troca da base G>A no codon 337.....	48
Figura 9	Mutações germinativas no gene <i>TP53</i> - Distribuição dos códons de substituição de único par de bases (n=741)....	48
Figura 10	Distribuição das famílias (A) e portadores (B).....	71
Figura 11	Tempo até desenvolver o segundo tumor primário: A- mutação p.R337H; B- Outras mutações no gene <i>TP53</i>	78
Figura 12	Sobrevida Global.....	83

Figura 13	Sobrevida Global de acordo com sexo.....	83
Figura 14	Sobrevida Global (A e B) e Sobrevida Livre de Câncer (C e D) de acordo com tipo de mutação e tipo do primeiro câncer.....	84
Figura 15	Espectro tumoral.....	86
Figura 16	Frequência de tumores de acordo com a idade ao diagnóstico nos portadores da mutação p.R337H e nos portadores de mutações germinativas no gene <i>TP53</i> , exceto mutação p.R337H.....	88
Figura 17	Principais tumores e idades ao diagnóstico nos portadores da mutação p.R337H e nos portadores de mutações germinativas no gene <i>TP53</i> , exceto mutação p.R337H.....	89
Figura 18	Comparação entre os principais tumores e idades ao diagnóstico nos dois grupos (portadores da mutação p.R337H e portadores de mutações germinativas no gene <i>TP53</i> , exceto mutação p.R337H).....	91
Figura 19	Risco de câncer ao longo do tempo (penetrância).....	92
Figura 20	Distribuição dos casos de câncer de mama de acordo com idade ao diagnóstico.....	93
Figura 21	Características dos carcinomas de mama em portadores de mutação p.R337H.....	94
Figura 22	Características dos carcinomas de mama em portadores de outras mutações no <i>TP53</i>	95

Figura 23	Tipos histológicos de sarcomas de partes moles em portadores da mutação p.R337H (n=34).....	98
Figura 24	Tipos histológicos de sarcomas de partes moles em portadores de outras mutações no gene <i>TP53</i> (n=12).....	99
Figura 25	Distribuição dos pacientes com carcinoma de adrenal de acordo com idade do diagnóstico.....	101
Figura 26	Número de casos de tumores de tireoide, rim e pulmão de acordo com o tipo de mutação.....	102
Figura 27	Comparação das idades de diagnóstico entre os 2 grupos de mutações e dados de tumores esporádicos do SEER.....	109
Figura 28	Heredograma ilustrativo da família Y0102.....	113
Figura 29 A	Heredograma ilustrativo da família Y0012.....	114
Figura 29 B	Heredograma atualizado da família Y0012.....	117
Figura 29 C	Paciente Y0012T001.....	118
Figura 29 D	Paciente Y0012T010.....	119

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Quadro 1	Sinais de alerta para a presença de Síndromes Hereditárias de Predisposição a Câncer.....	5
Quadro 2	Principais Síndromes Hereditárias de Predisposição a Câncer.....	6
Quadro 3	Critérios Diagnósticos para LFS.....	24
Quadro 4	Estratégias de rastreamento para portadores de mutações germinativas no gene <i>TP53</i> propostas pelo NCCN.....	53
Quadro 5	Protocolo de rastreamento para portadores de LFS.....	54
Tabela 1	Risco de segundo tumor primário em portadores da Síndrome de Li-Fraumeni de acordo com a idade do diagnóstico do primeiro tumor.....	12
Tabela 2	Critérios Clínicos das famílias testadas.....	71
Tabela 3	Espectro das mutações patogênicas no gene <i>TP53</i>	73
Tabela 4	Características Clínicas dos Portadores.....	75
Tabela 5	Frequência e categoria de idade do 1º tumor de acordo com faixa etária.....	76
Tabela 6	Pacientes com múltiplos tumores primários.....	79
Tabela 7	Número de tumores e idade ao diagnóstico.....	87

Tabela 8	Características do câncer de mama em portadoras de mutação germinativa no gene <i>TP53</i>	96
Tabela 9	Pacientes com carcinoma de tireoide.....	103
Tabela 10	Casos de câncer colorretal nos portadores de outras mutações no gene <i>TP53</i>	106
Tabela 11	Tipo de tumor e idade ao diagnóstico entre portadores de mutações germinativas no gene <i>TP53</i> e na população geral (dados do SEER).....	108
Tabela 12	Radioterapia e tumores desenvolvidos após.....	112

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ADR	carcinoma adrenocortical
AG	Aconselhamento genético
CCR	carcinoma colorretal
CDIS	carcinoma ductal <i>in situ</i>
CNV	variação no número de cópias
dbSNP	<i>The Single Nucleotide Polymorphism Database</i>
DHEAS	sulfato de deidroepiandrosterona
DHL	lactato desidrogenase
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EGFR	Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico
FAP	Polipose Adenomatosa Familiar
¹⁸ FDG-PET-CT	Tomografia por emissão de pósitrons com ¹⁸ Fluordeoxiglicose /tomografia computadorizada
GI	gastrointestinal
GIST	Tumor do estroma gastrointestinal
GLOBOCAN	Estimativa de incidência, mortalidade e prevalência de câncer no mundo
HER2	receptor para o fator de crescimento epidérmico humano tipo 2
IARC	<i>International Agency for the Research on Cancer</i>
INCA	Instituto Nacional do Câncer
LFL	Síndrome de <i>Li-Fraumeni Like</i>
LFS	Síndrome de Li-Fraumeni
LIFE	Li-Fraumeni Exploration Research Consortium
MLPA	<i>Multiplex ligation-dependent probe amplification</i>
NCCN	National Comprehensive Cancer Network
NCI	<i>National Cancer Institute</i>
NGS	<i>Next Generation Sequencing</i>
NICE	<i>UK National Institute for Health and Care Excellence</i>

OMIM	<i>Online Mendelian Inheritance in Man</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PET-CT	Tomografia por emissão de pósitrons/tomografia computadorizada
RE	receptor de estrógeno
RMCI	Ressonância Magnética rápida de corpo inteiro
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RP	receptor de progesterona
SBLA	<i>sarcoma, breast cancer, leukemia and adrenocortical tumor syndrome</i>
SEER	<i>The Surveillance, Epidemiology, and End Results</i>
SG	Sobrevida Global
SLP	Sobrevida Livre de Progressão
SNC	Sistema Nervoso Central
SNP	polimorfismo de nucleotídeo único
SO	sarcoma ósseo
SPM	sarcoma de partes moles
VHL	Von Hippel Lindau (gene e Síndrome)
VHS	velocidade de hemossedimentação
WES	<i>Whole Exome Sequencing</i>
WGS	<i>Whole Genome Sequencing</i>
WT	<i>Wild type</i>

ÍNDICE

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Incidência e Etiologia do Câncer	1
1.1.1	Síndromes Hereditárias de Predisposição a Câncer	2
1.2	A síndrome de Li-Fraumeni	7
1.2.1	Penetrância	8
1.2.2	Espectro Tumoral	13
1.2.3	Efeito da Radioterapia	17
1.2.4	Crítérios Diagnósticos para a Síndrome de Li-Fraumeni	19
1.2.5	Diagnóstico Molecular	25
1.2.5.1	O Gene <i>TP53</i>	25
1.2.5.2	A Proteína p53	31
1.2.5.3	A Mutação p.R337H	34
1.2.5.4	Sequenciamento do Gene <i>TP53</i>	44
1.2.6	Rastreamento	49
1.2.7	Principais Tumores na Síndrome de Li-Fraumeni	56
1.2.7.1	Câncer de Mama	56
1.2.7.2	Sarcoma	59
1.2.7.3	Tumores de Sistema Nervoso Central	61
1.2.7.4	Carcinoma Adrenocortical	62
2	JUSTIFICATIVA	64
3	OBJETIVOS	65
3.1	Objetivo Primário	65
3.2	Objetivos Secundários	65
4	PACIENTES E MÉTODOS	66
4.1	Tipo de Estudo	66
4.2	Aprovação Ética	66

4.3	Casuística.....	66
4.4	Análise Estatística	68
5	RESULTADOS.....	70
5.1	Resultados Gerais	70
5.2	Risco de Câncer	74
5.2.1	Segundo Tumor Primário.....	76
5.3	Sobrevida Global	82
5.4	Espectro de Tumores	84
5.4.1	Câncer de Mama	92
5.4.1.1	Portadores da Mutação p.R337H.....	93
5.4.1.2	Portadores de Outras Mutações no Gene <i>TP53</i>	94
5.4.2	Sarcoma de Partes Moles (SPM)	96
5.4.2.1	Portadores da Mutação p.R337H.....	96
5.4.2.2	Portadores de Outras Mutações no Gene <i>TP53</i>	98
5.4.3	Carcinoma de Adrenal.....	99
5.4.4	Outros Tumores.....	101
5.4.4.1	Câncer de Tireoide.....	102
5.4.4.2	Câncer de Pulmão	104
5.4.4.3	Câncer Renal	105
5.4.4.4	Câncer Colorretal	106
5.5	Tumores esporádicos e Tumores Associados a mutações germinativas no gene <i>TP53</i>	107
5.6	Radioterapia	109
6	DISCUSSÃO	120
6.1	Correlação Genótipo-Fenótipo	121
6.2	Idade do Diagnóstico e Risco de Câncer	122
6.3	Espectro Tumoral	125
6.3.1	Câncer de Mama	128
6.3.2	Sarcomas	130
6.3.3	Carcinoma de Tireoide	133

7	CONCLUSÕES	135
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	136

ANEXOS

Anexo 1	Carta de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa-CEP
Anexo 2	Ficha de coleta de dados
Anexo 3	Certificado Congresso Sociedade Americana de Oncologia (ASCO 2015)
Anexo 4	Resumo aceito para publicação nos anais do Congresso Sociedade Americana de Oncologia (ASCO 2015)
Anexos 5 a 7	Trabalhos apresentados como pôster no <i>International Society for Gastrointestinal Hereditary Tumours (InSIGHT)-6th Biennial Meeting 2015</i>
Anexo 8	Certificado de participação no <i>International Society for Gastrointestinal Hereditary Tumours (InSIGHT)- 6th Biennial Meeting 2015</i>
Anexo 9	Artigo em processo de submissão como <i>brief report</i> na JAMA Oncology
Anexo 10	Artigo sob revisão pelos autores para submissão

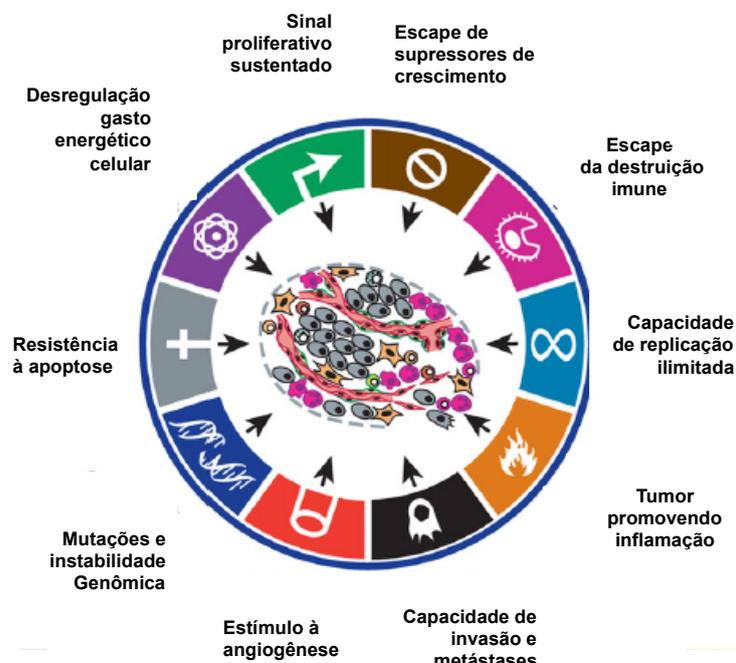
1 INTRODUÇÃO

1.1 INCIDÊNCIA E ETIOLOGIA DO CÂNCER

O câncer é a segunda causa de óbito no mundo. Em 2012, segundo dados do GLOBOCAN por FERLAY et al. (2013), a incidência de câncer foi de 14.067.894 novos casos e mortalidade por câncer ocorreu em 8.201.575 indivíduos. No Brasil, a estimativa para o ano de 2016 é de 600 mil novos casos de câncer e mortalidade por câncer de 184.000 casos (Ministério da Saúde 2016). Sendo assim, é inquestionável que o câncer é um grave problema de saúde pública.

O processo de tumorigênese se inicia quando uma célula adquire vantagem seletiva de crescimento quando comparada às células que compõem o tecido ao seu redor. Esta vantagem seletiva surge como resultado do acúmulo de alterações genômicas em determinados processos celulares, observando-se nestas células a autossuficiência para fatores de crescimento, insensibilidade a fatores inibitórios de crescimento, escape da apoptose, aumento do potencial proliferativo e estímulo à angiogênese e invasão tecidual (HANAHAN e WEIBERG 2000). Adicionalmente a estes fatores, recente publicação de HANAHAN e WEINBERG (2011) propôs que a capacidade de modificar ou reprogramar o metabolismo celular, evadir-se da destruição pelo sistema imunológico, a ocorrência de respostas inflamatórias, manutenção do microambiente tumoral e a instabilidade

genômica também são consideradas marcas características do câncer. (Figura 1) (HANAHAN e WEIBERG 2011).



Fonte: Adaptado de HANAHAN e WEIBERG (2011)

Figura 1 - Características da célula tumoral

1.1.1 Síndromes Hereditárias de Predisposição a Câncer

Diante de todo impacto que o câncer causa na população, estima-se que 10% de todos os cânceres possam ser hereditários, relacionados a síndromes genéticas com mutações germinativas nos genes de reparo, oncogenes ou nos genes supressores de tumor. Os portadores destas mutações têm um risco de desenvolver câncer maior do que o da população geral e os tipos de tumores envolvidos dependem de qual síndrome hereditária o paciente é portador. Assim, é importante identificar os

indivíduos portadores de síndrome hereditária de predisposição a câncer, confirmando o diagnóstico e reconhecendo o espectro de tumores que o paciente tem maior risco de desenvolver, a fim de propor medidas de prevenção e rastreamento precoce eficazes. A grande maioria das síndromes são autossômicas dominantes, portanto cada filho de um portador tem 50% de chance de ser portador da mesma mutação. A penetrância dessas síndromes é variável, mas muitas apresentam penetrância incompleta, ou seja, nem todos os portadores apresentarão fenótipo da síndrome ao longo da vida.

Um paciente oncológico pode ser portador de uma síndrome genética de predisposição a câncer quando apresenta diagnóstico de câncer em idade mais jovem do que esperado na população geral, múltiplos casos de câncer em várias gerações da família ou múltiplos tumores primários não-relacionados no mesmo paciente. Outras situações clínicas de alerta para avaliação oncogenética são: família que já tem mutação genética conhecida, presença de neoplasias raras, mesmo na ausência de história familiar de câncer (carcinoma medular de tireoide, carcinoma adrenocortical, carcinoma de plexo coróide), neoplasias associadas a anomalias congênitas e alguns subtipos específicos de tumores como câncer de mama com imunofenótipo triplo negativo e adenocarcinoma de ovário (Quadro 1).

Esses pacientes devem ser encaminhados para avaliação especializada em serviço de oncogenética, onde serão analisados os casos dos tumores apresentados pelo paciente e/ou familiares, elaborando um heredograma com as idades dos casos, para caracterização clínica de

alguma síndrome hereditária e, posteriormente, caso haja critérios clínicos para síndrome hereditária, realizar a confirmação molecular a partir do sequenciamento dos genes ligados à síndrome.

Após a identificação da mutação patogênica, os familiares são convocados para pesquisa da mutação encontrada na família e a eles é oferecido aconselhamento genético.

O aconselhamento genético prossegue após o diagnóstico com acompanhamento das famílias e conscientização sobre a síndrome e os riscos de desenvolvimento de tumores. Com isso, é possível acompanhar esses pacientes e propor medidas de rastreamento com objetivo de diminuir o risco de desenvolvimento de tumores ou diagnosticar a doença na fase inicial, quando as chances de sucesso do tratamento são maiores. Desta maneira, o aconselhamento genético ajuda a reduzir a morbidade e a mortalidade por câncer em portadores de síndrome hereditária de predisposição a câncer. Até o momento, um grande número de síndromes genéticas ligadas à predisposição a câncer já foi descrito. Algumas destas síndromes já tiveram seu espectro bem definido e, em alguns casos, os genes relacionados descritos, como é o caso da Síndrome de *Li-Fraumeni*, ligada a mutações germinativas no gene *TP53*.

Quadro 1 - Sinais de alerta para a presença de Síndromes Hereditárias de Predisposição a Câncer

- Múltiplos tumores primários no mesmo órgão ou em órgãos diferentes
- Tumores primários bilaterais em órgãos pares
- Tumores multifocais
- Diagnóstico em idade mais jovem do que o usual
- Tumores de histologia rara
- Acometimento em indivíduos de gênero geralmente não afetado (tumor de mama em homem)
- Associação de tumores com outras características genéticas, defeitos congênitos ou outras doenças raras
- Tumor associado a lesões cutâneas (Genodermatoses)
- História familiar de câncer, com presença de um familiar de primeiro grau com o mesmo tipo de tumor ou um tumor relacionado
- Presença de dois ou mais familiares de primeiro grau com tumores no mesmo sítio, tumores de histologia rara ou tumores relacionados a uma síndrome de câncer hereditário;
- Vários casos de um determinado tipo de câncer em múltiplas gerações de uma mesma família

Fonte: Adaptado de LINDOR et al. (2008)

Quadro 2 - Principais Síndromes Hereditárias de Predisposição a Câncer

Síndromes	Neoplasias	Genes	Incidência	Referência
Câncer de Mama e ovário hereditários	Mama, ovário, próstata, pâncreas	<i>BRCA1</i> <i>BRCA2</i>	<1/400	WHITTEMORE et al. 2004
Li-Fraumeni	Sarcomas, mama, SNC, ADR, CCR	<i>TP53</i>	<1/5.000-10.000	Laloo et al. 2003; KAMIHARA et al. 2014
Síndrome de Lynch	CCR, endométrio, estômago, delgado, ovário, vias urinárias	<i>MLH1</i> , <i>MSH2</i> , <i>MSH6</i> , <i>PMS2</i> <i>EPCAM</i>	<1/300-3.000	KATBALLE et al. 2002; DE LA CHAPELLE et al. 2005
Polipose Adenomatosa Familiar (FAP)	CCR, tumor desmóide, tireoide	<i>APC</i>	<1/10.000-30.000	FRIEDL E ARETZ. 2005
Cowden	Mama, tireoide, endométrio, renal	<i>PTEN</i>	<1/200.000	NELEN et al. 1999
Peutz - Jeghers	Tumores GI	<i>STK11</i>	<1/280.000	HEMMINKI et al. 1998
Câncer Gástrico Familiar	Estômago, carcinoma lobular de mama	<i>CDH1</i>	1/10.000	BARBER et al. 2008
Melanoma Familiar	Melanoma, pâncreas	<i>CDKN2A</i>	1,5/100.000	BORG et al. 2000
Neoplasia Endócrina Múltipla Tipo 2	Carcinoma medular de tireoide, feocromocitoma	<i>RET</i>	1/30.000	CALLENDER et al. 2008
Von Hippel-Lindau (VHL)	Carcinoma renal, hemangioblastomas, feocromocitoma	<i>VHL</i>	1/40.000	KAELIN et al. 2002; NIELSEN et al. 2016
Retinoblastoma Hereditário	Retinoblastoma, Sarcoma ósseo	<i>RB</i>	1/13.500	LOHMANN et al. 1996
Neurofibromatose Tipo 1	Neurofibrosarcomas, gliomas ópticos, feocromocitomas	<i>NF1</i>	1:3000-4000	LAYCOCK-VAN Spyk et al. 2011
Neurofibromatose Tipo 2	Schwanomas	<i>NF2</i>	1:60.000	EVANS et al. 2000
Feocromocitoma-Paraganglioma	Feocromocitoma, paraganglioma, GIST	<i>SDHA</i> , <i>SDHB</i> , <i>SDHC</i> , <i>SDHD</i> , <i>SDHAF2</i>	1:50.000	WELANDER et al. 2011

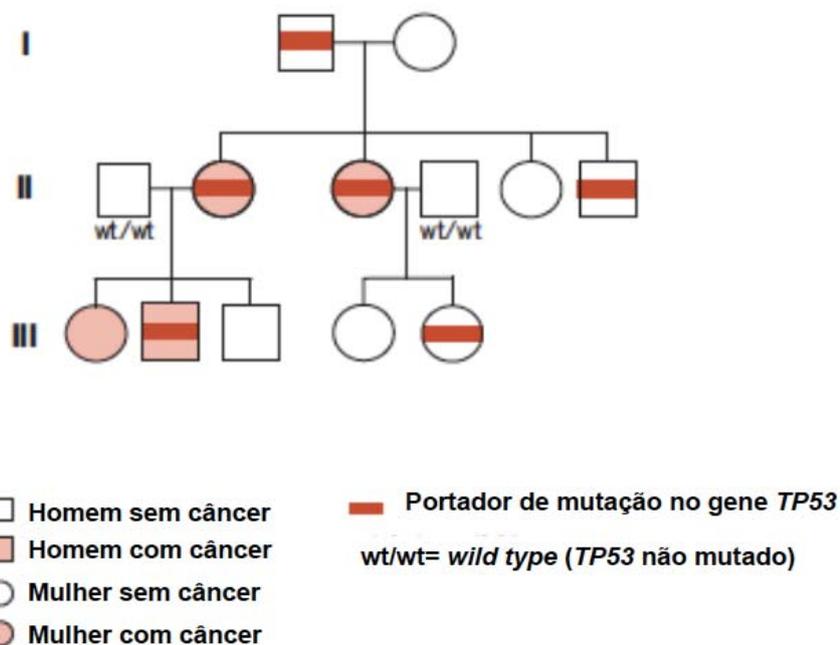
Legenda: ADR: carcinoma adrenocortical; CCR: carcinoma colorretal; SNC: tumor de sistema nervoso central; tumores GI: tumores gastrointestinais

1.2 A SÍNDROME DE LI-FRAUMENI

A Síndrome de Li-Fraumeni (LFS; OMIM#151623) é uma síndrome rara de predisposição hereditária ao câncer, de caráter autossômico dominante e de alta penetrância. Em 1969, Li e Fraumeni descreveram uma nova síndrome autossômica dominante de predisposição a câncer de mama, tumor de sistema nervoso central (SNC), sarcoma ósseo e de partes moles, carcinoma de adrenal e leucemia (Figura 2). Os pesquisadores revisaram 280 prontuários e 418 atestados de óbito de crianças com diagnóstico histopatológico de rabdomyossarcoma nos Estados Unidos da América. Nesta análise retrospectiva, cinco famílias apresentavam outros casos de câncer em gerações distintas, predominando câncer de mama e sarcomas em idades jovens (LI e FRAUMENI 1969a). Essas observações de sucessivas gerações com tumores em idade jovem na mesma família de crianças com rabdomyossarcoma, caracterizando um padrão de herança genética, levaram os cientistas a descreverem a Síndrome de Li-Fraumeni (LI e FRAUMENI 1969b; LI e FRAUMENI 1982).

A primeira definição da síndrome foi proposta em 1988, sendo posteriormente confirmada por estudos epidemiológicos, que mostraram o mesmo padrão de tumores em indivíduos de uma mesma família. (LI et al.1988; LI et al. 1992). Em 1990, MALKIN et al. descreveram mutações germinativas no gene *TP53* em cinco famílias com LFS, sendo o primeiro relato da associação de agrupamento de cânceres na família com sarcomas pediátricos. Até o ano de 2001, 185 famílias com LFS já haviam sido

reportadas na literatura (MALKIN 1994; NICHOLS et al. 2001).



Fonte: Adaptado de MALKIN et al. (2016)

Figura 2 - Heredograma de uma família com Síndrome de Li-Fraumeni

1.2.1 Penetrância

Os pacientes portadores desta síndrome têm risco aumentado de múltiplos tumores primários. Estudos iniciais com membros das famílias com diagnóstico de Síndrome de Li-Fraumeni demonstraram um risco maior de câncer em idade jovem, sendo o risco após os 60 anos não diferente do risco da população geral (BIRCH et al. 1990; GARBER et al. 1991; CHOMPRET 2002). Posteriormente, ficou demonstrado que o risco de desenvolvimento de câncer nos portadores da síndrome é de 50% antes dos 40 anos de idade, comparado a 1% na população geral, e de 90% até os 60

anos de idade (LUSTBADER et al. 1992; BIRCH et al. 2001; SIEGEL et al. 2014). A penetrância é mais pronunciada em mulheres, primariamente devido ao câncer de mama (WU et al. 2006). O risco de câncer é de 50% aos 31 anos de idade nas mulheres e de 50% aos 46 anos de idade para os homens e, em ambos os sexos, o risco de câncer aos 70 anos se aproxima de 100% (MAI et al. 2016). O câncer de mama é comum na LFS e a penetrância para câncer de mama nas mulheres é alta, atingindo 56% aos 46 anos de idade (80% dos cânceres de mama nas portadoras ocorrem entre 16 e 45 anos de idade) (CHOMPRET et al. 2000; BIRCH et al. 2001). O risco de câncer de mama pode chegar a 85% aos 60 anos de idade, comparável ao risco nas portadoras de mutações nos genes *BRCA1* e *BRCA2* (MAI et al. 2016).

Recentemente, MAI et al. (2016) reportou numa casuística de 286 portadores de LFS que o risco de acumulado de câncer varia com a idade, o sexo e o tipo de câncer, sendo nas portadoras femininas o risco maior após os 20 anos de idade e nos portadores masculinos, um risco maior antes dos 25 anos de idade e após os 50 anos de idade. Nesta população, o tumor mais comum abaixo dos 18 anos foi sarcoma de partes moles, seguido por osteossarcoma e tumor de SNC. Entre 18 e 44 anos, o câncer de mama foi o câncer mais comum e, após os 45 anos, sarcoma de partes moles retorna a ser mais frequente.

O risco para um segundo câncer aumenta quanto mais jovem for a idade do primeiro tumor e também com exposição à radioterapia (LI et al. 1975; LI et al. 1977; MAI et al. 2012). Em linhas gerais, acredita-se que

cerca de 15% dos portadores de mutação no gene *TP53* irão desenvolver um segundo câncer primário, 4% poderão desenvolver um terceiro tumor e 2% uma quarta neoplasia ao longo da vida. Resumidamente, um paciente com LFS que já apresentou câncer tem 57% de risco de desenvolver um segundo tumor nos próximos trinta anos após o primeiro diagnóstico. Portadores que apresentam tumor na infância são mais suscetíveis ao desenvolvimento de múltiplos tumores primários (HISADA et al. 1998). (Tabela 1)

A idade e o diagnóstico do primeiro câncer podem influenciar no risco de segunda neoplasia, sendo o risco mais alto naqueles portadores que desenvolveram o primeiro tumor nas primeiras duas décadas de vida ou tiveram rabdomiossarcoma como primeiro diagnóstico (HISADA et al. 1998). Aproximadamente 60% dos pacientes LFS que apresentam tumores pediátricos irão desenvolver uma segunda neoplasia nos trinta anos seguintes ao primeiro diagnóstico. No entanto, dados de estimativa de risco de segunda neoplasia após um primeiro diagnóstico de câncer são limitados. Numa publicação recente do NCI (*National Cancer Institute*), 49% de 193 portadores de mutação germinativa no gene *TP53* desenvolvem pelo menos um segundo câncer num período mediano de dez anos após o primeiro câncer. Dentro dos casos de segunda neoplasia, câncer de mama, sarcoma de partes moles, tumor de SNC e câncer de pulmão foram os tumores mais frequentes, nessa ordem, sendo o mesmo risco para homens e mulheres nos primeiros dez anos e, após dez anos do primeiro câncer, as pacientes femininas têm risco maior de segunda neoplasia do que os pacientes

masculinos (MAI et al. 2016). Nesta coorte do NCI não foi observado nenhum padrão de segunda neoplasia baseado no tipo do primeiro câncer, mas o risco do segundo câncer variou de acordo com o sexo e com a idade do diagnóstico do primeiro câncer (MAI et al. 2016).

Além do risco de múltiplos tumores associados a LFS, há descrição de antecipação nas gerações sucessivas em famílias com a síndrome (TRKOVA et al. 2002). A explicação para idade mais precoce de câncer e maior incidência de câncer nas gerações sucessivas pode ser pelo acúmulo de CNV (variação no número de cópias), conduzindo a uma instabilidade genômica e pela teoria do encurtamento dos telômeros. Interessantemente, os telômeros dos leucócitos de sangue periférico destes pacientes são mais curtos do que indivíduos normais da mesma idade e essa diferença é mais pronunciada em crianças do que adultos (TABORI et al. 2007; TRKOVA et al. 2007). Há também uma mudança no padrão do câncer com o aparecimento de câncer infantil nas gerações sucessivas ao invés dos tumores de adultos. A justificativa para esse achado seria a segregação de variantes de suscetibilidade pelo pai ou mãe não-portador, o que alteraria a penetrância das mutações germinativas no gene *TP53*. Um estudo com WGS (*Whole-genome Sequencing*) foi feito em treze portadores de uma mesma família com LFS para avaliar esses eventos que explicariam a antecipação e não conseguiu mostrar haplótipos que modulassem o efeito do gene mutado, CNV nem alteração no comprimento dos telômeros. A base para antecipação na Síndrome de Li-Fraumeni ocorre por diferentes

mecanismos que contribuem para a heterogeneidade fenotípica em diferentes famílias (ARIFFIN et al. 2014).

Uma variedade de modificadores genéticos que alteram a suscetibilidade a câncer também tem sido identificados em portadores de mutações do *TP53*, incluindo alguns polimorfismos de nucleotídeo único (SNP), como o SNP 309 no gene *MDM2*, um gene promotor do *TP53*, onde se conhece o efeito da proteína *MDM2* no controle regulatório da proteína *p53*. Os portadores com este polimorfismo desenvolvem tumores em idades mais precoce (BOND et al. 2004; BOUGEARD et al. 2006; RUIJS et al. 2007). Polimorfismos no gene *TP53* também são associados com modificação no fenótipo (*PIN2*, *PIN3* e *PEX4*) (MARCEL et al. 2009). Encurtamento de telômeros tem sido associado com idade mais precoce de câncer nas gerações sucessivas (fenômeno de antecipação), assim como variações no número de cópia também tem papel na determinação do fenótipo (TABORI et al. 2007; TRKOVA et al. 2007; SHLIEN et al. 2008).

Tabela 1 - Risco de segundo tumor primário em portadores da Síndrome de Li-Fraumeni de acordo com a Idade do diagnóstico do primeiro tumor

Idade do diagnóstico do primeiro tumor (anos)	Risco Relativo de um segundo tumor primário (IC 95%)
0-19	83.0 (36.9-87.6)
20-44	9.7 (4.9-19.2)
≥ 45	1.5 (0.5-4.2)
Todas as idades	5.3 (2.8-7.8)

Fonte: HISADA et al.(1998)

1.2.2 Espectro Tumoral

Diversos tipos de tumores malignos estão relacionados à LFS, sendo os tumores típicos da síndrome: sarcomas de partes moles e ósseos, leucemias, tumores do sistema nervoso central (SNC), tumores adrenocorticais e tumores de mama. Por isso, a síndrome foi inicialmente conhecida com SBLA (do inglês, *sarcoma, breast cancer, leukemia and adrenocortical tumor syndrome*) (LYNCH e GUIRGIS 1979; BIRCH et al. 1990; BIRCH 1992). (Figura 3). No entanto 20-30% dos tumores em famílias portadoras de mutações germinativas no gene *TP53* não pertencem ao espectro clássico da LFS.

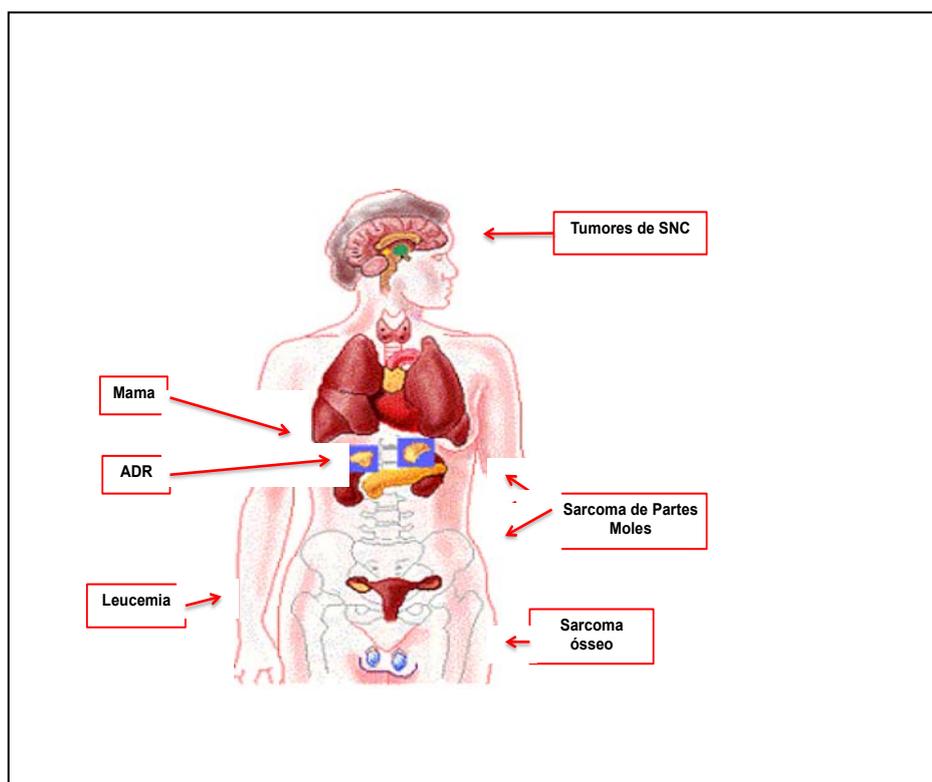


Figura 3 - Tumores inicialmente descritos na LFS

NICHOLS et al. (2001) avaliaram 738 neoplasias malignas em 45 pacientes portadores de mutações germinativas no gene *TP53* e em seus familiares de primeiro grau e concluíram que os tumores típicos da LFS (câncer de mama, sarcoma ósseo e de partes moles, tumor de SNC, leucemia e carcinoma de adrenal) correspondiam a 77% dos tumores observados nestas famílias.

O câncer de mama é o tumor mais comum em mulheres com LFS. O risco de câncer de mama ao longo da vida é de 49% aos 60 anos de idade, com significativo risco abaixo dos 40 anos (HWANG et al. 2003). A frequência de mutações no gene *TP53* na população geral e em séries de câncer de mama jovem (abaixo dos 30 anos), varia de menos de 1% a 7%, dependendo da série (LALLOO et al. 2006; GONZALEZ et al. 2009b; MOUCHAWAR et al. 2010).

Subsequentes estudos mostraram que o espectro de câncer na LFS é ainda mais amplo, incluindo melanoma, câncer de ovário, tumores de células germinativas, tumores gástricos, tumor de Wilms, câncer de pâncreas, câncer de pulmão, câncer de próstata, câncer colorretal e linfomas (NICHOLS et al. 2001; WONG et al. 2006; GONZALEZ et al. 2009a).

Um estudo com 28 famílias de portadores da LFS, com mutação germinativa no gene *TP53* confirmada, tentou estabelecer os tumores que compõem a Síndrome de Li-Fraumeni, em maior e menor frequência, através de cálculo estatístico. Tumores fortemente associados à LFS foram: câncer de mama, sarcoma de partes moles, osteossarcoma, tumor de SNC, carcinoma adrenocortical, tumor de Wilms e tumor filodes de mama (63.5%

de todos os cânceres). Carcinoma pancreático foi moderadamente associado, e leucemia e neuroblastoma foram fracamente associados à mutação germinativa no gene *TP53*. Outros tumores observados neste estudo, mas não em frequência excessiva, foram: pulmão, cólon, bexiga, próstata, colo de útero e ovário. Este estudo levantou a hipótese de que mutação germinativa no gene *TP53* não aumenta simplesmente o risco de câncer em geral, mas possivelmente tenha efeito tecido-específicos (BIRCH et al. 2001).

Com relação ao câncer gástrico, uma análise retrospectiva de heredogramas e prontuários de 62 famílias com LFS, de dados do Registro da Síndrome de Li-Fraumeni do Instituto Nacional de Câncer Americano (*National Cancer Institute - Li-Fraumeni Syndrome Registry*), revelou a ocorrência de câncer gástrico em 4.9% dos portadores que desenvolveram câncer (22.6% das famílias apresentavam pelo menos um indivíduo com câncer gástrico). Assim, o câncer gástrico parece ser um componente do espectro tumoral da LFS e deve ser incluído nos programas de rastreamento dos portadores de mutações germinativas no gene *TP53* (MASCIARI et al. 2011). Na população asiática, um levantamento de 159 portadores de LFS , onde 138 pacientes tiveram câncer, o câncer gástrico foi o segundo tumor mais observado (15.8%), ficando atrás apenas do câncer de mama (28.1%) (ARIFFIN et al. 2015).

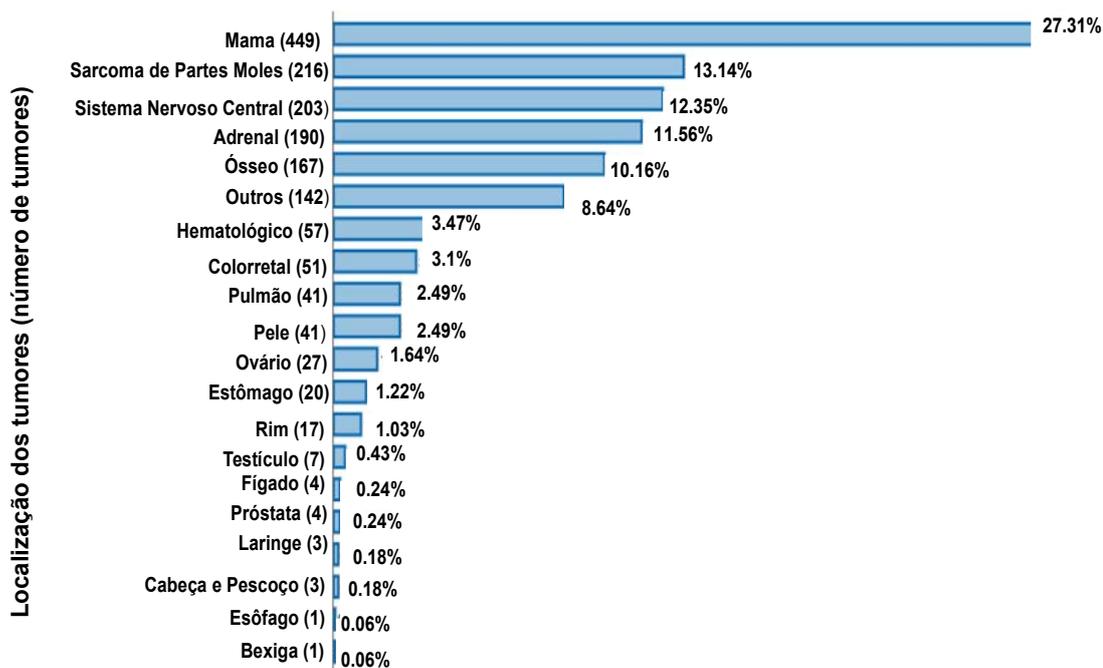
Um estudo recente do Registro Familiar de Câncer de Cólon (Estados Unidos da América, Canadá, Austrália e Nova Zelândia) avaliou a incidência de mutação germinativa no gene *TP53* em 457 indivíduos com câncer

colorretal em idade igual ou menor que 40 anos. A mutação germinativa no gene *TP53* foi encontrada em 1.3% dos pacientes. Essa incidência é comparável a de mutações germinativas no gene *APC*, tornando relevante o rastreamento para câncer colorretal em pacientes portadores da Síndrome de Li-Fraumeni (YURGELUN et al. 2015).

Portanto, o exato espectro tumoral e a frequência de tumores da síndrome ainda é um tema de debate, e vem sendo revisto a partir de observação de outros tipos de neoplasias em famílias que recebem diagnóstico de LFS. Outro fato importante neste cenário é a introdução recente dos painéis de multi genes na prática da Oncogenética, identificando mutação germinativa no *TP53* em muitos pacientes que não preenchem critérios para LFS, o que também contribui para mudança na estimativa de risco de câncer e espectro de tumores na LFS.

A grande variedade de tipos de câncer e idade do diagnóstico em portadores de LFS se deve a efeitos mutação-específico, interações gene-gene, fatores epigenéticos e fatores ambientais. Até o ano de 2015 1644 neoplasias já haviam sido descritas em portadores de mutações germinativas no gene *TP53* (IARC *TP53 database*, versão R18). (Figura 4)

O Aconselhamento Genético (AG) da Síndrome de Li-Fraumeni é um grande desafio devido ao vasto número de tumores que podem aparecer em qualquer idade.



Fonte: Modificado de IARC, TP53 database, versão R18. Abril de 2016

Figura 4 - Tumores associados a mutações germinativas no gene *TP53* (n=1644)

1.2.3 Efeito da Radioterapia

Nos portadores da LFS, a exposição à radioterapia aumenta o risco para um segundo câncer (MAI et al. 2012). Os pacientes portadores de mutações germinativas no gene *TP53* são mais suscetíveis a tumores radio-induzidos, principalmente no campo da radioterapia prévia (FERRARINI et al. 2011; HENRY et al. 2012).

O efeito da radioterapia ao causar danos ao DNA celular, nestes pacientes com mutações germinativas no gene *TP53*, onde já há inativação dos mecanismos de reparo celular e apoptose, pode acelerar o aparecimento de uma segunda neoplasia (KONY et al. 1997; LIMACHER et al. 2001; TURNBULL et al. 2006; SALMON et al. 2007; NUTTING et al. 2000).

Em laboratório, animais com perda de um alelo do *TP53* desenvolvem espontaneamente linfomas e sarcomas. Uma dose única de 4 Gy de radiação diminui drasticamente a latência para o desenvolvimento do tumor em camundongos heterozigóticos (KEMP et al. 1994).

Em 2000, NUTTING et al. relataram a incidência de dezessete tumores primários em uma única paciente portadora da mutação germinativa característica da LFS que havia sido submetida à radioterapia e ao uso do tamoxifeno após ter apresentado um câncer de mama. Em 2001, LIMACHER et al. sugeriram haver uma maior incidência de tumores secundários em regiões tratadas com radioterapia. Isto foi verificado em uma paciente portadora da mutação germinativa no gene *TP53* que havia apresentado um câncer de mama. A paciente apresentou dois novos tumores primários, um adenocarcinoma pequenas células de pulmão e um adenocarcinoma de cólon, ambos os tumores ocorridos no campo radioterápico (região de mama interna e no campo envolvido na irradiação do ovário, respectivamente). BARBOSA et al. (2015) relatou também um caso de uma paciente com antecedente de carcinoma de mama tratada com cirurgia, radioterapia e quimioterapia e que, após dez anos, apresentou um angiosarcoma epitelióide na região da mama irradiada.

Numa coorte francesa de 47 famílias com Síndrome de Li-Fraumeni, oito pacientes tiveram câncer de mama como primeira neoplasia; destas pacientes, seis receberam radioterapia adjuvante e duas pacientes apresentaram tumores radio-induzidos (um angiossarcoma de parede torácica e um fibrohistiocitoma na mama) em um período de seis anos de

seguimento. Além disso, uma paciente apresentou uma neoplasia de tireoide no campo da radioterapia da mama, que a princípio não foi considerado pelos pesquisadores como tumor radio-induzido (HEYMANN et al. 2010).

1.2.4 Critérios Diagnósticos para a Síndrome de Li-Fraumeni

Nos últimos 15 anos, os critérios clínicos de LFS vêm sendo ampliados (OLIVIER et al. 2003), a medida que se conhece mais o amplo espectro tumoral da síndrome, assim como seus tumores sentinela (carcinoma adrenocortical, carcinoma de plexo coróide), abrangendo um maior número de indivíduos com indicação para realização de teste genético. De todos os pacientes referidos para teste genético mutação germinativa no gene *TP53* é encontrada em 29% dos casos.

Os critérios clássicos propostos por Li e Fraumeni para a síndrome inicialmente compreendem: paciente índice (probando) com sarcoma em idade inferior a 45 anos, parente de primeiro grau com câncer em idade inferior a 45 anos e parente de primeiro ou segundo grau com câncer em idade inferior a 45 anos ou sarcoma em qualquer idade (LI et al. 1988; GARBER et al. 1991). Os critérios clínicos clássicos para síndrome têm sido estabelecido a partir de pelo menos 3 membros da família afetados.

No entanto, critérios diagnósticos menos estritos que os clássicos foram estabelecidos ao longo do tempo, visando definir o diagnóstico clínico das famílias que não tinham a expressão completa do fenótipo clássico da síndrome, mas que apresentavam tumores típicos em idade precoce, caracterizando a Síndrome de *Li-Fraumeni Like* (LFL), que compartilha

muitos aspectos com a Síndrome de *Li-Fraumeni*, como mutação no gene *TP53*. A mutação é encontrada em 70-80% dos pacientes que preenchem critérios clássicos da LFS e, em uma frequência menor, nas famílias que preenchem os demais critérios. Os critérios de LFL têm uma sensibilidade maior, mas um valor preditivo positivo menor para detecção molecular da mutação.

BIRCH et al. (1994) definiram critérios adicionais da síndrome quando: o probando tem diagnóstico de câncer na infância ou sarcoma, tumor de SNC ou carcinoma adrenocortical antes dos 45 anos de idade e parente de primeiro ou segundo grau com câncer típico da LFS em qualquer idade e parente de primeiro ou segundo grau com qualquer câncer em idade inferior a 60 anos.

Em seguida, EELES (1995) e FREBOURG et al. (2001) propuseram a inclusão de critérios mais abrangentes para identificar indivíduos com probabilidade de serem portadores de mutações germinativas no *TP53*.

Os critérios de Eeles 1 (LFL-E1) definem a síndrome em dois ou mais familiares de primeiro ou segundo grau com câncer do espectro LFS em qualquer idade (câncer de mama, sarcoma ósseo e de partes moles, tumor de SNC, leucemia, carcinoma de adrenal, melanoma, câncer de próstata e câncer de pâncreas) (EELES 1995). Posteriormente, os critérios de Eeles 2 (LFL-E2) caracterizavam a síndrome quando o paciente-índice (probando) com sarcoma em qualquer idade e dois dos seguintes tumores (podendo ser no mesmo indivíduo): câncer de mama abaixo dos 50 anos de idade e/ou tumor de SNC, leucemia, carcinoma de adrenal, melanoma, câncer de

próstata, câncer de pâncreas abaixo dos 60 anos de idade ou sarcoma em qualquer idade (OLIVIER et al. 2003).

Como a mutação no gene *TP53* também foi identificada em famílias que não preenchem os critérios para LFS/LFL devido a um espectro tumoral diferente, idade ao diagnóstico ou ocorrência de câncer esporádico, CHOMPRET et al. (2001) publicaram os critérios que incluíam: 1. probando com câncer de mama, sarcoma, tumor de SNC ou carcinoma de adrenal antes dos 36 anos e familiar de primeiro ou segundo grau com câncer antes dos 46 anos ou familiar com múltiplos tumores em qualquer idade; 2. probando com múltiplos tumores, incluindo dois tumores do espectro da LFS - câncer de mama, sarcoma, tumor de SNC ou carcinoma de adrenal, sendo um deles antes dos 36 anos, independente da história familiar ou 3. probando com carcinoma adrenocortical em qualquer idade, independente da história familiar. A mutação germinativa no gene *TP53* foi identificada em 29% e 35% das famílias francesas e americanas que preenchem critérios de CHOMPRET et al. (2001), respectivamente.

Em 2008, os critérios de Chompret foram revistos pelo mesmo grupo de pesquisadores franceses, que acrescentaram o seguinte critério: paciente com câncer de mama abaixo dos 36 anos, na ausência de mutação germinativa nos genes *BRCA1* e *BRCA2* (BOUGEARD et al. 2008). Em 2009, os critérios de Chompret foram analisados e uma nova versão foi publicada: 1. probando com tumor do espectro LFS (câncer de mama na pré-menopausa, sarcoma ósseo e de partes moles, tumor de SNC, carcinoma de adrenal, leucemia, carcinoma bronquíolo-alveolar de pulmão

(este atualmente denominado adenocarcinoma predominantemente lepidico) antes dos 46 anos e pelo menos um familiar de primeiro ou segundo grau com câncer com tumor do espectro LFS (exceto câncer de mama se o probando teve câncer de mama) antes dos 56 anos ou com múltiplos tumores; 2. probando com múltiplos tumores (exceto múltiplos tumores de mama), dois pertencentes ao espectro LFS e um dos tumores em idade inferior aos 46 anos; 3. probando com diagnóstico de carcinoma adrenocortical ou tumor de plexo coróide, independente da história familiar (TINAT et al. 2009). (Quadro 3). Os critérios de Chompret permitem testar um indivíduo com câncer mesmo com história familiar negativa, desde que o tipo de tumor e idade do diagnóstico estejam nos critérios. Atualmente, o critério proposto por CHOMPRET et al. (2001), revisado por TINAT et al. (2009), denominado critério de Chompret modificado, é o critério utilizado no diagnóstico da síndrome Li-Fraumeni *Like*. Apresenta sensibilidade e especificidade estimadas de 82% a 95% e 47% a 58%, respectivamente (FREBOURG et al. 1995; GONZALEZ et al. 2009a).

A última publicação desde grupo de pesquisadores franceses, em 2015, após análise de 552 tumores em 322 portadores de mutações germinativas no *TP53*, manteve os dois primeiros critérios publicados por TINAT et al. (2009) e acrescentou o critério de probando com diagnóstico de rabdomiossarcoma embrionário anaplásico, independente da história familiar e probando com câncer de mama abaixo dos 31 anos (BOUGEARD et al. 2015). Uma série de quinze crianças com rabdomiossarcoma anaplásico não-embrionário encontrou mutação germinativa no gene *TP53* em onze

pacientes (73%), reforçando a necessidade de rastreamento para LFS nos pacientes com rabdomiosarcoma (HETTNER et al. 2014).

Os critérios de Chompret e Chompret modificado são considerados mais abrangentes, com uma sensibilidade maior, englobando inclusive os critérios de Eeles e Birch, tornando-se os critérios mais utilizados na rotina para identificação das famílias e indicação de teste genético para confirmação molecular da Síndrome de Li Fraumeni. Assim, os critérios de Birch e Eeles permanecem com sua importância mais histórica do que prática na atualidade.

Quadro 3 - Critérios Diagnósticos para LFS

Critérios Clássicos Lie Fraumeni	<ul style="list-style-type: none"> Sarcoma na infância ou em idade jovem (< 45 anos) E Familiar 1º grau com câncer < 45 anos E Familiar 1º ou 2º grau com qualquer câncer < 45 anos ou sarcoma em qualquer idade
Variante Birch	<ul style="list-style-type: none"> Câncer na infância ou tumor de SNC, sarcoma ou ADR < 45 anos E Familiar de 1º ou 2º grau com câncer típico da LFS (mama, sarcoma, tumor de SNC, ADR ou leucemia) em qualquer idade E Familiar de 1º ou 2º grau com qualquer câncer < 60 anos
Critérios de Eeles	<ul style="list-style-type: none"> LFL-E1: dois ou mais familiares de 1º ou 2º grau com câncer do espectro LFS em qualquer idade (câncer de mama, sarcoma, tumor de SNC, leucemia, ADR, melanoma, câncer de próstata e câncer de pâncreas) LFL-E2: Probando com sarcoma em qualquer idade E Dois dos seguintes tumores (podendo ser no mesmo indivíduo): câncer de mama < 50 anos de idade e/ou tumor de SNC, leucemia, ADR, melanoma, câncer de próstata, câncer de pâncreas < 60 anos de idade ou sarcoma em qualquer idade
Critérios de Chompret	<ul style="list-style-type: none"> Probando com câncer de mama, sarcoma, tumor de SNC ou ADR < 36 anos Familiar de 1º ou 2º grau com câncer < 46 anos ou familiar com múltiplos tumores em qualquer idade OU Probando com múltiplos tumores incluindo dois tumores do espectro – câncer de mama, sarcoma, tumor de SNC ou ADR, sendo um deles < 36 anos, independente da história familiar OU Probando com ADR em qualquer idade, independente da história familiar
Chompret Modificado	<ul style="list-style-type: none"> Probando com tumor do espectro LFS < 46 anos (câncer de mama na pré-menopausa, sarcoma ósseo e de partes moles, tumor de SNC, ADR, leucemia, carcinoma bronquíolo-alveolar de pulmão) E Um ou mais familiares de 1º ou 2º grau com câncer com tumor do espectro LFS < 56 anos (exceto câncer de mama se o probando teve câncer de mama) ou com múltiplos tumores OU Probando com múltiplos tumores (exceto múltiplos tumores de mama), dois pertencentes ao espectro LFS e um dos tumores em idade < 46 anos OU Probando com ADR ou tumor de plexo coróide, independente da história familiar
Chompret 2015	<ul style="list-style-type: none"> Os critérios acima e Probando com rabiomiossarcoma embrionário anaplásico ou câncer de mama < 31 anos, independente da história familiar

Legenda: ADR- carcinoma adrenocortical

1.2.5 Diagnóstico Molecular

1.2.5.1 O Gene *TP53*

O gene envolvido na LFS é o gene supressor de tumor *TP53* (cromossomo 17p13; OMIM#191170), que codifica a fosfoproteína nuclear p53, com 383 aminoácidos, massa molecular de 51 a 53 KDa, envolvida em múltiplas vias que controlam a proliferação celular, homeostase, e também o ciclo celular, apoptose e reparo do DNA.

O gene *TP53* foi primeiramente identificado e caracterizado em 1979, na época em que se acreditava que os principais *drivers* da oncogênese eram os vírus. Esse achado científico conduziu todos os demais avanços para entendimento dos oncogenes e o papel dos genes supressores de tumor na transformação celular maligna. O gene *TP53* ficou então conhecido como “guardião do genoma” e mais da metade dos cânceres humanos adquirem mecanismos que impedem a função do gene *TP53* (LEVINE et al. 1991; LANE 1992).

O *TP53* é um gene supressor de tumor localizado no braço curto do cromossomo 17 (17p13.1), com 20 kb e 11 éxons, sendo o primeiro éxon não-codificador e produz um mRNA de 2.508 pb (MALKIN 2011). A sequência codificante do gene apresenta cinco domínios, cada um deles responsável por funções específicas (Figura 5).

As mutações somáticas no gene *TP53* são as alterações genéticas mais frequentes nos cânceres dos seres humanos, ocorrendo em 10-60% dos cânceres, sendo importantes no processo de carcinogênese. A prevalência de mutações adquiridas no gene *TP53* é mais alta em

carcinoma de ovário (47 %), câncer colorretal (43 %), câncer de cabeça e pescoço (42 %) e câncer de esôfago (41 %) (PETITJEAN et al. 2007). Alguns estudos mostram que as mutações somáticas no *TP53* são alterações comuns em tumores associados à ocupação ambiental ou carcinógenos ocupacionais, como: câncer de pulmão, câncer de bexiga, câncer colorretal, tumores de cabeça e pescoço, entre outros (HOLLSTEIN et al. 1991).

A maioria das mutações são trocas de base distribuídas ao longo dos éxons do gene (*missense*), resultando na estabilização com ganho de função oncogênica da proteína mutante p53, o que é importante pra manutenção do tumor (BIRCH 1992). A localização e o tipo das mutações pode informar sobre a natureza dos mecanismos mutagênicos envolvidos na etiologia do câncer, podendo ser marcadores preditivos e prognósticos e até alvo para intervenções terapêuticas. Todas essas mutações estão armazenadas no banco de dados do (Agência Internacional de Pesquisa em Câncer – IARC 2016). As mutações germinativas no gene *TP53* estão relacionadas à Síndrome de Li-Fraumeni, um padrão de herança autossômica dominante associada ao aparecimento de múltiplos tumores em idade jovem (OLIVIER et al. 2010).

Em 1990, Malkin e Srivastava demonstraram que mutações germinativas no gene *TP53* era a base molecular para a Síndrome de Li - Fraumeni (MALKIN et al. 1990; SRIVASTAVA et al. 1990). Em 1992, foram produzidos em laboratório camundongos nocauteados (*Trp53*) ou *knock-out*, portadores de mutações no gene *TP53*. Os camundongos apresentaram

desenvolvimento físico normal, porém apresentavam tumores múltiplos em idade precoce demonstrando, a partir de um modelo animal, a importância da proteína p53 na etiologia dos tumores malignos (DONEHOWER et al. 1992).

As mutações no gene *TP53* facilitam a carcinogênese por pelo menos dois mecanismos: alteração da estabilidade genética em células com danos no DNA e redução da capacidade do excesso de células progenitoras de entrarem em diferenciação e senescência. As células com mutação estão mais propensas à proliferação anormal devido à perda parcial ou total da função da proteína p53.

Interessantemente os tipos de mutações germinativas e somáticas no *TP53* são muitos semelhantes, a maioria sendo mutações do tipo *missense* (75%), ocorrendo a troca de um aminoácido por outro, resultando em uma proteína p53 mutante com perda da atividade do domínio de ligação ao DNA do gene *TP53*. Esta é uma característica ímpar do gene *TP53*, uma vez que a maioria dos genes supressores de tumor são inativados por mutações *nonsense* ou *frame shift*, conduzindo a produção de proteína truncada ou eliminação do produto do gene. Mutações em sítios de *splice*, grandes deleções e complexo inserção-deleção também são encontradas na Síndrome de Li-Fraumeni, apesar de menos frequentes.

Em resumo, as mutações no gene *TP53* podem ser categorizadas em dois grupos: mutações com ganho de função (mutações *missense*), conferindo efeito dominante-negativo ou promovendo função oncogênica; e as mutações com perda de função como mutações *nonsense* e *frame shift*.

A maioria das mutações germinativas ocorre no sítio de ligação do DNA (*DNA binding domain*), nos éxons 5-8, localizadas em regiões preferenciais (*hot spots*), alterando a estrutura e a função da proteína p53 (Figura 6). Grande parte dessas mutações são do tipo *missense* promovendo alterações no aminoácido da proteína p53 e resultando em alteração na função de transcrição do gene. As mutações no gene *TP53* diferem de mutações em outros genes supressores de tumor, como *RB1*, *BRCA1*, *BRCA2*, *APC*, nos quais são frequentemente mutações *nonsense* ou deleções. Os indivíduos com mutação germinativa no *TP53* apresentam um alelo mutado e outro alelo funcional do *TP53* e um alto risco de desenvolver múltiplos tumores quando o alelo funcional é inativado por diversos mecanismos adquiridos, em concordância com o modelo de “*two-hits*” de Knudson para inativação do gene supressor de tumor (KNUDSON 1971). Com isso há uma perda da função da proteína p53, criando um fenótipo mutante, e permitindo que as células com danos no DNA se multipliquem e acelerem a progressão para câncer (GUIMARAES e HAINAUT 2002).

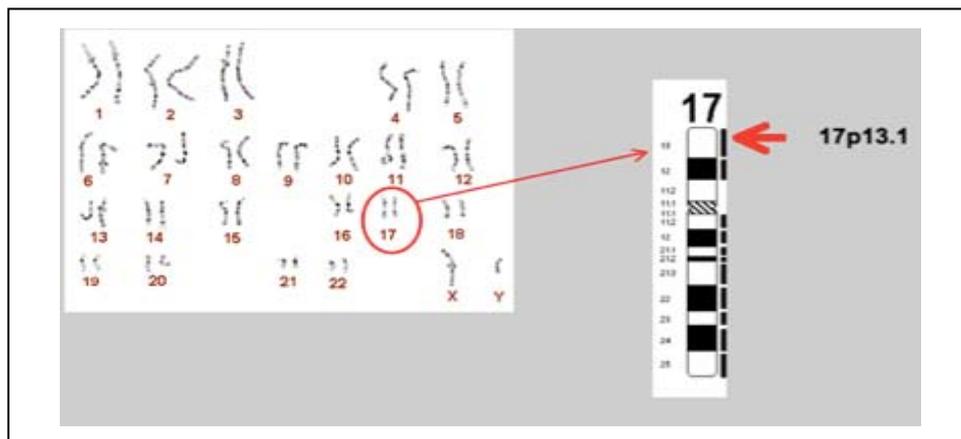
As mutações germinativas no gene *TP53* são encontradas em aproximadamente 77% das famílias que preenchem critérios clínicos para LFS clássica e entre 20% a 40% das famílias que preenchem os demais critérios clínicos.

Mutações *de novo* no gene *TP53* em geral não são tão frequentes, mas há séries de pacientes que descrevem uma frequência de 7 a 20% de mutações em pacientes com tumores do espectro LFS em idade jovem

(GONZALEZ et al. 2009b). As mutações germinativas no gene *TP53* podem ser encontradas em pacientes que apresentam tumores esporádicos, sem história familiar de outros tumores. Por exemplo, portadores de carcinomas adrenocorticais podem apresentar mutações germinativas no gene *TP53* em até 50 a 97% dos casos (WAGNER et al. 1994; VARLEY et al.1997a e b; FIGUEIREDO et al.2006). Crianças que apresentam tumores de sistema nervoso central sem história familiar de câncer são portadores da mutação germinativa no gene *TP53* em até 10% dos casos (FELIX et al. 1995; LI et al. 1995). Assim como pacientes pediátricos com diagnóstico de rabdmiossarcoma serão portadores em 9% dos casos de mutações germinativas no gene *TP53*, independente de terem ou não história familiar de outros tumores (DILLER et al. 1995). O mesmo pode ser observado em pacientes com osteosarcoma, nos quais se estima que 2 a 3% dos casos apresentem mutações germinativas no gene *TP53* (McINTYRE et al. 1994). A presença de mutações germinativas no gene *TP53* nestes tumores isoladamente, na ausência de história familiar, pode ser explicada pela ocorrência de mutações *de novo*. Em famílias nas quais múltiplos tumores precoces ocorrem, mas que não apresentam, no entanto, os critérios diagnósticos da LFS e LFL, a taxa de detecção de mutação germinativa é de 7 a 20% (MALKIN et al. 1992).

Muitas famílias com critérios clínicos de LFS não apresentam mutação no gene *TP53*, conseqüentemente tem sido investigado que possam ocorrer mutações fora das regiões codificadores (por exemplo, nos introns e regiões promotoras) ou mutações em outros genes ligados à via de

sinalização do *TP53*, como *CHEK2*, *PTEN*, *CDKN2A*, *MDM2*, mas estas teorias ainda são controversas e nenhum outro gene tem sido associado a LFS até o momento (BELL et al. 1999; BROWN et al. 2000; VAHTERISTO et al. 2001; VARLEY 2003; PETITJEAN et al. 2007).



Fonte: Adaptado de <http://p53.free.fr>

Figura 5 - Localização do gene *TP53* no braço curto do cromossomo 17 na posição 13.1

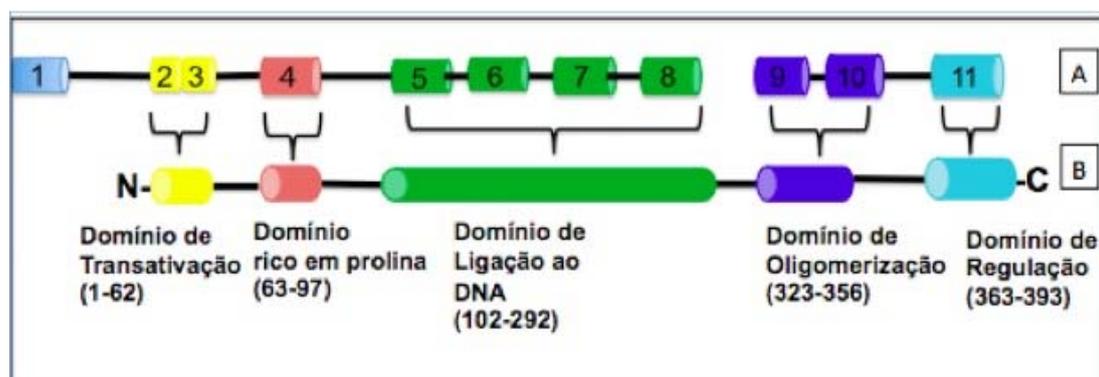


Figura 6 - O gene *TP53* e a proteína p53. A-Representação dos éxons 1 a 11 do gene *TP53*; B-Proteína p53 e seus domínios

1.2.5.2 A Proteína p53

A proteína p53 inibe a expressão de oncogenes, reprimindo a proliferação celular. A proteína p53 é um fator de transcrição constitutivamente expresso na maioria das células e é ativado em resposta a situações de estresse celular, induzindo a expressão de proteínas envolvidas na inibição do ciclo celular e na indução da morte celular por apoptose. A perda da função da proteína p53 suprime os mecanismos de proteção celular contra o acúmulo de alterações genéticas (OLIVIER et al. 2003) (Figura 7).

O gene *TP53* é normalmente ativado durante a transição da fase G1 para a fase S do ciclo celular, participando do ponto de controle para entrada da célula na fase S. A proteína p53, uma vez ativada, controla os processos biológicos das células, incluindo metabolismo oxidativo, ciclo celular, reparo do DNA, senescência e apoptose. Recentes estudos têm mostrado que a proteína p53 regula um *pool* de *stem cells* e células progenitoras. Quando a mutação *missense* inativa essa proteína, há prejuízo na resposta anti-proliferativa e supressora de crescimento celular. Além disso, as mutações que causam ganho de função tornam a proteína p53 mutante com função oncogênica e promotora de desenvolvimento tumoral (FREBOURG et al. 1992; HAFSI e HAINAUT 2011).

A proteína p53 é uma proteína supressora de tumor e, por essa razão, tem se tornado a chave para o entendimento da biologia molecular do câncer. Como grande número dos tumores tem mutação no gene *TP53* e uma outra parcela tem alteração de função da proteína p53, estratégias

melhor conhecimento da função e regulação de p53 estão sendo ativamente investigadas também no campo de terapia antineoplásica (LANE et al. 2002). A proteína p53 impede a proliferação inapropriada das células, prevenindo replicação do DNA com alterações e eliminando as células que se multiplicam desordenadamente (leva à parada do ciclo celular e apoptose das células alteradas), na tentativa de preservar a integridade do genoma. A proteína p53 é regulada pela proteína Mdm2. Em situações de estresse da célula, há um aumento de transcrição da proteína p53 e ativação da proteína por fosforilação de sua região N-terminal por quinases, como Atm e Chk2, para impedir a proliferação anormal das células. A fosforilação levará a dissociação do complexo p53/Mdm-2 e logo a estabilização da p53. Já em situações normais, a proteína Mdm2 exerce um controle regulatório negativo para manter a proteína p53 em níveis baixos (através de ubiquitinação e degradação da p53 no proteossoma) e assim permitir a proliferação celular.

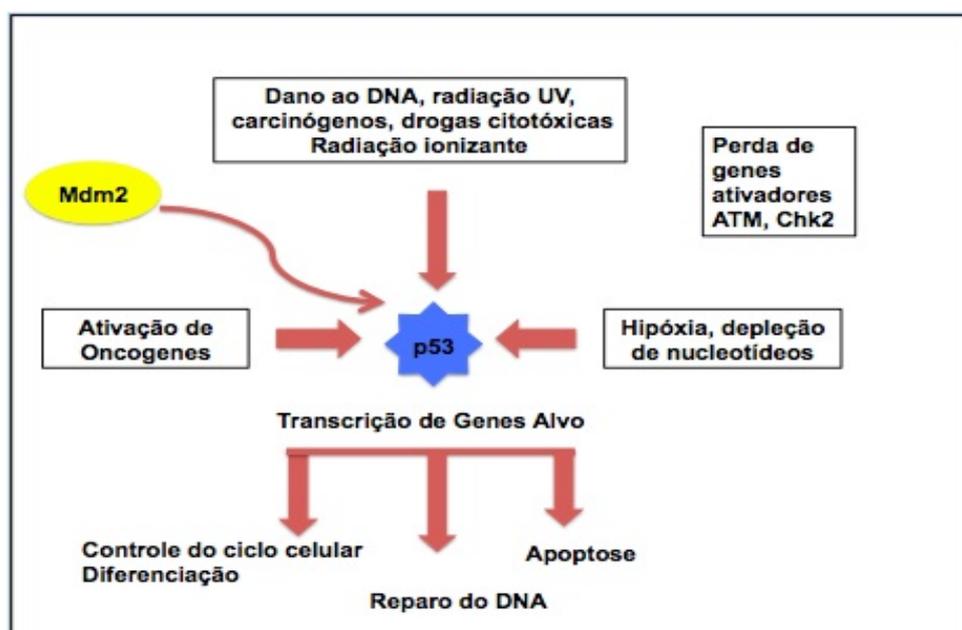


Figura 7 - Vias de sinalização da proteína p53

O domínio inicial da proteína p53 ou amino terminal (aminoácidos 1 a 62) é o domínio de transativação, no qual se encontra o sítio de ligação à sua proteína reguladora Mdm2. O segundo domínio é o domínio rico em prolina (aminoácidos 63 a 92) e o terceiro domínio é o domínio central (aminoácidos 102 a 292), onde está o sítio de ligação ao DNA. O domínio de oligomerização (aminoácidos 323 a 356) é importante para a configuração espacial da proteína e o domínio final é o domínio de regulação (aminoácidos 363 a 393) (Figura 6).

Alguns estudos mostraram que proteína p53 mutante, proveniente de mutações *missense* no gene *TP53*, tem reduzida capacidade de ativar os promotores dos genes-alvo (p21, MDM2, por exemplo), o que caracteriza um efeito dominante-negativo, levando à inibição do crescimento celular. Além disso, há inibição da capacidade da proteína p53 *wild-type* em induzir parada do ciclo celular (WILLIS et al. 2004). Um estudo recente revela que as mutações *missense* estão associadas com diagnóstico de câncer em idade mais precoce (BOUGEARD et al. 2015). Assim, há um interesse em se conhecer as características da mutação p.R337H na função da proteína p53 mutante e o quanto isso influencia o espectro tumoral.

Em resumo, a proteína p53 age em prol da integridade tecidual. Nas neoplasias em geral, a proteína p53 age em duas fases, tanto na fase de iniciação dos tumores, impedindo a proliferação de células com danos no DNA e crescimento desregulado; como também na fase de progressão do tumor já instalado, prevenindo a proliferação de células com acúmulo de

mutações, evitando o surgimento do fenótipo invasivo (HAINAUT e WIMAN 2009).

1.2.5.3 A Mutação p.R337H

A mutação germinativa p.R337H do gene *TP53* foi primeiramente descrita em uma criança de Portugal, num rastreamento que identificou 17 tipos de mutações no gene *TP53* em pacientes com câncer antes dos 46 anos de idade (CHOMPRET et al. 2000). Em 1999, a mutação p. R337H havia sido encontrada em um paciente pediátrico com carcinoma do córtex da adrenal. No entanto, naquela época, não foi possível identificar se se tratava de uma mutação germinativa ou apenas somática (VARLEY et al. 1999).

Em 2001, RIBEIRO et al. identificaram a mutação em 35 de 36 crianças com carcinoma adrenocortical, da periferia de Curitiba, no Brasil. Essas crianças não apresentavam história familiar sugestiva de LFS ou LFL. Esta mutação só havia sido descrita até então em uma família com LFS na França, IARC (2016). Os pesquisadores referiram não haver a existência de efeito fundador, a partir do qual um ancestral comum a todas essas crianças haveria levado a preservação da alteração nas gerações seguintes. Esses achados levaram os cientistas a pensarem que se tratava de uma mutação tecido-específica, ou seja, indivíduos portadores da mutação germinativa p.R337H apresentariam um risco aumentado para o desenvolvimento apenas de um tipo de tumor: o carcinoma adrenocortical. Estudo posterior encontrou a mesma mutação germinativa, p.R337H, em 77.7% de 18

crianças e 13.5% de adultos brasileiros com carcinoma adrenocortical. A mesma mutação foi encontrada também nos familiares de primeiro grau desses pacientes, os quais não apresentavam história pessoal de neoplasia, sugerindo ser uma mutação de baixa penetrância (LATRONICO et al. 2001).

Estudos na população do Sul e Sudeste do Brasil, em pacientes que preenchiam critérios de LFS, identificaram essa mutação fundadora (p.R337H), com uma alta prevalência nesta região do país (0.3%), devido ao efeito fundador. Uma das hipóteses que explicam porque essa mutação deletéria tem sido perpetuada ao longo dos anos é baseada no fato de que há uma penetrância reduzida relativa, ocorrendo um risco de câncer de 30% antes dos trinta anos de idade, enquanto o risco de câncer ao longo da vida é similar ao risco associado às demais mutações germinativas no gene *TP53* (GARRITANO et al. 2010). Assim, muitos portadores podem ter seus filhos antes de apresentarem câncer, contribuindo para disseminar a mutação para outras gerações. Esta mutação, p.R337H (c.1010G>A, p.Arg337Hist), ocorre no domínio de oligomerização do gene *TP53* (éxon 10), com uma troca de arginina por histidina (Figura 8) e foi primeiramente descrita em crianças com carcinoma adrenocortical (RIBEIRO et al. 2001).

DI GIAMMARINO et al.(2002) conduziram estudos funcionais e estruturais da proteína p53 associadas à mutação p.R337H (p53-R337H), para confirmar esta hipótese de mutação tumor-específico. A proteína p53 requer tetramerização para exercer sua função de iniciar a parada do ciclo celular e induzir apoptose. A forma mutante da proteína nos portadores da mutação p.R337H (p53tet-R337H) assume uma forma menos estável que a

proteína *wild type* (p53tet-*wild type*). Assim, a proteína p53tet-R337H é altamente sensível a variações do pH, e nesta situação adquire sua função patogênica, predispondo à ocorrência de tumores em sítios onde ocorrem oscilações de pH. Quando a célula tem um pH 7,0, a histidina está protonada, o que permite a formação das pontes de hidrogênio, enquanto que em pH 8,0 a histidina se torna desprotonada, prevenindo a formação deste tipo de ligação química. Com isso, a oligomerização da proteína p53 não pode ocorrer, levando à inativação da sua capacidade de se ligar nas regiões regulatórias dos genes-alvo. A partir dessas observações, foi levantada a hipótese que a mutação p.R337H seria tecido-específica, ou seja, predisporia apenas ao desenvolvimento de câncer em tecidos com aumento do pH intracelular.

A glândula adrenal apresenta um processo de remodelamento celular intenso no período de desenvolvimento tanto pré quanto pós-natal e isso requer uma integridade do sistema de apoptose. As células apoptóticas normalmente tem um pH elevado e isto desestabilizaria a tetramerização da proteína p-R337H e assim essas células escapariam do processo de apoptose, ocorrendo um proliferação celular descontrolada e desenvolvimento de tumor (DI GIAMMARINO et al. 2002).

Estudo realizado por ACHATZ et al. (2007), em 45 famílias com critérios clínicos para LFS/LFL, detectou a presença de mutação germinativa no gene *TP53* em treze famílias, sendo seis famílias com a mutação p.R337H (46.2%). Assim, diferentemente dos achados de RIBEIRO et al. (2001), a mutação p.R337H está associada à presença de história familiar de

LFS e LFL e à ocorrência de múltiplos tumores, não apenas ao carcinoma adrenocortical. Nesse estudo, também foi verificada a ocorrência de tumores não pertencentes ao espectro da LFS, como carcinoma de papila duodenal, carcinoma de tireoide e carcinoma renal. Além disso, este estudo sugeriu que os portadores da mutação p.R337H apresentavam uma penetrância menor que a LFS clássica.

SEIDINGER et al. (2011) demonstrou pela primeira vez a associação da mutação p.R337H com carcinoma de plexo coróide (69% de treze casos analisados) e osteossarcoma na faixa etária pediátrica (7.3%). Esta mutação não foi identificada em pacientes com leucemia linfóide, leucemia mielóide, linfoma, sarcoma de Ewing, rabdomiossarcoma e outros tumores do SNC pediátricos (exceto carcinoma de plexo coróide), tumores frequentemente encontrados em famílias com Síndrome de Li-Fraumeni.

Portadores desta mutação têm um risco de 50-60% de desenvolver uma ampla variedade de tumores, incluindo alguns não descritos na LFS clássica (GIACOMAZZI et al. 2015). Entre as famílias brasileiras portadoras desta mutação, há uma alta frequência de câncer de tireoide e câncer renal, por exemplo (ACHATZ et al. 2007; 2009). O espectro diferenciado da LFS na população brasileira pode ocorrer devido a fatores modificadores genéticos e/ou ambientais. Essa penetrância condicional também é dependente de polimorfismos já descritos como o PIN3, por exemplo, que modifica a penetrância e o fenótipo da síndrome (FANG et al. 2011). A estrutura da proteína p53-R337H é semelhante a *wild-type* p53, mas é

altamente sensível ao pH, tornando-se alterada funcionalmente em tecidos específicos e em condições particulares.

Dada a alta incidência da mutação p.R337H no Sul do Brasil, foi levantada à hipótese de uma origem comum para esta mutação na população brasileira. Os pesquisadores PINTO et al (2004) demonstraram uma forte evidência de co-segregação de dois polimorfismos intragênicos (VNTRp53 and p53CA) marcadores de p53 e a mutação germinativa p.R337H em 22 pacientes portadores da mutação p.R337H com carcinoma adrenocortical, indicando que esta mutação se origina de uma ancestral comum à maioria dos brasileiros com carcinoma adrenocortical.

Posteriormente, GARRITANO et al. (2010) realizaram um estudo mais detalhado dos haplótipos do gene *TP53*. Foram feitas genotipagem de 12 indivíduos de famílias brasileiras portadoras da p.R337H e 36 indivíduos sem mutação. Com a análise de um conjunto de SNP (polimorfismos de nucleotídeo único), foram identificados 56 haplótipos, sendo apenas 3 com frequência alta apenas nos portadores da mutação p.R337H. A análise dos heredogramas destas famílias, evidenciou que o haplótipo A3 SNP179 (rs ID no. rs9894946) segrega com a p.R337H, confirmando origem comum dos portadores da mutação p.R337H. A maioria dessas famílias são provenientes de cidades brasileiras nas regiões Sul e Sudeste, distribuídas ao longo de uma rota conhecida por ser a principal rota usada por comerciantes (tropeiros) portugueses nos séculos XVIII e XIX, sugerindo que a mutação p.R337H pode ter se originado de um fundador de origem portuguesa. A circunstância histórica e a penetrância relativamente baixa

antes dos 30 anos podem ter contribuído para a manutenção dessa mutação patogênica na população brasileira (GARRITANO et al. 2010).

A mutação p.R337H também já foi identificada em dois portadores na Europa, que não tinham relação conhecida com o Brasil: uma menina de família portuguesa com carcinoma adrenocortical aos oito anos de idade e um paciente de 71 anos, na Alemanha, com carcinoma adrenocortical e antecedente de câncer de cólon e câncer próstata. Neste paciente foi pesquisado o haplótipo descrito por GARRITANO et al. (2010) e não foi encontrado (HERRMANN et al. 2012; GIACOMAZZI et al. 2014b).

A prevalência da mutação p.R337H foi investigada em crianças com câncer no Sul do Brasil. Foram analisadas 292 crianças, das quais 25.3% tinham história familiar positiva para LFL. Foi encontrada a mutação p.R337H em onze crianças com câncer (3.7%), sendo que nove delas tinham diagnóstico de carcinoma adrenocortical e duas tinham diagnóstico de carcinoma de plexo coróide (GIACOMAZZI et al. 2013). Esses dados mostram que uma alta proporção das crianças com câncer no Sul do Brasil preenchem critérios para a Síndrome de Li-Fraumeni.

A relevância da prevalência da mutação p.R337H na população brasileira foi reafirmada num estudo no estado do Paraná, onde 171.000 recém-nascidos foram testados para a mutação fundadora p.R337H e a mutação foi encontrada em 461 destas crianças (0.27%). Os pesquisadores receberam o apoio do governo do Paraná, que incluiu o teste para detectar a ocorrência da mutação p.R337H na triagem neonatal, ou teste do pezinho, e mais de 171.000 crianças nascidas no estado foram testadas e dezessete

crianças desenvolveram carcinoma adrenocortical. O teste genético foi oferecido para os familiares dos portadores da mutação e também foi oferecido a eles um programa de rastreamento. Os pacientes em rastreamento tiveram diagnóstico de carcinoma de adrenal em estágios mais precoces, possibilitando maior sucesso com o tratamento anti-neoplásico (CUSTODIO et al. 2013). Assim, a Assembléia Legislativa do Estado do Paraná decretou no ano de 2008 o projeto de lei nº 268/2008, tornando-se obrigatória a realização do exame molecular de DNA para a detecção da mutação p.R337H no gene *TP53* em todos os recém-nascidos do estado.

Este estudo também demonstrou a incidência de tumores como neuroblastoma, glioblastoma multiforme e linfoma de Burkitt em recém-nascidos portadores da mutação e, em portadores adultos, a frequência de tumores de mama, estômago e SNC. Com esse estudo, percebemos a alta prevalência da mutação p.R337H na região Sul do Brasil, comparando a uma prevalência estimada mundialmente de 1:5.000 indivíduos de mutações germinativas no *TP53* (LALLOO et al. 2003) ou até 1 para 20.000 na população geral, de acordo com estudos mais recentes sugerem (GONZALEZ et al. 2009b). No entanto, como o espectro tumoral da síndrome é muito amplo, a LFS ainda é uma condição clínica subdiagnosticada tanto no Brasil como mundialmente.

Outro estudo realizado em população sadia (mulheres em programa de rastreamento para câncer de mama) na região de Porto Alegre, no Sul do Brasil, pesquisou a mutação p.R337H em 750 mulheres e detectou a mutação em duas pacientes, reafirmando uma prevalência dessa mutação

de 0.3% na população do Sul do Brasil. As duas portadoras eram parentes distantes e relataram casos de câncer na família, porém sem preencher critérios para LFS/LFL. Os familiares foram convocados para teste genético e foram encontrados mais três portadores da mutação: uma mulher que teve câncer de mama aos 36 anos de idade e duas portadoras assintomáticas de 62 e 80 anos. O fato de haver os múltiplos casos de câncer nesta família e não preencher critérios para LFS/LFL, além de portadores assintomáticos em idades avançadas, reforça a hipótese de que a penetrância da mutação p.R337H seja distinta das outras mutações no gene *TP53* (PALMERO et al. 2008).

Um estudo realizado por um grupo de pesquisadores de Campinas, no Estado de São Paulo, analisou a prevalência da mutação p.R337H em pacientes portadoras de câncer de mama na região Sudeste do Brasil. Foi feito sequenciamento do éxon 10 do gene *TP53* em 123 mulheres com câncer de mama e 223 mulheres sem câncer de mama (grupo controle). A mutação p.R337H foi encontrada em três pacientes com histórico de câncer de mama e em nenhuma paciente do grupo controle, encontrando uma prevalência da mutação p.R337H de 2.4% nas pacientes portadoras de câncer de mama no Sudeste do Brasil. Entre as portadoras da mutação, duas pacientes tinham história familiar de câncer, com critérios clínicos de LFS. Os tumores das três pacientes portadoras da mutação p.R337H foram analisados quanto à presença de polimorfismos e foi observada perda de heterozigose por perda do alelo *TP53* mutado mais do que o alelo selvagem (*wild-type*). Os polimorfismos que foram identificados dentro dos genes *TP53*

(R72P e Ins16) e *MDM2* (SNP309) podem estar associados à diminuição da atividade de supressão tumoral do gene *TP53* (ASSUMPÇÃO et al. 2008). Este grupo de pesquisadores também mostrou associação da mutação p.R337H com carcinoma de plexo coróide e osteossarcoma (SEIDINGER et al. 2011). Surpreendentemente, mais de 95% das crianças com carcinoma adrenocortical e 63% das crianças com carcinoma de plexo coróide, no Sul e Sudeste do Brasil, são portadoras da mutação p.R337H (CUSTÓDIO et al. 2011).

A origem da mutação p.R337H demonstrada através da segregação de haplótipos reside na ascendência caucasiana, principalmente uma origem portuguesa. Entretanto, esta mutação é incomum entre mulheres portuguesas com câncer de mama. Foram analisadas 573 pacientes portuguesas com câncer de mama e não foi encontrada nenhuma portadora, contradizendo a prevalência de 5.1% da mutação p.R337H em pacientes com câncer de mama na pré-menopausa (GIACOMAZZI et al. 2014a e b). Em um estudo prévio com nove portadores portugueses de mutações germinativas no gene *TP53*, um paciente tinha a mutação p.R337H e esse indivíduo era filho de imigrante brasileiro (PINTO et al. 2009).

Um estudo para avaliar a prevalência da mutação p.R337H no Paraguai foi realizado em amostras de DNA de 10.000 recém-nascidos. Como o Paraguai divide fronteira com Brasil e há muitos descendentes brasileiros no Paraguai, foi levantada a hipótese de que a frequência dessa mutação na população poderia ser semelhante à encontrada no Sul e Sudeste do Brasil. No entanto, a mutação p.R337H foi encontrada em

apenas 5 de 10.000 recém-nascidos no Paraguai, resultando uma prevalência menor (0.05%) que no Sul e Sudeste do Brasil (LEGAL et al. 2015).

Recentemente um trabalho realizado na região de Campinas, no Estado de São Paulo, desenvolveu um método para detectar a mutação p.R337H em amostras de sangue de recém-nascidos armazenadas em papel filtro, da região de Campinas, utilizando PCR em tempo real. Amostras de DNA de 32.130 recém-nascidos da região foram selecionadas para detectar a frequência da mutação germinativa p.R337H. Nesta amostra, foram identificadas 68 crianças portadoras da mutação p.R337H, correspondendo a uma frequência (0.21%), semelhante à encontrada na região Sul do Brasil. Assim como no trabalho de GARRITANO et al. (2010), a presença do mesmo haplótipo raro (haplótipo A3) foi observada em todos os portadores da mutação, confirmando uma mesma origem da mutação p.R337H (CAMINHA 2015).

Dados do IARC (2016) *TP53 Database* indicam que a mutação p.R337H é a mutação germinativa mais frequente descrita no gene *TP53* (PETITJEAN et al. 2007).

Há pouco tempo um estudo na população do Estado de Minas Gerais, no Brasil, avaliou a prevalência da mutação p.R337H no gene *TP53* e de algumas mutações nos genes *BRCA1* e *BRCA2* em 513 indivíduos sem câncer e 103 pacientes com câncer de ovário e em nenhum paciente foi encontrada a mutação fundadora brasileira p.R337H no gene *TP53*. Acredita-se que por viés de seleção não se chegou na taxa de 0,3% da

incidência da mutação fundadora na população do Sul e Sudeste do Brasil (SCHAYEK et al. 2016).

1.2.5.4 Sequenciamento do Gene *TP53*

O padrão ouro, ou *gold standard*, para avaliação de mutações germinativas no gene *TP53* até pouco tempo era o seqüenciamento direto de DNA genômico de todos os éxons codificantes (éxons 2 a 11) (VARLEY 2003). O teste é realizado a partir de uma coleta de amostra sangue ou saliva, sendo realizada a extração, purificação e dosagem do DNA e depois os éxons são amplificados por PCR (*Polymerase Chain Reaction*) antes de serem seqüenciados. A técnica mais utilizada é o método de Sanger, onde uma fita simples de DNA que será seqüenciada, é amplificada com um primer de desoxinucleotídeos marcado na extremidade 5'. São realizadas reações de PCR e depois as regiões são separada em um gel de seqüenciamento por eletroforese para detectar cada um dos nucleotídeos presentes na seqüência de DNA a ser lida no seqüenciado. Aproximadamente 95% das mutações podem ser detectadas pelo seqüenciamento direto dos éxons codificantes, mas deve-se lembrar que caso a alteração patogênica seja devida a inserções, duplicações ou grandes deleções, a alteração poderá não ser detectada pela técnica de seqüenciamento (BOUGEARD et al. 2008; FITARELLI-KIEHL et al. 2016). Neste caso, também é importante a pesquisa de rearranjos (deleções ou ampliações) por outras técnicas como, por exemplo, *MLPA* (*Multiplex ligation-dependent probe amplification*) e está indicado para pacientes que

preencham os critérios diagnósticos clínicos da LFS e da LFL e que o sequenciamento direto não revelou mutação deletéria. A técnica *MLPA* permite uma análise quantitativa da variação no número de cópias de uma sequência específica do DNA genômico.

A técnica mais recentemente utilizada para o sequenciamento é o *Next Generation Sequencing (NGS)* e tem se tornado padrão-ouro atualmente, uma tecnologia que permite o sequenciamento do DNA de maneira mais rápida e com menor custo que o método de Sanger. Com o avanço das tecnologias de sequenciamento em larga escala, como o *NGS*, é permitido analisar múltiplos genes em paralelo, num único exame (painéis multi-genes), permitindo incluir conjuntos de genes de alta e moderada penetrância, incluindo alguns que não seriam inicialmente considerados (MALKIN et al. 2016). Assim, muitos indivíduos avaliados em consulta de Oncogenética, não preenchem critérios apenas para uma síndrome, e a eles são oferecidos painéis de múltiplos genes, ao invés, de testar de forma sequencial os genes mais provavelmente associados àquela história pessoal e/ou familiar de câncer. Com isso, são também identificados, algumas vezes de forma não esperada, pacientes portadores de mutações germinativas no *TP53* (ROBSON et al. 2015).

Outra metodologia que pode identificar mutação germinativa no gene *TP53* é *Whole Exome Sequencing (WES)*, uma nova metodologia que analisa ao mesmo tempo todos os éxons do DNA, ou o *Whole Genoma Sequencing (WGS)*, podendo identificar mutações em genes de alta penetrância (como o *TP53*), além de variantes gênicas de baixa

penetrância. O WES e o WGS têm o potencial de testar todos os possíveis genes-alvo de uma só vez, reduzindo o custo e otimizando o tempo do teste genético (O'DANIEL e LEE 2012). No entanto, o WES não é exame de escolha na prática da Oncogenética. Esses testes são particularmente úteis, mas devem ter indicações bem precisas, quando se tem uma condição clínica indefinida com características de herança mendeliana, como por exemplo uma história de câncer, com espectro variado dentro da mesma família, onde não se pode determinar pela história clínica qual seria o provável gene com mutação germinativa. Com a explosão dessas novas tecnologias em testes genéticos podem ser identificados mais portadores da Síndrome de Li-Fraumeni, mesmo quando o quadro clínico não é sugestivo da síndrome. Como exemplo disso, YAMAGUCHI et al. (2016) realizaram WES em 1685 pacientes japoneses com câncer e encontrou uma variante patogênica no gene *TP53* (D49H) em seis pacientes. Embora todos os pacientes tivessem história familiar de neoplasias, apenas um desses pacientes preenchia critérios para a Síndrome de Li Fraumeni.

Nas situações onde já é conhecida a mutação patogênica presente na família, é solicitado o teste genético apenas para pesquisa de mutação pontual (amplificação do DNA genômico pela técnica de PCR, seguido de sequenciamento bidirecional de região específica do gene) nos familiares ainda não testados.

Quando a mutação é detectada, informações sobre sua patogenicidade é obtida pelos banco de dados do IARC (2016).

Aproximadamente 73% das mutações no gene *TP53* são do tipo *missense*, ou seja, promovem alterações que levam a troca de aminoácidos, ocorrendo principalmente transições de guanina para adenina, localizadas nas mesmas regiões, sendo estas conhecidas como regiões preferenciais, ou *hotspots* (Figura 9). As mutações *frameshift* (que alteram a janela de leitura) ocorrem em 5.6% dos casos, enquanto que as alterações nos sítios de *splicing* representam 8% dos casos (IARC (2016). Mutações *nonsense*, nas quais ocorre uma inserção de um códon de terminação da tradução prematuro, podem ocorrer, além de duplicações nas diferentes regiões. Deleções no gene *TP53* aparentemente não são freqüentes, porém já foram relatadas (BOUGEARD et al. 2006).

Aproximadamente 46% das mutações *missense* foram localizadas nos codons 175 213 245 248 273 e 282. Esses codons são clássicos *hotspots* na maioria dos cânceres esporádicos e correspondem a mutações em ilhas de CpG. Os demais codons onde ocorrem as mutações são 133 152 e 337, sendo trocas de bases nas ilhas CpG nos codons 152 e 337 e no codon 133, as mutações são AT_CG e AT_GC. Esses últimos codons são raramente mutados em tumores esporádicos (0.8% dos tumores esporádicos) (OLIVIER et al. 2003).

Após a detecção da mutação patogênica, o exame deve ser oferecido aos familiares e estes devem ser submetidos ao aconselhamento genético (AG). Até o momento, foram identificadas 891 mutações germinativas no gene *TP53* depositadas no banco de dados de mutações em *TP53* da Agência Internacional para Pesquisa do Câncer – (IARC 2016).

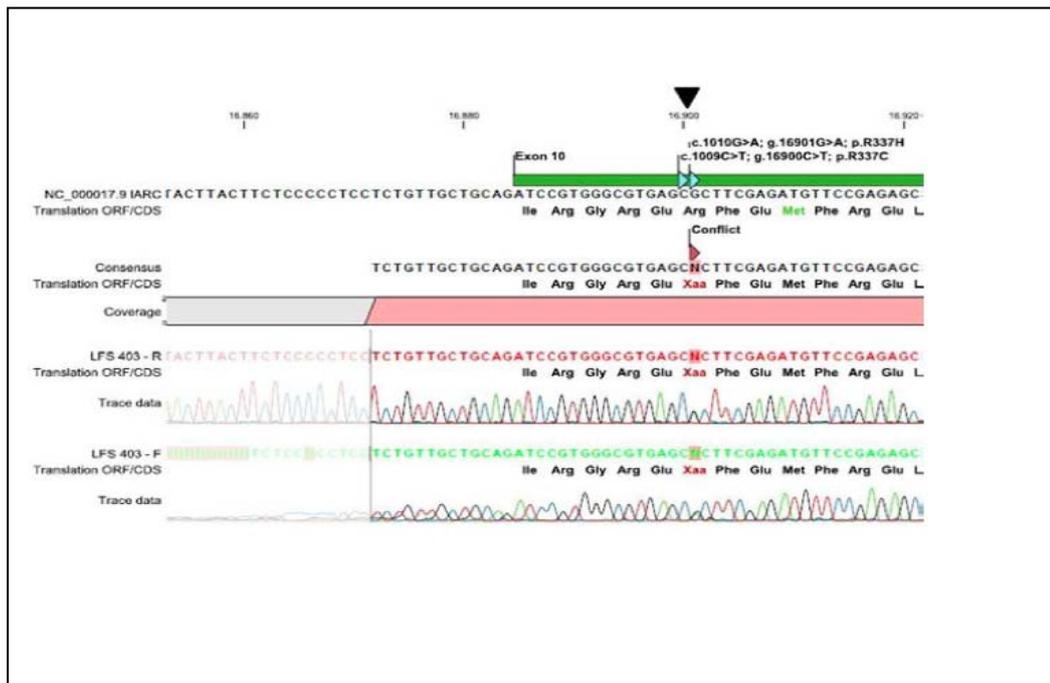
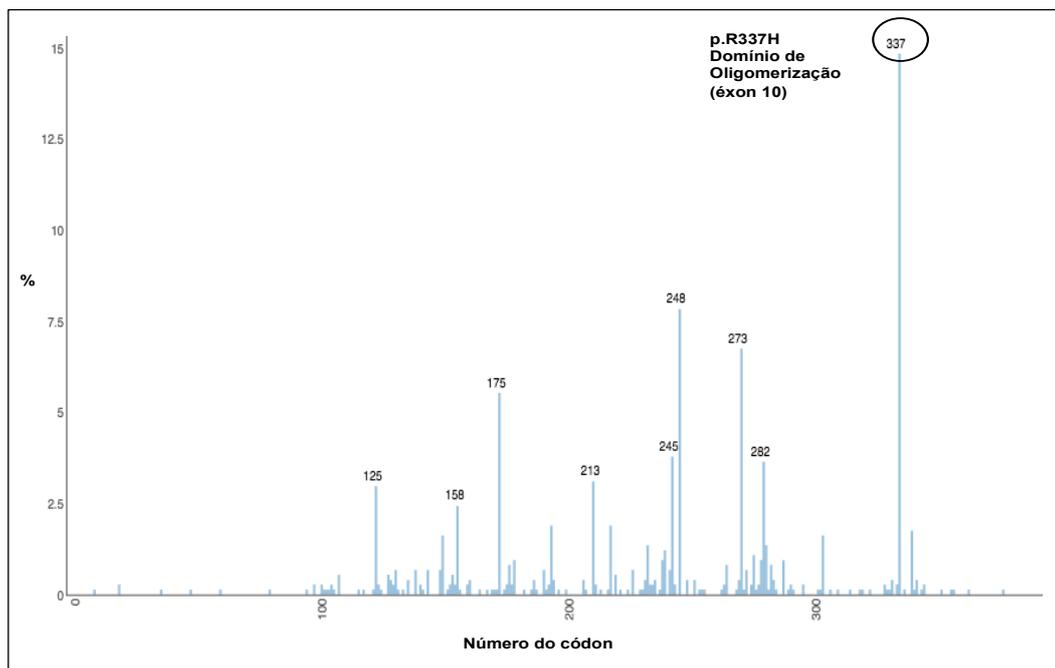


Figura 8 - Sequenciamento do gene *TP53*: troca da base G>A no codon 337 (seta)



Fonte: modificado de IARC, *TP53* database, versão R18, Abril de 2016

Figura 9 - Mutações germinativas no gene *TP53* - Distribuição dos códons de substituição de único par de bases (n=741). Indicação da mutação p.R337H no códon 337 (éxon 10). Os demais codons estão no domínio de ligação do DNA

1.2.6 Rastreamento

O acompanhamento de famílias LFS deve ser realizado objetivando rastreamento sistemático e precoce para os portadores da síndrome. Contudo, estratégias de rastreamento eficazes são difíceis de serem implementadas pela diversidade de tumores descritos na síndrome. Não há nenhum consenso estabelecido com estratégias de rastreamento para os pacientes portadores da LFS (VARLEY 2003). A heterogeneidade tumoral torna difícil prever o risco de câncer para portadores de mutação patogênica no gene *TP53*, além da influência dos modificadores genéticos, epigenéticos e ambientais no fenótipo da Síndrome de Li-Fraumeni, resultando num desafio estabelecer um protocolo clínico de rastreamento para os portadores da síndrome. Normalmente, o acompanhamento destes portadores compreende exames de rastreamento regulares desde a idade jovem, o que pode melhorar a sobrevivência dos portadores, apesar de haver controvérsias no rastreamento de portadores assintomáticos.

As diretrizes do *National Comprehensive Cancer Network* - NCCN (2016) visam o manejo e a redução de risco dos portadores de LFS, através do exame clínico, exames de imagens e colonoscopia (Quadro 4). Essas diretrizes são revistas periodicamente; no entanto, o NCCN não sugere diretrizes específicas para crianças portadoras da síndrome. No Reino Unido, o *UK National Institute for Health and Care Excellence* (NICE) recomenda RMN (Ressonância Magnética Nuclear) de mamas anualmente; e, na Austrália, há recomendação de exame físico anualmente, RMN de mamas anualmente entre 20 e 50 anos e colonoscopia a cada 2 a 5 anos (a

partir dos 25 anos), dependendo da história familiar (BALLINGER et al. 2015). Deste modo, percebemos que muitas neoplasias associadas à síndrome, como sarcomas e tumores de SNC, acabam não sendo rastreadas na maioria dos protocolos de seguimento.

A incorporação de outra sistemática de exames de rastreamento já foi proposta por centros especializados que acompanham pacientes com Síndrome de Li-Fraumeni, utilizando exames laboratoriais e ressonância magnética de corpo inteiro (RMCI) anualmente (VILLANI et al. 2011). O estudo realizado por VILLANI et al. (2011), no *The Hospital for Sick Children (Sick Kids)*, em Toronto, no Canadá, propôs um protocolo de rastreamento com exames laboratoriais e de imagem para diagnóstico precoce de tumores em portadores da LFS, tanto adultos quanto pediátricos.

O estudo sugeriu a realização da ressonância nuclear magnética rápida de corpo inteiro (RMCI) como um método de rastreamento para osteossarcomas e sarcomas de partes moles, associada à ressonância nuclear magnética (RMN) de crânio, exames de imagem da mama e colonoscopia em adultos, além de ultrassonografia abdominal e exames laboratoriais para detecção de carcinoma adrenocortical em crianças (Quadro 5). No período de seis anos de seguimento do estudo foram acompanhados os portadores de oito famílias. No grupo submetido ao rastreamento (dezoito pacientes), o protocolo identificou um total de dez neoplasias em sete dos dezoito portadores assintomáticos participantes. Foram diagnosticados cinco tumores malignos (dois carcinomas de plexo coróide, dois carcinomas adrenocorticais e um sarcoma) e cinco lesões não

malignas (três gliomas de baixo grau, um adenoma de tireoide e uma síndrome mielodisplásica), com sobrevida desse grupo de 100% ao final do seguimento do estudo. Em contrapartida, no grupo de portadores que não aceitaram o rastreamento, dez indivíduos (de dezesseis portadores) desenvolveram câncer, todos com apresentação sintomática. Foram diagnosticados dois carcinomas de plexo coróide, dois meduloblastomas, um rabdomyossarcoma, um osteossarcoma, um astrocitoma anaplásico, um neuroblastoma, uma leucemia mielóide aguda, um meningioma maligno, um carcinoma de pulmão e um carcinoma de mama. A sobrevida nesse grupo que não fez o rastreamento foi de 21% ao final do estudo (VILLANI et al. 2011). Recentemente foi publicada a atualização do seguimento desses pacientes, revelando uma sobrevida global em 5 anos de 88.8% para 59 pacientes submetidos ao protocolo de rastreamento, comparado a 59.6% para 30 pacientes que não fizeram rastreamento ($p=0.0132$) (VILLANI et al. 2016).

O exame de PET-CT também já foi avaliado em alguns estudos como possibilidade de rastreamento na LFS. MASCIARI et al. (2008) avaliaram o impacto do PET-CT com F-FDG nos portadores de LFS e foram detectados três tumores malignos em quinze pacientes assintomáticos submetidos a rastreamento com PET-CT. Outro estudo realizado por NOGUEIRA et al. (2015), no Departamento de Oncogenética do A.C. Camargo Cancer Center, em São Paulo, recrutou trinta pacientes de seis famílias com mutação germinativa no gene TP53. Esses pacientes não tinham diagnóstico de câncer nos últimos dois anos que precederam o recrutamento. O exame de

PET-CT mostrou alteração em seis dos trinta pacientes submetidos ao rastreamento e, em três deles, confirmou-se diagnóstico de neoplasia: um câncer de pulmão, um carcinoma de ovário e um câncer de mama metastático. Nos outros três pacientes, o exame foi falso-positivo: linfonodos reacionais e cisto ginecológico benigno (NOGUEIRA et al. 2015). Apesar de o exame ser sensível em detectar neoplasias nos portadores de LFS, há uma alta taxa de resultados falso-positivos e a preocupação com a exposição à alta dose de radiação inerente a cada exame de PET-CT, numa população suscetível a tumores, torna essa modalidade de imagem não indicada para rastreamento em pacientes portadores de LFS.

Recentemente o exame de RMCI foi avaliado em portadores da LFS nos pacientes acompanhados no Departamento de Oncogenética do A.C.Camargo Cancer Center, em São Paulo. Um total de 96 RMCI foram realizadas em 61 portadores assintomáticos de mutações germinativas no gene *TP53*, num período de 28 meses, com uma taxa de positividade do exame de 8,5%. Dos portadores de LFS submetidos ao rastreamento com RMCI, 51 pacientes (83%) eram portadores da mutação p.R337H. Trinta e cinco pacientes foram submetidos a duas RMCI, com intervalo mínimo de 12 meses. Investigações adicionais com outros exames de imagem foram realizadas em todos os pacientes com RMCI positivas para definição do diagnóstico, porém foi necessária investigação invasiva com biópsia em dois casos (2%), nos quais os exames anátomo-patológicos confirmaram os diagnósticos de um carcinoma de células renais e um condrossarcoma de baixo grau. Os resultados deste estudo mostraram que o rastreamento

baseado em RMCI é factível na maior parte dos portadores da LFS, permitindo a detecção de neoplasias malignas precocemente e com baixas taxas de investigações invasivas desnecessárias (PEREIRA 2015).

Quadro 4 - Estratégias de rastreamento para portadores de mutações germinativas no gene *TP53* propostas pelo NCCN

<p>Risco de Câncer de Mama em Mulheres</p>	<p>Auto-exame das mamas a partir dos 18 anos Exame clínico das mamas a cada 6-12 meses, a partir dos 20-25 anos ou 5 10 anos antes do caso mais precoce na família 20-29 anos: RNM Mamas anualmente (preferível) ou mamografia (se a RNM mamas não estiver disponível) 30-75 anos: RNM mamas e mamografia anual >75 anos: manejo individualizado Discutir mastectomia como redução de risco e AG sobre o grau de proteção, risco de câncer e opções de reconstrução</p>
<p>Risco de Outras Neoplasias</p>	<p>Exame físico anual abrangente, inclusive exame neurológico Radioterapia deve ser evitada quando possível Considerar colonoscopia a cada 2-5 anos, a partir dos 25 anos ou 5 anos antes do caso mais precoce na família Realizar exame dermatológico anual Realizar RMCI anualmente e a RNM de crânio Rastreamento adicional de acordo com a história familiar Orientação sobre os sinais e sintomas de câncer</p>
<p>Pacientes Pediátricos</p>	<p>Informar os pediatras sobre os riscos de tumores infantis em famílias afetadas</p>

Fonte: Adaptado de NCCN versão 2.2016

Quadro 5 - Protocolo de rastreamento para portadores de LFS

Crianças	<p>Carcinoma adrenocortical</p> <p>Ultra-som abdominal a cada 3-4 meses</p> <p>Dosagem de cortisol em urina de 24 horas (se possível)</p> <p>Dosagem sérica a cada 3-4 meses: 17-OH-progesterona, testosterona total, DHEAS, androstenediona</p> <p>Tumor SNC</p> <p>RMN crânio 1 vez ao ano</p> <p>Sarcomas ósseos e de partes moles</p> <p>RMN corpo inteiro 1 vez ao ano</p> <p>Leucemia e Linfoma</p> <p>Exame de sangue a cada 4 meses (DHL, VHS e hemograma completo)</p>
Adultos	<p>Carcinoma adrenocortical (dos 18 aos 40 anos)</p> <p>Ultra-som abdominal a cada 3-4 meses</p> <p>Dosagem de cortisol em urina de 24 horas (se possível)</p> <p>Dosagem sérica a cada 3-4 meses: 17-OH-progesterona, testosterona total, DHEAS, androstenediona</p> <p>Câncer de Mama</p> <p>Auto-exame da mama mensal, iniciando aos 18 anos e exame clínico 6/6 meses (a partir dos 20-25 anos ou 5-10 anos antes do caso mais jovem na família)</p> <p>Mamografia e RMN mamas 6/6 meses, intercaladas, a partir de 20-25 anos ou na idade do caso mais jovem na família</p> <p>Considerar mastectomia bilateral redutora de risco</p> <p>Tumor SNC</p> <p>RMN crânio 1 vez ao ano</p> <p>Sarcomas ósseos e de partes moles</p> <p>RMN corpo inteiro 1 vez ao ano e ultra-som de abdome e pélvis 3-4 meses</p> <p>Melanoma</p> <p>Exame dermatológico anual</p> <p>Câncer colorretal</p> <p>Colonoscopia a cada 2 anos, iniciando aos 25 anos ou 10 anos antes do caso mais jovem na família</p> <p>Leucemias e Linfoma</p> <p>Exame de sangue a cada 4 meses (DHL, VHS e hemograma completo)</p>

Fonte: Adaptado de VILLANI et al 2016

Legenda: DHEAS (sulfato de deidroepiandrosterona), VHS (velocidade de hemossedimentação) e DHL (lactato desidrogenase)

A revisão do espectro tumoral na população LFS/LFL brasileira com a mutação fundadora p.R337H permitiu a confirmação da ocorrência de múltiplos casos de tumores de tireóide e renal (ACHATZ et al. 2008). Desta forma, foi necessária a introdução de exames semestrais de ultrassonografias de tireóide e vias urinárias ao rastreamento baseado no NCCN para os pacientes portadores da mutação fundadora p.R337H, atendidos no Departamento de Oncogenética do A.C.Camargo Cancer Center, em São Paulo.

Nas regiões Sudeste e Sul do Brasil, a LFS constitui um problema de saúde pública, uma vez que muitos tumores que são diagnosticados nesta população teriam maior sucesso com tratamento se fossem detectados precocemente em programas de rastreamento para famílias portadoras da mutação p.R337H. Por exemplo, entre os pacientes com carcinoma adrenocortical no Sul e Sudeste do Brasil, mais de 90% apresentam a mutação p.R337H e, sabe-se que sem rastreamento e diagnóstico precoce, apenas 50% das crianças com esta neoplasia sobrevivem, e muitos necessitam de tratamentos quimioterápicos tóxicos e algumas vezes com intuito apenas paliativo, enquanto tumores adrenocorticais em estágio clínico inicial podem ser curados apenas com cirurgia (RIBEIRO et al. 2001; MICHALKIEWICS et al. 2004).

O aconselhamento e o seguimento dos portadores da LFS ainda é problemático no nosso meio devido à ampla variedade de apresentação dos tumores nos portadores brasileiros. O conhecimento mais amplo da síndrome nos pacientes brasileiros, entendendo melhor os tumores mais

frequentes nesta população, assim como a idade de acometimento, características histopatológicas dos tumores, permitirá, no futuro, desenvolvimento de protocolos clínicos baseados em evidência tanto para seguimento e rastreamento dos tumores, como também para instituição de tratamento personalizado para os tumores relacionados a mutações germinativas no gene *TP53* (PALMERO et al. 2010).

1.2.7 Principais Tumores na Síndrome de Li-Fraumeni

1.2.7.1 Câncer De Mama

O câncer de mama é o tumor mais frequente nos portadores da LFS. Isso explica porque o risco de câncer na LFS é maior nas portadoras femininas em comparação aos portadores masculinos. A tamanha importância do câncer de mama na população com Síndrome de Li-Fraumeni já foi ressaltada pela indicação de investigação molecular da síndrome quando ocorrência de câncer de mama em pacientes abaixo dos 35 anos de idade, independente da história familiar, desde que ausentes mutações germinativas nos genes *BRCA1* e *BRCA 2* (TINAT et al. 2009; LEE et al. 2012).

O interesse sobre a frequência de mutações germinativas no *TP53* em pacientes com câncer de mama sem critérios clássicos de LFS vem sendo abordado desde a identificação do gene *TP53* como gene relacionado à síndrome, porém nas primeiras análises a frequência da mutação em mulheres jovens com câncer de mama não era importante (BORRESEN et al. 1992).

Mais recentemente, um estudo canadense revelou que 5 a 8% das mulheres com câncer de mama abaixo dos 30 anos de idade e história familiar negativa para LFS são portadoras de mutações germinativas no gene *TP53* (MCCUAIG et al. 2012).

Na população brasileira do Sudeste foi observada a mutação fundadora p.R337H em três pacientes com câncer de mama em idade jovem (abaixo dos 45 anos de idade), de 42 famílias que não apresentavam história familiar com critérios para LFS, indicando que o teste genético para análise do gene *TP53* deve ser incluindo nos painéis gênicos de investigação de câncer de mama hereditário (ANDRADE et al. 2016). Outro estudo na população do Sudeste do Brasil, encontrou a mutação p.R337H em 7.1% de 28 pacientes com câncer de mama com critérios síndrome de câncer de mama e ovário hereditário, ressaltando que mesmo na ausência de critérios da LFS, a mutação p.R337H é encontrada numa frequência alta de mulheres com câncer de mama no Sul e Sudeste do Brasil (CURY et al. 2014).

Um outro estudo com 54 pacientes brasileiras com câncer de mama em idade inferior a 35 anos mostrou que 2% apresentavam mutação no gene *TP53*, independente da história familiar (CARRARO et al. 2013). Diferentemente dos estudos previamente citados, um estudo com 390 pacientes com câncer de mama no Rio de Janeiro, encontrou a mutação p.R337H em apenas duas pacientes (0.5%), no entanto era uma população não-selecionada (GOMES et al. 2012). Em geral, a frequência da mutação p.R337H em pacientes com câncer de mama no Sul e Sudeste do Brasil

chega a 5.1% nas pacientes com câncer de mama na pós-menopausa e 12.1% nas pacientes na pré-menopausa (GIACOMAZZI et al. 2014a).

Os tumores de mama podem ser classificados a partir da análise imunohistoquímica em subtipos moleculares de acordo com expressão de receptores de estrógeno e progesterona, HER2 (receptor para o fator de crescimento epidérmico humano tipo 2) e índice de proliferação Ki67. Os quatro subtipos moleculares são : luminal A (receptores hormonais positivos e HER2 negativo, com baixo índice de proliferação, Ki 67 < 14%), luminal B (receptores hormonais positivos e HER2 negativo, com alto índice de proliferação, Ki 67 \geq 14% ou receptores hormonais positivos e HER2 positivo), hiperexpressor de HER2 (receptores hormonais negativos e HER2 positivo) e triplo negativo (receptores de estrógeno, progesterona e HER2 negativos) (GOLDHIRSCH et al. 2013). O gene *HER2* é amplificado em 15-25% dos carcinomas invasivos de mama (MORROW et al. 2011). Em séries de pacientes com diagnóstico em idade jovem (abaixo dos 40 anos), 52-66% dos tumores são receptores hormonais positivos e 22-33% são HER2 positivo (GONZALEZ-ANGULO et al. 2005; COLLINS et al. 2012).

Tipicamente, os cânceres de mama nas portadoras de LFS são receptores hormonais positivos e HER2 positivo (luminal B), com diagnóstico na segunda e terceira década de vida (SORRELL et al. 2013). Uma análise de 231 pacientes com câncer de mama com idade igual ou inferior a 30 anos revelou 83% de hiperexpressão de HER2 nos tumores de portadoras de mutação germinativa no *TP53* em comparação a 16% no grupo controle (WILSON et al. 2010). Corroborando com a idéia de que os tumores de

mama em portadores de mutações germinativas no gene *TP53* apresentam uma frequência maior de expressão de HER2, um estudo com 43 tumores de mama, de 39 portadoras de diferentes centros do Consórcio Internacional de Li-Fraumeni (Li-Fraumeni Exploration -LiFE- Research Consortium.) mostrou que 25.6% desses tumores eram carcinomas *in situ* e 74.4% eram carcinomas invasivos., com uma média de idade ao diagnóstico de 32 anos e 63% desses tumores eram HER2 positivos, sendo 47% receptores hormonais positivos e HER2 positivo e 19% hiperexpressor de Her2 (MASCIARI et al. 2012). Em contrapartida, os tumores de mama associados à mutação fundadora brasileira p.R337H tendem a expressar menos HER2, muito semelhante aos tumores de mama esporádicos, onde o HER2 é amplificado em 15-25% dos casos (FITARELLI-KIEHL et al. 2015).

1.2.7.2 Sarcoma

Os sarcomas são tumores raros e heterogêneos, correspondendo a 1-3% de todos os cânceres na população mundial. Os sarcomas correspondem aos tumores mais comuns associados à Síndrome de Li-Fraumeni, após o câncer de mama (SORRELL et al. 2013). No geral, os sarcomas representam 25% dos tumores nos portadores de mutações germinativas no *TP53* e 95.6% ocorrem antes dos 50 anos, comparados com dados da SEER (*The Surveillance, Epidemiology, and End Results*), onde 38.3% dos sarcomas ocorrem antes dos 50 anos. Múltiplos tipos de sarcomas de partes moles e osteosarcomas são descritos na LFS, mas sarcoma de Ewing, GIST (tumor do estroma gastrointestinal) e

angiosarcomas nunca foram observados na síndrome (OGNJANOVIC et al. 2012).

O SEER é uma base de dados que armazena informações demográficas, tipos de tumores, idades de diagnóstico, tratamento e óbito de cinco estados americanos, mas com uma assertividade de 98%. Uma revisão do banco de dados do IARC, de 531 famílias portadoras da LFS, avaliou portadores de sarcomas e comparou a idade de diagnóstico e tipos de sarcoma com dados do SEER. Foram revisados 406 sarcomas dos quais 236 ocorreram em portadores de mutações germinativas, representando 17.4% dos tumores da base de dados do IARC e 36.8% dos tumores em pacientes com idade inferior a 20 anos. Essa análise revelou que correlações genótipo-fenótipo e variações dependentes da idade de diagnóstico nos portadores de mutações germinativas no TP53 com sarcoma (OGNJANOVIC et al. 2012).

No banco de dados do IARC há mais portadoras femininas com sarcoma (56.4%) do que no SEER (45.4%), porém sem significância estatística ($p=0.2$).

Normalmente o sarcoma de partes moles nos portadores de mutações germinativas no gene *TP53* tem uma distribuição etária bifásica, a primeira durante a infância e outra entre a idade de 20 e 40 anos de idade.

Os sarcomas de partes moles ocorrem mais frequentemente na infância (0-10 anos), enquanto os sarcomas ósseos são mais prevalentes em adolescentes (11-20 anos) (OLIVIER et al. 2003). No dados do IARC, 67% dos sarcomas com mutação germinativa no gene *TP53* ocorrem antes

dos 20 anos de idade, comparado com 11.9% dos sarcomas nos dados do SEER (OGNJANOVIC et al. 2012).

Quanto aos subtipos histológicos dos sarcomas nos portadores de mutações germinativas no *TP53*, costuma ser rabdomiossarcoma antes dos 5 anos e osteossarcoma em portadores de qualquer idade. Sarcoma precoce (antes dos 20 anos de idade) é frequente nos portadores de mutações germinativas do tipo *missense* no *TP53*, no domínio de ligação ao DNA, enquanto que mutações fora do domínio de ligação ao DNA e mutações dos tipos *frameshift*, sítios de *splicing* e *nonsense* são associadas com leiomiossarcoma, após 20 anos de idade (OGNJANOVIC et al. 2012).

1.2.7.3 Tumores de Sistema Nervoso Central

Com relação aos tumores de SNC, cerca de 10% dos pacientes com LFS irão apresentar um glioma (astrocitoma /glioblastoma) antes de 45 anos de idade, e outros 5% desenvolverão meduloblastoma, carcinoma do plexo coróide ou ependimoma. Quanto à idade de aparecimento dos tumores de SNC nos portadores de LFS, parece haver também uma distribuição bifásica como nos sarcomas, com prevalência maior antes dos dez anos e após os vinte anos de idade (OLIVIER et al. 2003).

Curiosamente há uma forte associação entre carcinoma de plexo coróide e LFS, KRUTILKOVA et al. (2005) identificaram mutações germinativas no gene *TP53* em cinco famílias com carcinoma de plexo coróide na infância. GONZALEZ et al. (2009) observaram na sua coorte que oito pacientes com tumor de plexo coróide, mesmo com história familiar

negativa para câncer, apresentavam mutação germinativa no gene *TP53*. Outros estudos mostram uma prevalência de mutação germinativa no *TP53* de até 50% nos pacientes com carcinoma de plexo coróide, além de evidências da sobrevida ser mais curta quando os pacientes com carcinoma de plexo coróide apresentam disfunção do *TP53* (TABORI et al. 2010). Um relato mais recente do Hospital Infantil de Los Angeles descreveu cinco casos de carcinoma de plexo coróide em seis pacientes com características clínicas sugestivas de LFS, sendo identificada mutação germinativa no gene *TP53* em quatro pacientes (GOZALI et al. 2012). Esses achados sugerem que este tipo raro de tumor cerebral seja um tumor sentinela da Síndrome de Li-Fraumeni. Nos portadores da mutação fundadora p.R337H também já foi demonstrada forte associação com carcinoma de plexo coróide (SEIDINGER et al. 2011).

1.2.7.4 Carcinoma Adrenocortical

O carcinoma adrenocortical representa 10-14% dos tumores em portadores de LFS, sendo mais frequente na infância. Em linhas gerais, 80% dos carcinomas de córtex de adrenal que ocorrem abaixo dos quinze anos de idade são associados a mutações germinativas no gene *TP53* (LINDOR et al. 1998; LINDOR et al. 2008). O banco de dados do IARC mostra uma idade mediana de diagnóstico de 4.8 anos, comparado a 41.9 anos de idade nos casos esporádicos (SORRELL et al. 2013).

Como na população geral, o carcinoma adrenocortical corresponde a apenas 0.2% dos cânceres pediátricos, sendo esse câncer um forte indicador de mutação germinativa no gene *TP53* (CHOONG et al. 2012).

Na casuística reportada por GONZALEZ et al. (2009), 80% dos pacientes com carcinoma adrenocortical tinham menos de 18 anos de idade. No Brasil, devido a mutação fundadora p.R337H, a frequência de mutação germinativa no *TP53* entre crianças com carcinoma adrenocortical no Sul e Sudeste do Brasil é de 78-97% (ACHATZ et al. 2007). A incidência de carcinoma adrenocortical na área geográfica do Sul e Sudeste do Brasil é 12 a 18 vezes maior que a incidência desta neoplasia documentada nos Estados Unidos e na França (PIANOVSKI et al. 2006).

2 JUSTIFICATIVA

A coorte de pacientes com Síndrome de Li-Fraumeni no Departamento de Oncogenética, do A.C. Camargo Cancer Center (ACCC) é a maior coorte de pacientes com LFS do mundo, com um seguimento de 10 anos, onde os pacientes são acompanhados semestralmente. No período de 2001 a 2015, 365 famílias foram testadas (824 pacientes) e 247 pacientes são portadores de mutação patogênica no gene *TP53*. Além do grande número de pacientes com as mutações clássicas no gene *TP53*, a maior parte da coorte do ACCC é de pacientes com a mutação p.R337H, a qual mostra uma penetrância diferente das mutações da LFS clássica, com risco potencialmente menor de desenvolvimento de neoplasias ao longo da vida e comportamento clínico distinto das outras mutações encontradas em outros países. Não há muitos dados publicados sobre os portadores de mutação p.R337H no Brasil quanto ao perfil dos tumores. Os dados de ACHATZ et al. (2007) são os únicos. Assim, a nossa coorte de pacientes com Síndrome de Li-Fraumeni pode ter características tão distintas de LFS clássica, justificando rastreamento diferenciado e acompanhamento personalizado para estas famílias, diferente dos protocolos internacionais de seguimento na Síndrome de Li-Fraumeni.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO PRIMÁRIO

Descrever as características clínicas dos pacientes portadores da Síndrome de *Li-Fraumeni* e *Síndrome Li-Fraumeni Like* atendidos no Departamento de Oncogenética do ACCC quanto aos tumores desenvolvidos, idade de diagnóstico, ocorrência de múltiplos tumores, características histológicas dos tumores e dados demográficos

3.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

- 1** Comparar o espectro tumoral dos portadores da mutação fundadora p.R337H com os portadores de mutações germinativas não-R337H no gene *TP53*;
- 2** Descrever o desenvolvimento de neoplasias nos portadores da mutação fundadora p.R337H e nos portadores de mutações germinativas não-p.R337H no gene *TP53*;
- 3** Comparar as taxas de sobrevida global, idade de diagnóstico do primeiro câncer e tempo do primeiro câncer até aparecimento do segundo câncer nos portadores da mutação fundadora p.R337H e nos portadores de mutações germinativas não-pR337H no gene *TP53*.

4 PACIENTES E MÉTODOS

4.1 TIPO DE ESTUDO

Estudo de coorte retrospectivo.

4.2 APROVAÇÃO ÉTICA

O projeto temático, intitulado: “Caracterização clínica e histopatológica da Síndrome de *Li-Fraumeni* e Síndrome *Li-Fraumeni Like* em pacientes brasileiros” foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da instituição, sob o número 1965/14. (Anexo 1)

4.3 CASUÍSTICA

Foram avaliados os dados clínicos de 247 pacientes com a Síndrome de Li-Fraumeni (LFS), portadores de mutações germinativas no gene *TP53*, atendidos no Departamento de Oncogenética do A.C.Camargo Cancer Center de 2001 a 2015. O levantamento dos pacientes foi feito a partir do banco de dados do próprio Departamento de Oncogenética. Todos os pacientes já haviam sido submetidos a teste genético, com extração de DNA em amostra de sangue periférico ou saliva, tendo sido feito previamente o sequenciamento direto do gene *TP53*, assim como pesquisa de grandes

deleções ou inserções pela técnica de MLPA (*Multiplex ligation-depedent probe amplification*) ou pesquisa de mutação pontual. As mutações encontradas foram pesquisadas no IARC (*The International Agency for Research on Cancer*) quanto à patogenicidade ou no banco de dados *ClinVar* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>).

As mutações patogênicas do tipo *missense* foram classificadas pelo IARC como deletérias. Algumas mutações encontradas nesta coorte foram *nonsense*, consideradas patogênicas por causar códon de parada da transcrição da proteína, assim também foram consideradas patogênicas as mutações intrônicas que mudam o códon de leitura da proteína. Duas famílias nesta coorte apresentaram mutações intrônicas (c.672+1G>T; IVS6+1G>T e c.919+1G>A; IVS8+1G>A) consideradas patogênicas por alterar o sítio de *splicing* do gene, levando a uma alteração da fase de leitura, e à produção de uma proteína completamente diferente da original ou defeituosa, além dessas mutações terem mostrado segregação nos familiares que apresentaram câncer, confirmando sua patogenicidade. Duas outras famílias apresentaram deleções (del exon 5-11 e del exon 4) detectadas por *MLPA*.

Dados referentes à história clínica e familiar, heredograma, laudos anátomo-patológicos, relatórios médicos e certificados de óbitos foram coletados a partir do prontuário eletrônico do hospital (MV), e complementados com informações contidas nos prontuários arquivados no Departamento de Oncogenética (sistema XUSD na intranet do A.C.Camargo Cancer Center).

As características dos tumores apresentados pelos pacientes portadores de mutação (espectro tumoral, idade do diagnóstico do primeiro tumor e dos tumores subsequentes, tipo histológico) foram comparadas entre o grupo de portadores da mutação p.R337H (mutação fundadora no Brasil) e o grupo de pacientes com demais mutações patogênicas no gene *TP53*. Foram excluídos desta análise os carcinomas basocelulares de pele, pela forte associação com fator ambiental e alta incidência na população geral, o que seria um fator confundidor para risco de câncer.

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Este estudo é um estudo observacional, retrospectivo, longitudinal, onde foram demonstradas as frequências relativas dos números de portadores da mutação no gene *TP53*, sexo dos pacientes, tipos de tumores, número de tumores apresentados, histologias dos tumores e idades ao diagnóstico nos pacientes portadores da Síndrome de Li-Fraumeni. Foram analisados de forma descritiva estes parâmetros na população total do estudo e separadamente nos grupos de portadores de mutação p.R337H e nos portadores de outras mutações nos genes *TP53*.

As taxas de proporção das mutações (p.R337H *versus* outras mutações), assim como sexo (masculino e feminino) foram correlacionados com o *status* de óbito, desenvolvimento ou não de câncer, a idade do diagnóstico do primeiro câncer, tempo do primeiro câncer até aparecimento do segundo câncer, através do teste qui-quadrado ou teste exato de *Fisher*.

Para comparação de dois grupos quanto à idade do primeiro câncer, em relação ao sexo e ao tipo de mutação (p.R337H *versus* não-p.R337H), foi aplicado o Teste T para amostras independentes. Os tumores foram contados separadamente e cada diagnóstico de tumor foi contado como evento isolado.

O estimador de Kaplan-Meier e o teste de *log rank* foram utilizados para avaliar a influência das variáveis de interesse nos tempos de sobrevida global, tempo de aparecimento do primeiro câncer e tempo do primeiro câncer até aparecimento do segundo câncer. Para o cálculo da sobrevida global, os pacientes foram censurados na idade do último seguimento, assim como também para o cálculo dos tempos do aparecimento do primeiro câncer e tempo do primeiro câncer até aparecimento do segundo câncer, os pacientes foram censurados na idade do último seguimento.

O Modelo de regressão de Cox foi utilizado a fim de encontrar os fatores que influenciaram no aparecimento do primeiro câncer de forma independente.

O programa estatístico SPSS para Windows versão 22.0 foi usado para análise dos dados deste estudo (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Foi estabelecido um nível de significância para $p < 0.05$.

5 RESULTADOS

5.1 RESULTADOS GERAIS

Atualmente no banco de dados do Departamento de Oncogenética do A.C.Camargo Cancer Center há registro de 247 pacientes com diagnóstico molecular da Síndrome de Li Fraumeni, alguns pacientes encaminhados de outras instituições dos estados de São Paulo, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. O teste molecular foi realizado em todos esses indivíduos e a mutação p.R337H foi identificada em 193 pacientes. Esse total de 247 portadores de mutações germinativas no gene *TP53* são provenientes de 100 famílias, sendo 27 famílias com mutações no domínio de ligação do DNA (um total de 54 portadores) e 73 famílias com a mutação fundadora p.R337H, no domínio de oligomerização do gene *TP53* (um total de 193 portadores). É importante lembrar que todos os pacientes realizaram aconselhamento genético e são reavaliados semestralmente. O aconselhamento genético é contínuo e os pacientes são submetidos a exames de rastreamento a cada retorno, visando a detecção precoce de tumores malignos.

Para análise deste estudo, foram identificados 247 portadores de mutações germinativas no gene *TP53*, em 100 famílias, de um total de 824 indivíduos que preenchem critérios clínicos de LFS e que foram submetidos a teste genético (Figura 10). Do total de 100 famílias, 7% preenchem

critérios para LFS, 87% preencheram critérios para LFL e em 6% das famílias testadas não puderam ser identificados os critérios a partir de documentos de prontuário médico (Tabela 2).

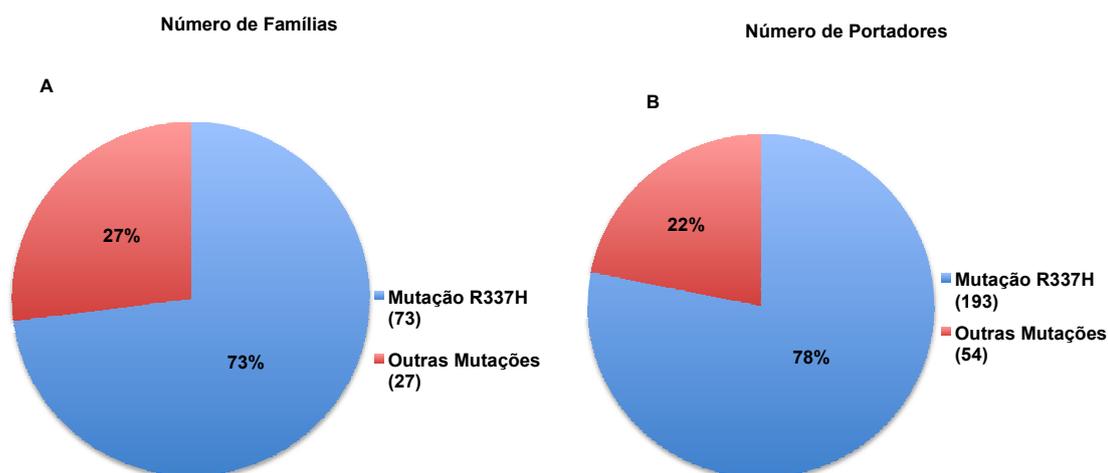


Figura 10 - Distribuição de acordo com tipo de mutação: famílias (A) e portadores (B)

Tabela 2 - Critérios Clínicos das famílias testadas

Critérios	Número de Famílias
Clássico	7
Birch	35
Eeles	19
Chompret	33
Não aplicável *	6

* sem dados disponíveis sobre critério clínico

De 247 pacientes 147 eram do sexo feminino (59.5%) e 100 portadores eram do sexo masculino (40.5%). Os portadores da mutação p.R337H, a mutação fundadora na população brasileira, corresponderam a

78.1% do total de portadores (193 pacientes). O sexo se mostrou uma variável independente do tipo de mutação nesta população ($p=0.226$), ou seja o sexo masculino ou feminino não foram preditores de ter mutação p.R337H nem de ter as outras mutações no gene *TP53*.

Foram avaliados os aspectos clínicos dos portadores de mutação com relação aos tipos de tumores desenvolvidos, histologia, número de tumores desenvolvidos e idade do diagnóstico, sempre descrevendo as características do grupo de pacientes com a mutação germinativa p.R337H e do grupo de pacientes com as demais mutações germinativas no gene *TP53*. A descrição das mutações germinativas no gene *TP53* apresentadas pelos pacientes estão dispostas na Tabela 3.

Tabela 3 - Espectro das mutações patogênicas no gene *TP53*

Tipo de Mutação	Número de portadores	Em rastreamento	Perda de seguimento	Óbito
c.587G>T; p.R196L	1	1	0	0
del exon 5-11	1	0	0	1
del exon 4	1	0	0	1
c.820_831del; p.Val274_Cys277del	1	1	0	0
c.578A>G; p.H193R	1	0	1	0
c.800G>A; p.R267Q	1	0	0	1
c.743G>A; p.R248Q	1	0	0	1
c.722C>A; p.S241Y	1	0	0	1
c.711G>C; p.M237I	1	0	0	1
c.642T>G; p.H214Q	1	0	1	0
c.427G>A; p.V143M	1	0	0	1
c.535C>T; p.H179Y	1	0	1	0
c.218_219dupGG; p.A74Gfs*50	1	0	0	1
c.1009C>T; p.R337C	1	1	0	0
c.638G>A; p.R213Q	1	0	0	1
c.455C>T; p.P152L	2	0	1	1
c.394A>T; p.K132X	2	2	0	0
c.672+1G>T; IVS6+1G>T	2	0	0	2
c.916C>T; p.R306X	2	2	0	0
c.731G>A; p.G244D	2	1	0	1
c.517G>A; p.V173M	3	0	2	1
c.919+1G>A; IVS8+1G>	3	2	0	1
c.589G>A; p.V197M	3	2	1	0
c.733G>A; p.G245S	4	1	0	3
c.158G>A; p.W53X	7	5	1	0
c.375G>A; p.T125T	9	7	1	1
c.1010G>A; p.R337H	193	154	22	27

5.2 RISCO DE CÂNCER

Do total da população estudada 140 pacientes (56.7%) desenvolveram pelo menos um câncer ao longo da vida e 29.9% dos pacientes que desenvolveram câncer tiveram dois ou mais tumores (n=42).

Entre os 193 portadores da mutação p.R337H 101 pacientes desenvolveram câncer (52.3%), enquanto dos 54 pacientes portadores de outras mutações no gene *TP53* (21.9%), 39 pacientes tiveram câncer (72.2%) (Tabela 4), sendo observada uma significância estatística (p=0.009). A idade média do primeiro diagnóstico de câncer foi 30.4 anos para todos os pacientes, 30.8 anos para portadores da mutação p.R337H (mediana de 32.5 ± 22 anos) e 28.9 anos para portadores de outras mutações no *TP53* (mediana de 26 ± 20.8 anos), p=0.604. A idade média do primeiro câncer também não diferiu entre o sexo feminino e o sexo masculino na população geral (31.2 *versus* 29.1 anos, p=0.518).

Dentro do grupo de portadores da mutação p.R337H, houve diferença significativa para idade do diagnóstico do primeiro câncer em relação ao sexo, sendo a média de idade de 34.7 anos para o sexo feminino e 50.4 anos para o sexo masculino (p<0.001). No grupo de pacientes portadores de mutações não-p.R337H, não houve diferença na idade do diagnóstico do primeiro câncer em relação ao sexo: 36 anos para o sexo feminino e 25.3 anos para o sexo masculino (p=0.67).

Foi utilizado o Modelo de Regressão de Cox a fim de encontrar os fatores que influenciaram no aparecimento do primeiro câncer de forma

independente. Avaliando o sexo (masculino ou feminino) e o tipo de mutação (p.R337H *versus* outras mutações), apenas o sexo influenciou o aparecimento do primeiro câncer. Na população total, foi encontrado risco relativo de câncer de 0.554 [95% IC: 0,38;0,808] para o sexo masculino ($p=0.002$). Os portadores da mutação p.R337H e do sexo masculino tiveram risco relativo de câncer de 0.457 [95% IC: 0,293;0,713] para aparecimento do primeiro câncer ($p=0.001$).

De acordo com o tipo do primeiro o câncer, houve diferença para a idade do primeiro tumor na população geral ($p<0.001$), nos portadores da mutação p.R337H ($p<0.001$) e nos portadores das demais mutações no gene *TP53* ($p<0.001$) (Figura 14 C e D).

Tabela 4 - Características Clínicas dos Portadores

	Portadores de mutação no gene <i>TP53</i> (n=247)	Portadores da mutação p.R337H (n=193)	Outras <i>TP53</i> mutações (n=54)	p value
Número de pacientes (%)	247/824 (29.9%)	193/247 (78.1%)	54/247 (21.9%)	-
Sexo				
Feminino	147 (59.5%)	111 (57.5%)	36 (66.7%)	$p=0.226$
Masculino	100 (40.5%)	82 (42,5%)	18 (33.3%)	
Média de idade do 1º diagnóstico de câncer (anos)	30.4	30.8	28.9	$p=0.604$
Número de tumores primários				-
Sem câncer	107 (43.3%)	92 (47.6%)	15 (27.8%)	-
1 tumor	140 (56.7%)	101 (52.3%)	39 (72.2%)	$p=0.009$
2 tumores	42 (17%)	24 (12.4%)	18 (33.3%)	$p=0.152$
3 tumores	19 (7.7%)	9 (4.6%)	10 (18.5%)	-
4 ou mais tumores	8 (3.2%)	6 (3.1%)	2 (3.7%)	-

Tabela 5 - Frequência e categoria de idade do 1º tumor de acordo com faixa etária

Idade do diagnóstico do 1º câncer (anos)	Número de tumores p.R337H (n=163)	Outras mutações TP53 (n=74)	Total (n=238)
0-1	19 (11,6%)	6 (8,1%)	25 (10,5%)
2-5	12 (7,4%)	2 (2,7%)	14 (5,9%)
6-10	3 (1,8%)	1 (1,3%)	4 (1,7%)
11-15	3 (1,8%)	3 (4,0%)	6 (2,5%)
16-20	2 (1,2%)	2 (2,7%)	4 (1,7%)
21-25	2 (1,2%)	4 (5,4%)	6 (2,5%)
26-30	9 (5,5%)	4 (5,4%)	13 (5,5%)
31-35	6 (3,7%)	2 (2,7%)	8 (3,4%)
36-40	7 (4,3%)	2 (2,7%)	9 (3,8%)
41-45	8 (4,9%)	4 (5,4%)	12 (5,0%)
46-50	12 (7,4%)	1 (1,3%)	13 (5,5%)
51-55	5 (3,1%)	1 (1,3%)	6 (2,5%)
56-60	6 (3,7%)	1 (1,3%)	7 (2,9%)
61-65	4 (2,5%)	4 (5,4%)	8 (3,4%)
66-70	2 (1,2%)	1 (1,3%)	3 (1,3%)
≥ 70	1 (0,6%)	0 (0,0%)	1 (0,4%)

* 1 paciente portador de mutação c.800G>A; p.R267Q apresentou carcinoma de adrenal e não havia informação nos arquivos médicos sobre a idade do diagnóstico

5.2.1 Segundo Tumor Primário

No grupo de portadores da mutação p.R337H 29.6% dos pacientes com câncer tiveram dois ou mais tumores; por outro lado, no grupo dos demais portadores de mutações no *TP53*, 43.8% desenvolveram dois ou mais tumores ao longo da vida ($p=0.152$).

Com relação ao tempo médio desde o diagnóstico do primeiro câncer até o segundo câncer, não houve diferença entre os dois grupos de pacientes: os portadores da mutação p.R337H tiveram média de tempo de 15.3 anos [95% IC: 11.1; 19.5] e mediana de tempo de 13 anos [95% IC: 9.5; 16.4] e os portadores de outras mutações no gene *TP53* apresentaram

média de tempo de 14.3 anos [95% IC: 7.5; 21] e mediana de 8 anos [95% IC: 0; 19], $p=0.614$).

Na população geral do estudo, os segundos tumores primários mais frequentes foram: mama (23.8%), sarcoma de partes moles (16.6%), tireoide (11.9%) e pulmão (9.5%). No grupo de portadores da mutação p.R337H, os tipos de câncer encontrados como segundo tumor primário foram: sarcoma de partes moles (16.6%), mama (16.6%), tireoide (16.6%), carcinoma renal (12.5%), carcinoma adrenocortical (8.3%) e pulmão (8.3%). O padrão de segunda neoplasia nos portadores de outras mutações no gene *TP53* continuou mostrando mama (33.3%) e sarcoma de partes moles (16.6%) como os dois tumores mais frequentes, porém melanoma (11.1%), tumor de SNC (11.1%) e sarcoma ósseo (11.1%) foram comuns, diferente do padrão de segundo câncer nos portadores da mutação p.R337H.

De acordo com o tipo do primeiro o câncer, houve diferença para a tempo até o segundo tumor primário nos portadores da mutação p.R337H ($p=0.019$), mas não nos portadores das demais mutações no gene *TP53* ($p=0.057$) (Figura 11).

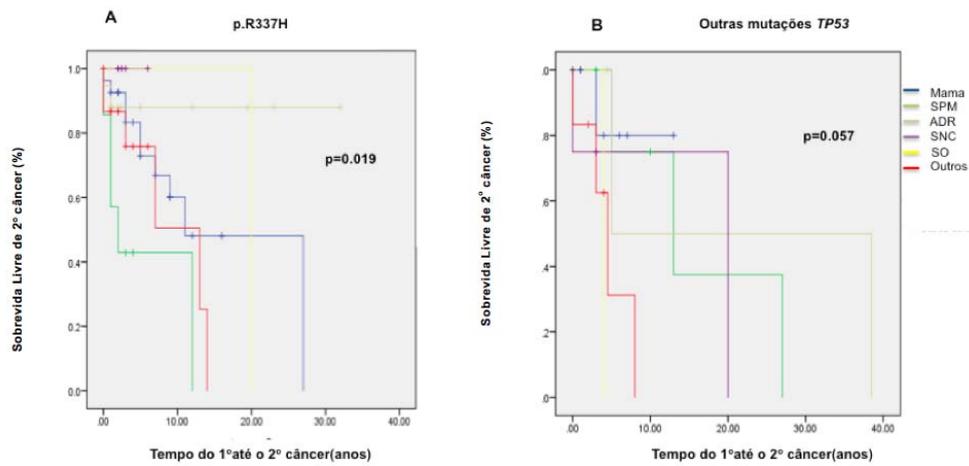


Figura 11 - Tempo até desenvolver o segundo tumor primário: A-mutação p.R337H; B- Outras mutações no gene *TP53*

Tabela 6 - Pacientes com múltiplos tumores primários

Paciente	Mutação	1º Tumor (idade em anos)	2º Tumor (idade em anos)	3º Tumor (idade em anos)	4º Tumor (idade em anos)	Outros tumores
Y0015T004	c.1010G>A; p.R337H	Carcinoma papilífero tireoide (25)	Feocromocitoma (25)	-	-	-
Y0106T000	c.1010G>A; p.R337H	Mama –CDI (43)	SPM-leiomiossarcoma uterino (52)	-	-	-
Y0012T012	c.1010G>A; p.R337H	Carcinoma papilífero tireoide (54)	SPM-sarcoma de alto grau (61)	-	-	-
Y0065T001	c.589G>A; p.V197M	Melanoma in situ (35)	Melanoma (35)	-	-	-
Y0079T000	c.375G>A; p.T125T	ADR (6 meses)	Mama –CDI (39)	-	-	-
Y0185T000	c.1010G>A; p.R337H	SO-condrossarcoma (23)	Carcinoma papilífero tireoide (43)	Mama-tumor filoides maligno (45)	SO-condrossarcoma (49)	-
Y0012T089	c.1010G>A; p.R337H	Mama –CDI (27)	Mama –CD in situ (27)	-	-	-
Y0012T000	c.1010G>A; p.R337H	Carcinoma papilífero tireoide (28)	Mama –CDI (27)	-	-	-
Y0015T000	c.1010G>A; p.R337H	ADR (7)	Rim (8)	-	-	-
Y0243T000	c.1010G>A; p.R337H	Mama –CD in situ (39)	Pulmão (44)	-	-	-
Y0242T000	c.1010G>A; p.R337H	SPM retroperitônio (54)	Pulmão (54)	-	-	-
Y0158T000	c.1010G>A; p.R337H	Mama –CD in situ (47)	Rim (50)	-	-	-
Y0184T000	c.1010G>A; p.R337H	ADR (50)	Próstata (50)	-	-	-
Y0012T001	c.1010G>A; p.R337H	SPM retroperitônio (57)	Carcinoma papilífero tireoide (58)	Mama –CD in situ (60)	Pulmão (62)	SPM(66) – 8 tumores primários; SPM (67)-5 tumores primários
Y0012T070	c.1010G>A; p.R337H	Mama (51)	Carcinoma papilífero tireoide (62)	Pulmão (66)	-	-
Y0065T000	c.589G>A; p.V197M	CRC (45)	Pulmão(48)	Osteossarcoma (51)	-	-
Y0079T016	c.375G>A; p.T125T	Mama –Filoides benigno (35)	Mama –CD in situ (36)	-	-	-

Cont/ Tabela 6

Paciente	Mutação	10 Tumor (idade em anos)	20 Tumor (idade em anos)	30Tumor (idade em anos)	40Tumor (idade em anos)	Outros tumores
Y0012T055	c.1010G>A; p.R337H	Mama –CDI (58)	Mama –CD in situ (65)	-	-	-
Y0020T000	del exon5-11	Rim (7 meses)	SPM-fibrossarcoma(5)	SPM-Rabdomiossarcoma (11)	SNC- astrocitoma (11)	SPM(16); SPM(17); osteossarcoma (18)
Y0087T000	c.722C>A; p.S241Y	SPM-Rabdomiossarcoma (2)	SNC/plexo coróide (7)	SPM (10)	-	-
Y0222T000	c.743G>A; p.R248Q	ADR (1)	Leucemia-LLA (6)	-	-	-
Y0186T000	c.1009C>T; p.R337C	SPM(20)	Mama –CDI (33)	Mama –CDI (40)	Mama –CDI (40)	Mama –CDI (46), SPM(48), SPM (51)
Y0106T007	c.1010G>A; p.R337H	Rim (66)	Estômago(66)	Próstata (71)	SPM (75)	-
Y0236T000	c.1010G>A; p.R337H	SPM (61)	SPM (62)	Rim (62)	SPM(64)	-
Y0047T000	del exon 4	Linfoma de Hodgkin (12)	SPM (20)	Estômago (35)	-	-
Y0097T000	c.919+1G>A (IVS8+ 1G>A)	SPM-Rabdomiossarcoma (1)	SPM (28)	SPM(36)	-	-
Y0187T000	c.1010G>A; p.R337H	mama –CDI (60)	Linfoma Não-Hodgkin (60)	mama –CD in situ (64)	-	-
Y0035T000	c.1010G>A; p.R337H	SPM (50)	SPM (62)	-	-	-
Y0255T000	c.1010G>A; p.R337H	Leucemia (50)	-	-	-	-
Y0228T000	c.1010G>A; p.R337H	Mama –CD in situ (47)	Pulmão (48)	SPM (49)	Fígado-carcinoma hepatocelular (51)	-
Y0102T000	c.1010G>A; p.R337H	Linfoma de Hodgkin (7)	ADR (10)	SPM(10)	SPM (10)	SPM (10);SPM (12); SPM (14)-4 tumores primários; SPM (16); Rim (17); SPM(18); SPM(19)
Y0160T000	c.711G>C; p.M237I	Osteossarcoma (9)	Osteossarcoma (13)	Mama-filoides maligno (15)	-	-

Cont/ Tabela 6

Paciente	Mutação	10 Tumor (idade em anos)	20 Tumor (idade em anos)	30Tumor (idade em anos)	40Tumor (idade em anos)	Outros tumores
Y0183T000	c.375G>A; p.T125T	Mama –CD in situ (44)	Melanoma (47)	-	-	-
Y0033T000	c.517G>A;p.V173M	SPM (23)	Mama –CDI (43)	-	-	-
Y0012T023	c.1010G>A; p.R337H	Mama –CD in situ (29)	Mama- filoides benigno (29)	-	-	-
Y0231T000	c.1010G>A; p.R337H	SPM- Rabdomiossarcoma (30)	Rim (32)	Carcinoma papilífero tireoide (40)	-	-
Y0131T001	c.1010G>A; p.R337H	Mama –CDI (43)	Carcinoma papilífero tireoide (46)	-	-	-
Y0234T001	c.394A>T; p.K132X	Osteossarcoma (45)	SNC-glioblastoma (49)	-	-	-
Y0348T000	c.1010G>A; p.R337H	Mama –CDI (42)	Mama –CD in situ (46)	-	-	-
Y0352T000	c.916C>T; p.R306X	Mama-filoides benigno (21)	SNC-astrocitoma (29)	SO-condrossarcoma (29)	Mama –CD in situ (30)	-
GGC 1165	c.733G>A;p.G245S	Mama (36)	Mama (36)	Vias biliares (43)	-	-
GGC 1105	c.672+1G>T;l VS6+1G>T	CRC (22)	Mama (27)	SPM (33)	-	-
GGC 1598	c.731G>A;p.G244D	Mama (30)	Carcinoma papilífero tireoide (37)	-	-	-
GGC 1063	c.731G>A;p.G244D	CRC (35)	Mama (40)	-	-	-

Legenda: CRC-carcinoma colorretal; SNC- tumor de Sistema Nervoso Central; SO- sarcoma ósseo; SPM- sarcoma de partes moles

5.3 SOBREVIDA GLOBAL

A mediana de sobrevida foi de 67 anos para os portadores femininos e 79 anos para os portadores masculinos, não havendo diferença com significância estatística ($p=0.74$).

A mediana de sobrevida foi de 69 anos (idade média de 71 anos) para os portadores da mutação p.R337H e de 66 anos (idade média de 48.4 anos) para portadores de outras mutações no gene *TP53*, com significância estatística ($p=0.001$) (Figura 12). Houve 27 óbitos (14.7%) no grupo de portadores da mutação p.R337H e 19 óbitos (40.4%) no portadores de outras mutações no gene *TP53* ($p<0.001$). Mesmo quando analisados os sexos masculino e feminino separadamente, houve maior sobrevida para os portadores da mutação p.R337H (Figura 13).

Com relação à sobrevida global, houve diferença de acordo com tipo do primeiro câncer nos portadores da mutação p.R337H ($p<0.001$), mas não nos portadores das outras mutações no gene *TP53* ($p=0.164$). O gráfico sugere uma menor sobrevida global para os pacientes que tiveram tumor de SNC como primeira neoplasia (Figura 14). Enquanto na sobrevida livre de câncer, houve diferença de acordo com tipo do primeiro câncer para os portadores de mutação p.R337H ($p<0.001$) e para os portadores das outras mutações no gene *TP53* ($p<0.001$) (Figura 14). O gráfico sugere uma menor sobrevida livre de câncer para portadores que têm como primeiro tumor carcinoma de adrenal e tumor de SNC nos portadores de mutação p.R337H e menor sobrevida livre de câncer para portadores com carcinoma de

adrenal como primeiro câncer nos portadores das outras mutações no gene *TP53*.

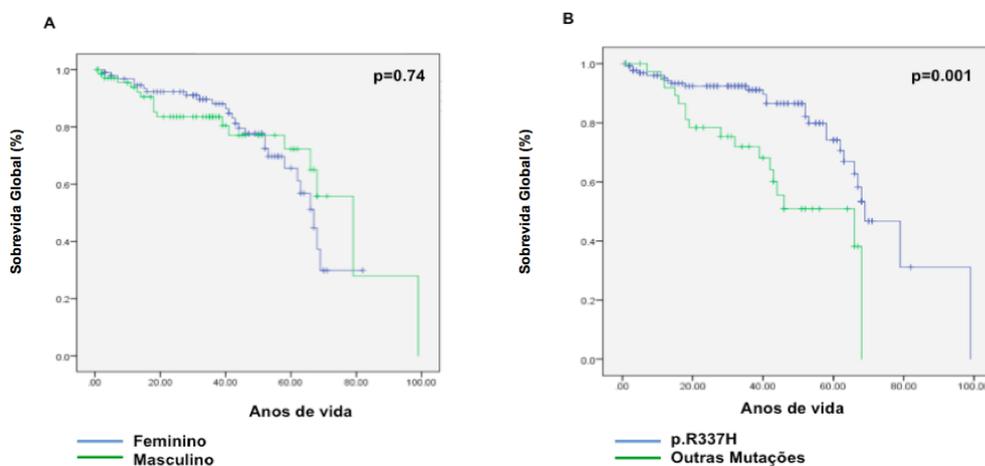


Figura 12 - Sobrevida Global. A-sexo; B- tipo de mutação (p.R337H *versus* não-p.R337H), ADR- carcinoma adrenocortical ; SPM- sarcoma de partes moles; SNC- sistema nervoso central, SO- sarcoma ósseo

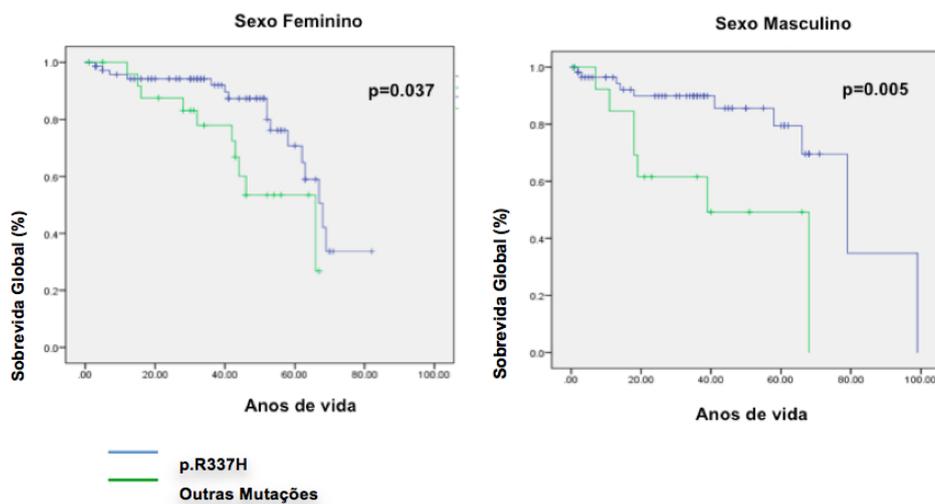


Figura 13 - Sobrevida Global de acordo com sexo: A-Feminino; B- Masculino

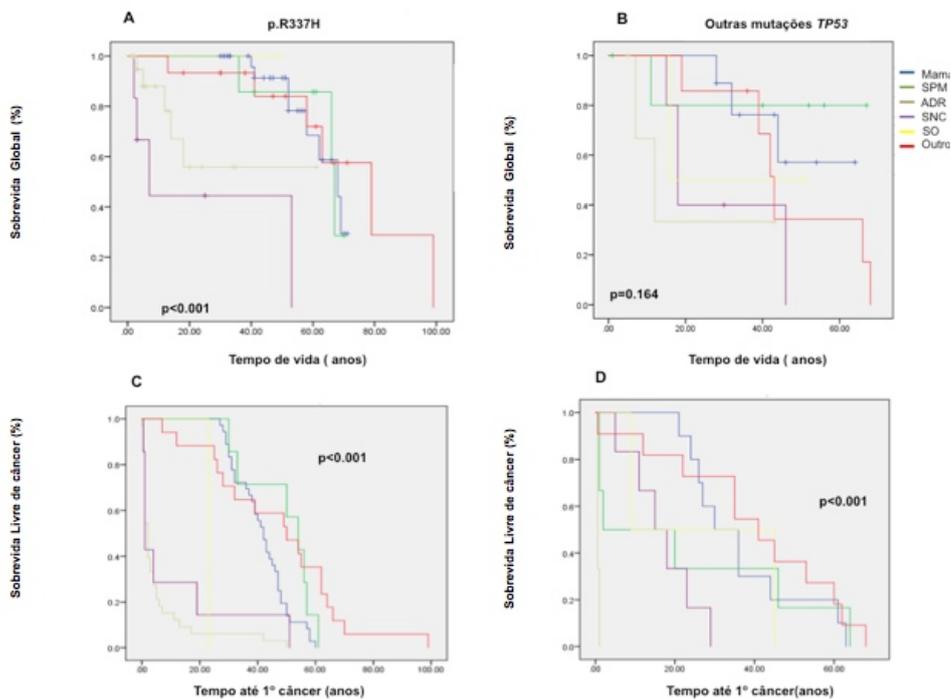


Figura 14 - Sobrevida Global (A e B) e Sobrevida Livre de Câncer (C e D) de acordo com tipo de mutação e tipo do primeiro câncer. A e C- mutação p.R337H; B e D- Outras mutações *TP53*, ADR- carcinoma adrenocortical ; SPM- sarcoma de partes moles; SNC- sistema nervoso central, SO- sarcoma ósseo

5.4 ESPECTRO DE TUMORES

O tumor mais frequentemente encontrado nos portadores da LFS foi o câncer de mama, seguido pelo sarcoma de partes moles, em ambos os grupos: portadores da mutação p.R337H e portadores de outras mutações no gene *TP53*. Todos os portadores que apresentaram câncer de mama eram do sexo feminino. Nenhum tumor de mama masculino foi observado nesta coorte.

Um total de 163 tumores primários foi observado em 101 portadores da mutação p.R337H e 75 tumores em 39 portadores de outras mutações no gene *TP53* (Figura 15).

No grupo de portadores da mutação p.R337H, câncer de mama, sarcoma de partes moles e carcinoma de adrenal perfazem 70.5% de todos os tumores. Nos portadores de outras mutações no gene *TP53*, câncer de mama, sarcoma de partes moles, tumor de sistema nervoso central e sarcoma ósseo correspondem a 69.3% de todos os tumores.

Para comparar a idade média de diagnóstico de cada tipo de câncer entre os portadores da mutação p.R337H e os portadores das outras mutações no gene *TP53*, foi usado o teste não paramétrico de U-Mann-Whitney (Tabela 7), havendo uma diferença na idade média do diagnóstico nos dois grupos de portadores para câncer de mama, sarcoma de partes moles e carcinoma adrenocortical.

Observamos que nos portadores da mutação p.R337H o câncer de mama ocorre após os 20 anos de idade e o sarcoma de partes moles é bifásico, com incidência maior antes dos 20 anos e depois dos 50 anos. O tumor de SNC ocorre preferencialmente na infância nestes portadores, assim como carcinoma adrenocortical (Figura 17). Nos portadores das outras mutações no gene *TP53*, o câncer de mama ocorre com maior frequência entre 20 e 45 anos e o sarcoma de partes moles é mais constante abaixo dos 40 anos de idade (Figura 18).

Nos primeiros 18-20 anos de vida, uma proporção maior de pacientes com a mutação p.R337H já desenvolveram câncer, comparado a portadores

de outras mutações, provavelmente devido à alta frequência de carcinoma adrenocortical nesta população. Após os 20 anos de idade, essa proporção se inverte, inferindo que aos 30 anos de idade, 60% dos portadores de outras mutações no gene *TP53* já desenvolveram câncer, enquanto 40% dos portadores da mutação p.R337H já tiveram neoplasia e, próximo aos 70 anos, a penetrância dos dois grupos de mutações parece se igualar (Figura 19).

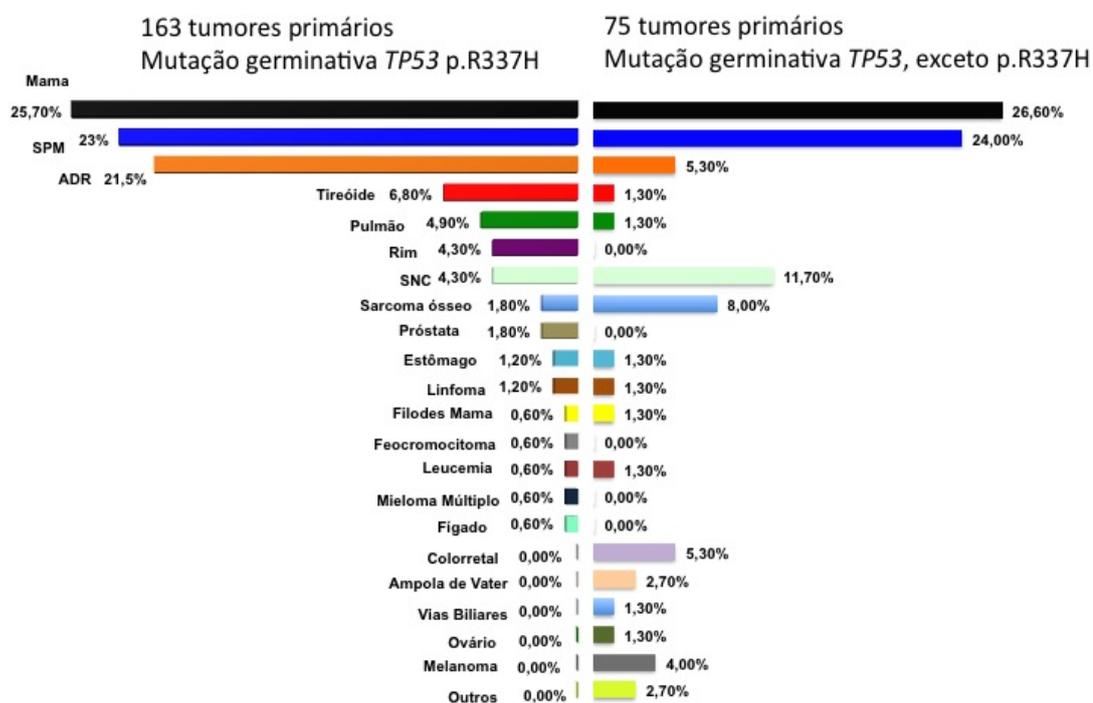
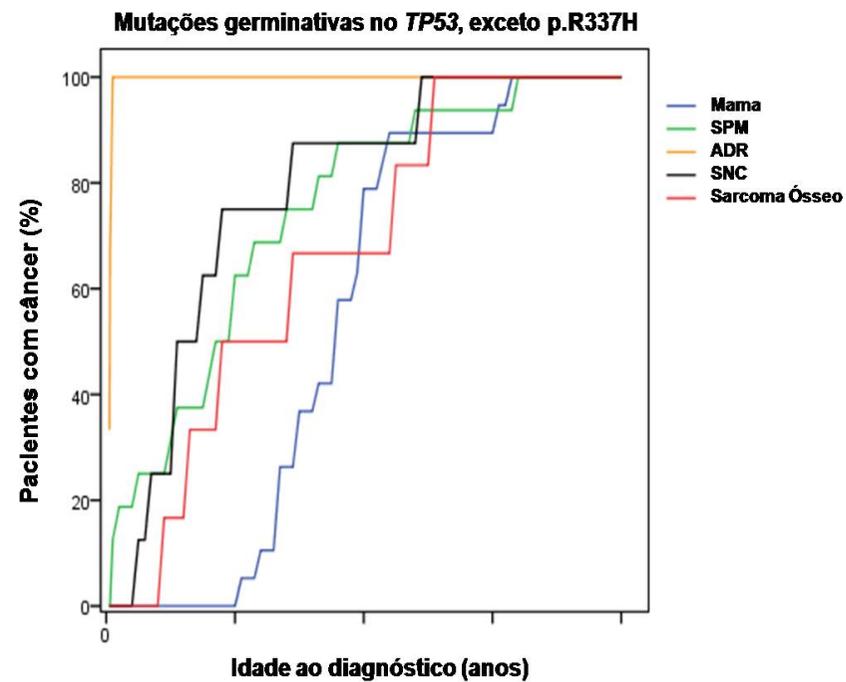
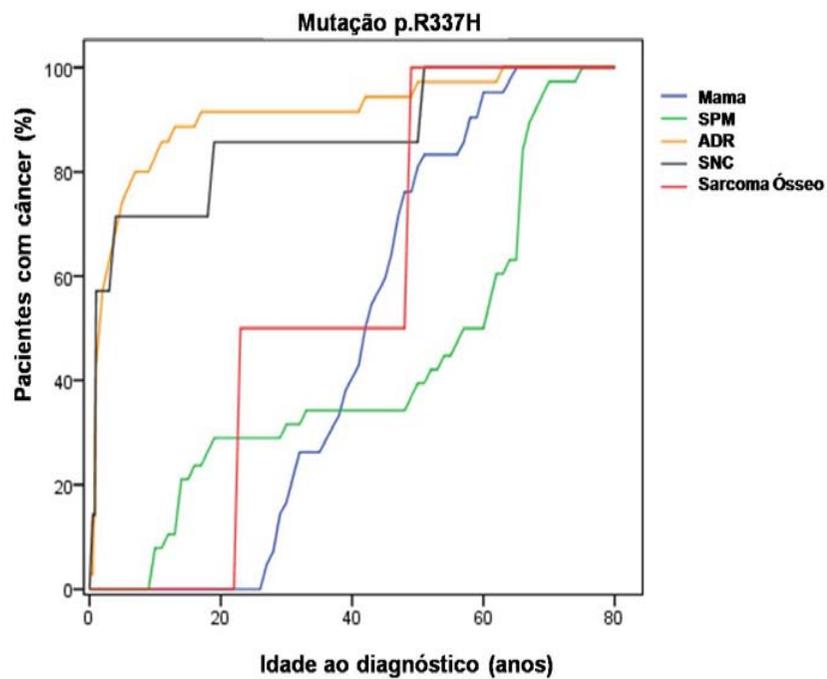


Figura 15 - Espectro tumoral. ADR- carcinoma adrenocortical ; NS- câncer não-especificado; SPM- Sarcoma de partes moles; SNC- tumor de Sistema Nervoso Central

Tabela 7 - Número de tumores e idade ao diagnóstico

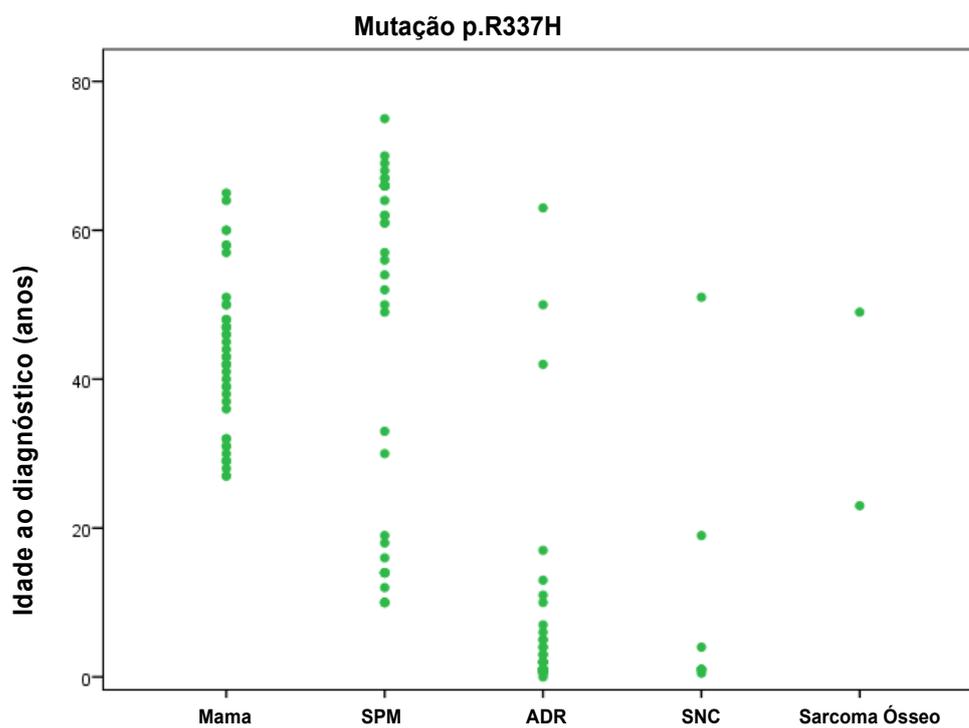
Tumores	Tipo de mutação	Idade média		p
		ao diagnóstico (anos)	Mediana ± DP (anos)	
Mama	p.R337H (n=42)	42.8	42.5 ± 10.58	p=0.029
	Outras Mutações (n=20)	37	36 ± 11.03	
SPM	p.R337H (n=38)	46.8	59 ± 23.14	p=0.001
	Outras Mutações (n=18)	24	20 ± 19.43	
ADR	p.R337H (n=35)	7.58	2 ± 14.46	p=0.029
	Outras Mutações (n=4)	8 meses	6 meses	
Sarcoma Ósseo	p.R337H (n=2)	36	36 ± 13	p > 0.05
	Outras Mutações (n=6)	27.5	23.5 ± 17.34	
SNC	p.R337H (n=7)	11.7	1 ± 18.8	p=0.091
	Outras Mutações (n=8)	18.66	15 ± 13.69	
Tireoide	p.R337H (n=11)	44	43 ± 15.49	p=0.833
	Outras Mutações (n=1)	37	37	
Pulmão	p.R337H (n=8)	52.4	54.5 ± 21.5	p=0.1
	Outras Mutações (n=1)	48	-	
CRC	p.R337H (n=0)	-	-	
	Outras Mutações (n=4)	38.7	40 ± 11.5	
Estômago	p.R337H (n=3)	59	66 ± 35.86	
	Outras Mutações (n=1)	35	35	
Ampola de Vater	p.R337H (n=0)	-	-	
	Outras Mutações (n=2)	50.5	50.5 ± 9.5	
Rim	p.R337H (n=7)	42.7	50 ± 22	
	Outras Mutações (n=0)	-	-	
Próstata	p.R337H (n=3)	61	62 ± 8.6	
	Outras Mutações (n=0)	-	-	
Linfoma	p.R337H (n=2)	33.5	60 ± 26.5	
	Outras Mutações (n=1)	12	12	
Leucemia	p.R337H (n=1)	50	50	
	Outras Mutações (n=1)	6	6	
Melanoma	p.R337H (n=0)	-	-	
	Outras Mutações (n=3)	39	35 ± 5.65	
Ovário	p.R337H (n=0)	-	-	
	Outras Mutações (n=1)	62	62	
Trato Biliar	p.R337H (n=0)	-	-	
	Outras Mutações (n=1)	43	43	
Feocromocitoma	p.R337H (n=1)	25	25	
	Outras Mutações (n=0)	-	-	
Fígado	p.R337H (n=1)	51	51	
	Outras Mutações (n=0)	-	-	
Mieloma Múltiplo	p.R337H (n=1)	62	62	
	Outras Mutações (n=0)	-	-	

Legenda: DP- desvio padrão; CRC- carcinoma colorretal; SNC- tumor de Sistema Nervoso Central; SPM- sarcoma de partes moles



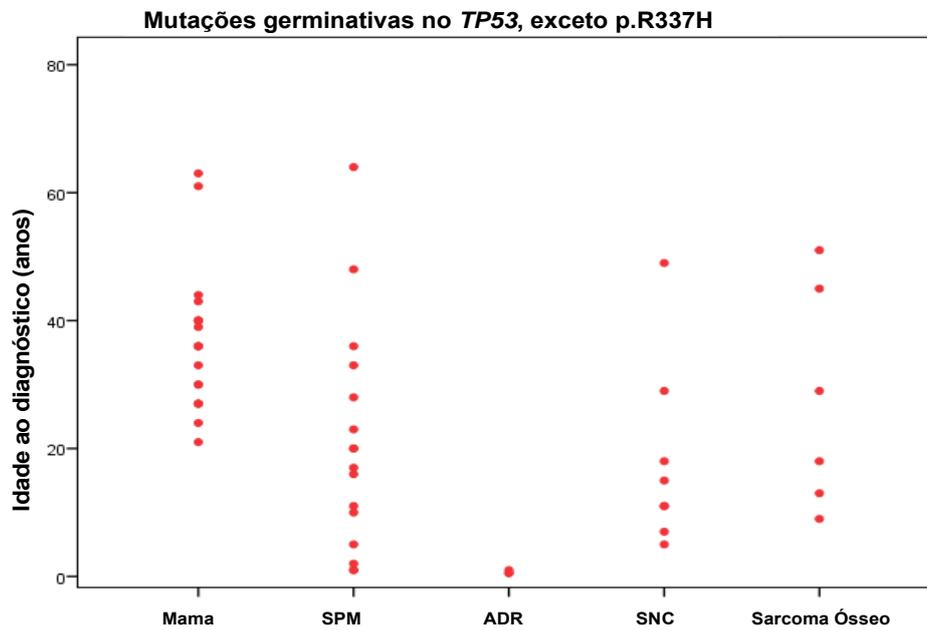
Legenda: ADR- carcinoma adrenocortical; SNC- tumor de Sistema Nervoso Central; SPM- sarcoma de partes moles

Figura 16 - Frequência de tumores de acordo com a idade ao diagnóstico nos portadores da mutação p.R337H e nos portadores de mutações germinativas no gene *TP53*, exceto mutação p.R337H.



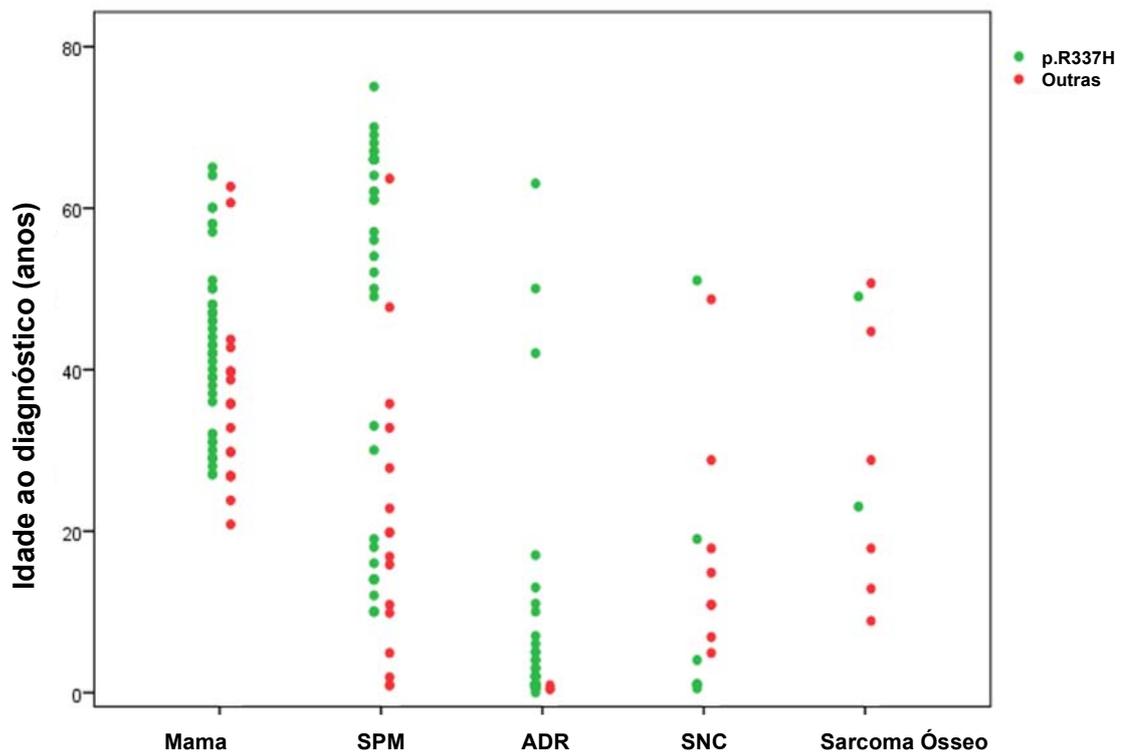
Legenda: ADR- carcinoma adrenocortical; SNC- tumor de Sistema Nervoso Central; SPM- sarcoma de partes moles

Figura 17 A - Principais tumores e idades ao diagnóstico nos portadores da mutação p.R337H



Legenda: ADR- carcinoma adrenocortical; SNC- tumor de Sistema Nervoso Central; SPM- sarcoma de partes moles

Figura 17 B - Principais tumores e idades ao diagnóstico nos portadores de mutações germinativas no gene *TP53*, exceto mutação p.R337H



Legenda: ADR- carcinoma adrenocortical; SNC- tumor de Sistema Nervoso Central; SPM- sarcoma de partes moles

Figura 18 - Comparação entre os principais tumores e idades ao diagnóstico nos dois grupos (portadores da mutação p.R337H e portadores de mutações germinativas no gene *TP53*, exceto mutação p.R337H)

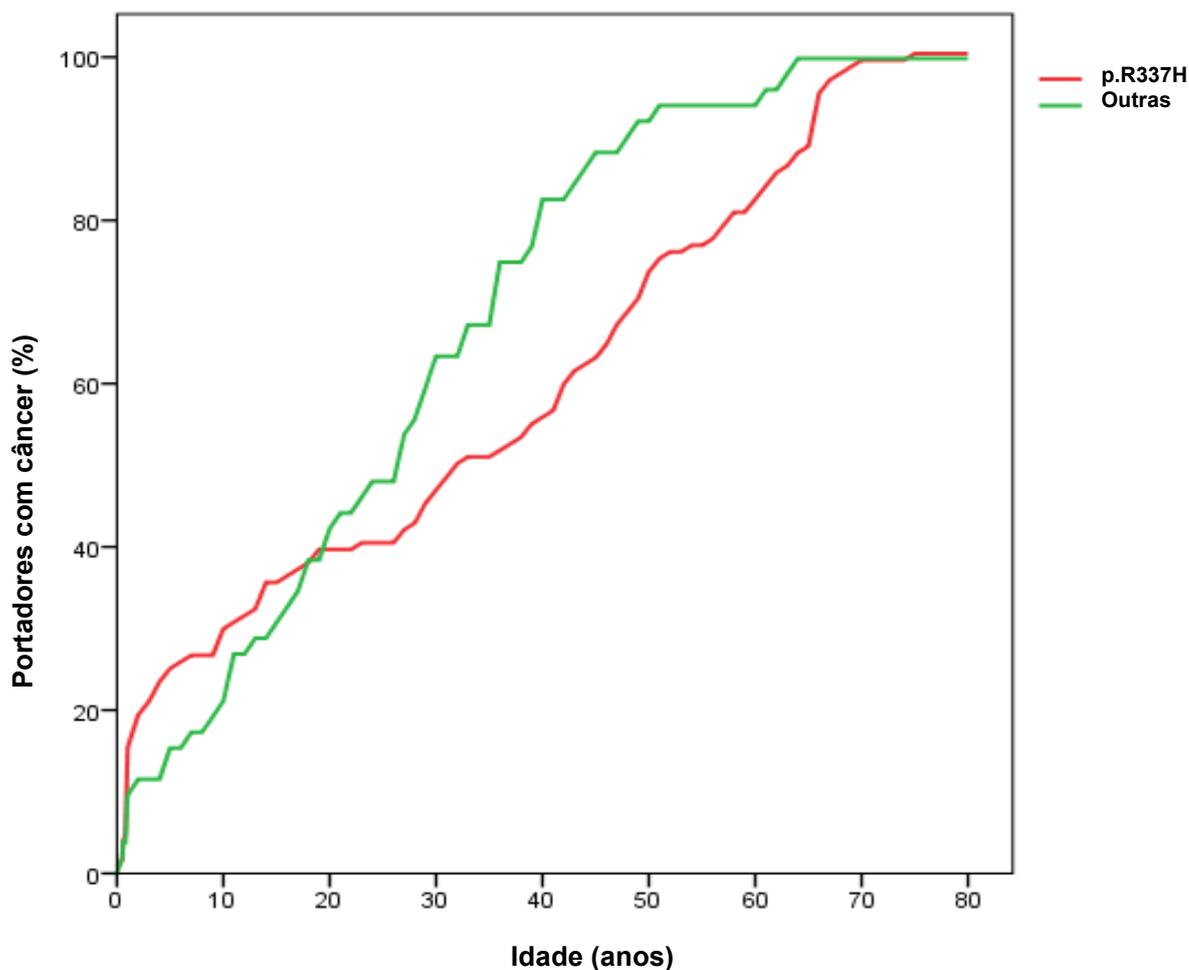


Figura 19 - Risco de câncer ao longo do tempo (penetrância)

5.4.1 Câncer de Mama

O câncer de mama é um tumor muito comum na LFS e a penetrância da mutação germinativa em *TP53* para câncer de mama nas portadoras femininas chega a 56% aos 45 anos (80% da incidência dos cânceres femininos nas portadoras ocorrem entre 16 e 45 anos). Na nossa coorte, aproximadamente 75% dos cânceres de mama ocorreram entre 26 e 50 anos. Com relação ao câncer de mama nos portadores da mutação p.R337H, a idade média do diagnóstico foi 42.8 anos. No grupo de

portadores de outras mutações no *TP53*, a idade média do diagnóstico de câncer de mama foi 37 anos.

As informações anátomo-patológicas estavam disponíveis em 48 dos 62 carcinomas apresentados pelos portadores. Carcinoma mamário invasivo (NST- *No Special Type*) estava presente em 66.7% dos casos e 33.3% eram carcinoma ductal *in situ* (CDIS).

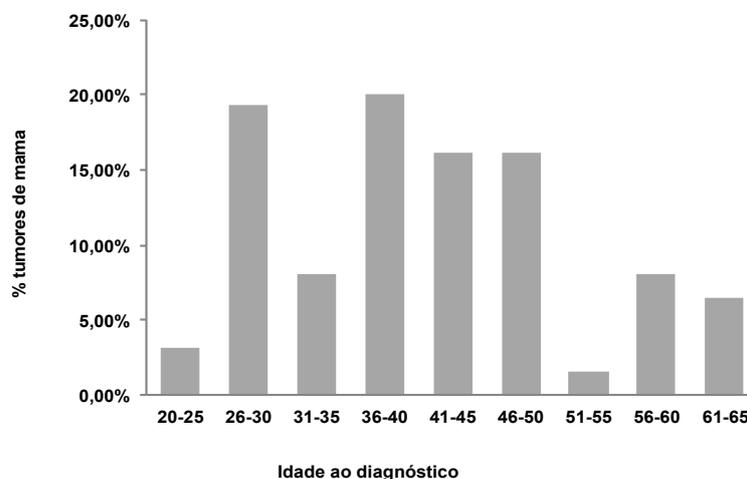


Figura 20 - Distribuição dos casos de câncer de mama de acordo com Idade ao diagnóstico

5.4.1.1 Portadores da Mutação p.R337H

Com relação ao câncer de mama nas portadoras da mutação p.R337H, as informações anátomo-patológicas estavam disponíveis em 35 dos 42 carcinomas apresentados pelas portadoras. Carcinoma mamário invasivo (NST- *No special type*) estava presente em 65.7% dos casos e 34.3% eram carcinoma ductal *in situ* (CDIS). De acordo com dados de imunohistoquímica de 21 carcinomas invasivos, 62% dos carcinomas

invasivos de mama eram positivos para receptores hormonais e negativos para o HER2 (subtipo molecular luminal) 19% eram luminal B HER2 positivo (positivo para receptores de estrógeno, progesterona e HER2) 19% eram triplo negativo (negativo para receptores de estrógeno, progesterona e HER2). Neste grupo de pacientes não foi observado nenhum tumor hiperexpressor de HER2 (HER2 positivo e receptores hormonais negativos) (Figura 21 e Tabela 8).

Neste grupo, uma paciente apresentou um tumor filodes maligno de mama aos 45 anos e uma paciente apresentou um tumor filodes benigno aos 29 anos.

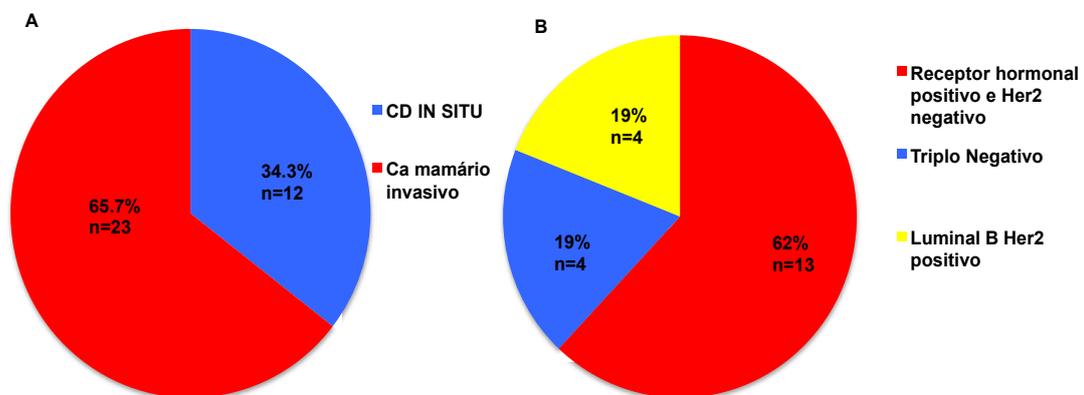


Figura 21 - Características dos carcinomas de mama em portadores de mutação p.R337H. A- tipos histológicos (n=35) ; B-perfil imunohistoquímico dos carcinomas invasivos (n=21)

5.4.1.2 Portadores de Outras Mutações no Gene *TP53*

No grupo de portadoras de outras mutações no *TP53*, as informações sobre a patologia dos tumores de mama estavam disponíveis em apenas

treze de vinte carcinomas de mama. Carcinoma mamário invasivo (NST- *No Special Type*) ocorreu em 69.2% dos casos e 30.8% eram carcinoma ductal *in situ* (CDIS).

Achados imunohistoquímicos dos oito carcinomas invasivos de mama mostraram: hiperexpressor de HER2 (50%), receptores hormonais positivos e HER2 negativo (25%, o chamado imunofenótipo luminal), triplo negativo (12.5%), luminal B HER2 positivo (12.5%) (Figura 22).

Neste grupo, uma paciente apresentou um tumor filodes maligno de mama aos 15 anos e duas pacientes apresentam tumor filodes benigno aos 21 e aos 36 anos, respectivamente.

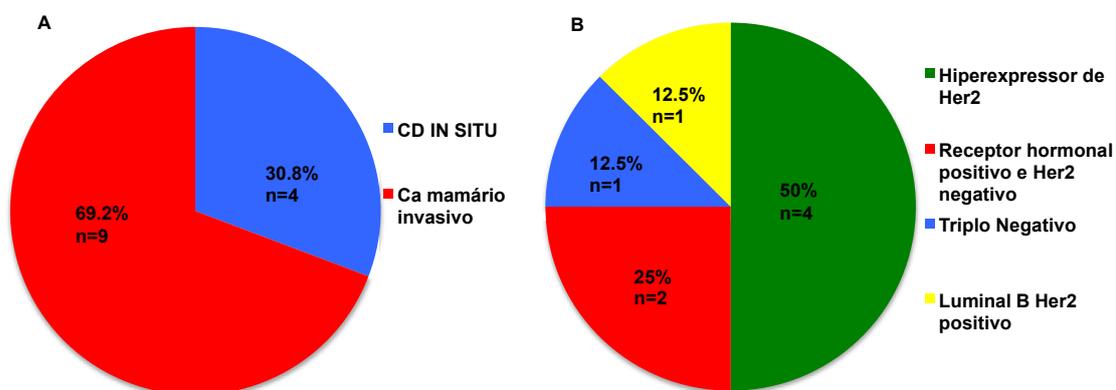


Figura 22 - Características dos carcinomas de mama em portadores de outras mutações no *TP53*. A- tipos histológicos (n=13) ; B-perfil imunohistoquímico dos carcinomas invasivos (n=8)

Tabela 8 - Características do câncer de mama em portadoras de mutação germinativa no gene *TP53*

	Mutação p.R337H (n=35)	Mutações no gene <i>TP53</i> , exceto p.R337H (n=13)
Idade média ao diagnóstico (anos)	42.8 (27-65)	37 (21-61)
Mediana ± DP (anos)	42 ± 10.44	36 ± 10.75
CDIS	12	4
Carcinoma invasivo	23	9
RE/RP positivo HER2 negativo	14	2
RE/RP/ HER2 positivo	4	1
RE/PR negativo e HER2 positivo	1	4
RE/RP/HER2 negativo	4	1
Não-especificado*	2	1

Legenda: CDIS (carcinoma ductal *in situ*), RE-receptor de estrógeno, RP-receptor de progesterona, DP-desvio padrão

* Havia informações anátomo-patológicas de 48 dos 62 carcinomas de mama e informação imunohistoquímica de 41 dos 62 tumores.

5.4.2 Sarcoma de Partes Moles (SPM)

5.4.2.1 Portadores da Mutação P.R337h

Os portadores da Síndrome de Li-Fraumeni têm um risco 12 a 21% de apresentar sarcoma ao longo da vida. Nesta coorte de pacientes foram observados 38 sarcomas nos portadores da mutação p.R337H de um total de 163 neoplasias primárias; e dezenove sarcomas, de 75 tumores primários, nos portadores de mutações germinativas no gene *TP53* não p.R337H.

A idade média do diagnóstico de sarcoma de partes moles nos portadores da mutação p.R337H foi 46.8 anos, enquanto nos portadores das demais mutações no gene *TP53* foi 24 anos, $p=0.001$ (Tabela 7).

Em portadores da mutação p.R337H com sarcoma, os dados anátomo-patológicos estavam disponíveis em 34 tumores de um total de 38 sarcomas. Leiomiossarcoma foi a histologia mais frequente (54.3%), seguida de sarcoma pleomórfico (34.3%). Outros subtipos encontrados foram: mixofibrossarcoma (2.8%), rabdomiossarcoma (2.8%) e sarcoma fusocelular de alto grau (2.8%). A idade média do diagnóstico foi 44.8 anos e oito pacientes apresentaram múltiplos sarcomas, alguns sincrônicos e outros metacrônicos (Figura 23).

Uma paciente apresentou fibrohistiocitoma maligno aos 49 anos na pele da mama irradiada previamente (dois anos antes). A paciente teve um carcinoma ductal *in situ* de mama aos 47 anos e foi tratada com cirurgia conservadora e radioterapia na ocasião.

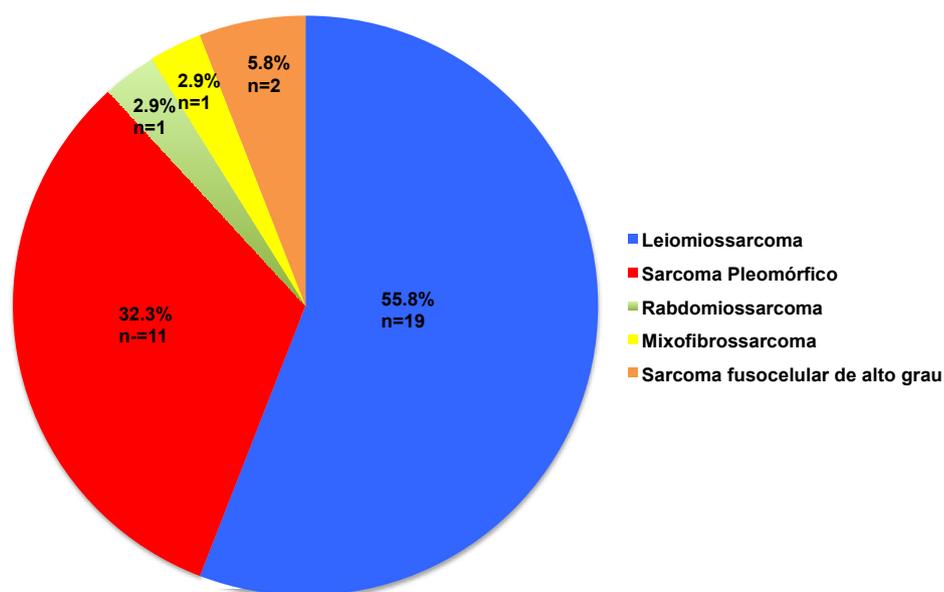


Figura 23 - Tipos histológicos de sarcomas de partes moles em portadores da mutação p.R337H (n=34)

5.4.2.2 Portadores de Outras Mutações no Gene *Tp53*

Em portadores de outras mutações no gene *TP53* com sarcoma, os dados anátomo-patológicos estavam disponíveis em 12 tumores de um total de 18 sarcomas. Neste grupo de portadores, a idade média do diagnóstico de sarcoma foi 24 anos e o tipo histológico rbdomiossarcoma (33.3%) foi tão frequente quanto leiomiossarcoma (33.3%). Outros tipos histológicos observados nestes pacientes foram: fibrossarcoma (16.6%), sarcoma pleomórfico (8.4%) e sarcoma não-classificável (8.4%).

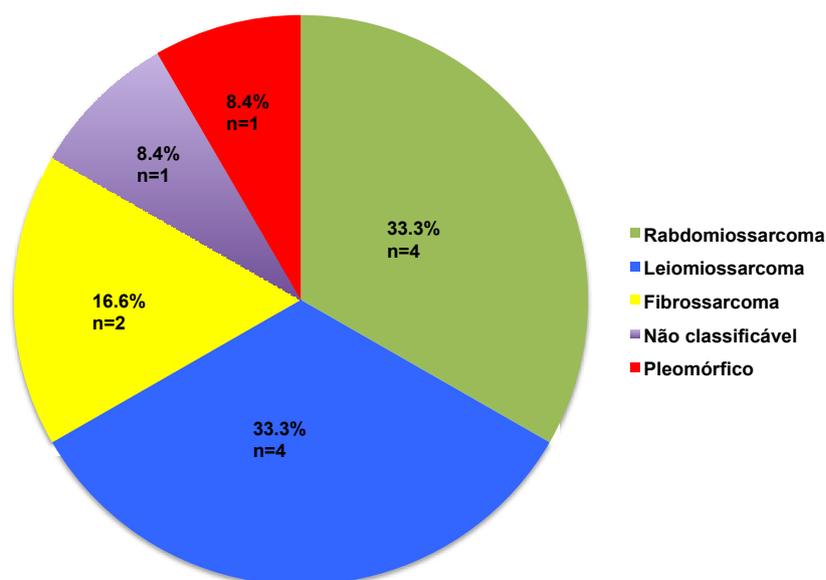


Figura 24 - Tipos histológicos de sarcomas de partes moles em portadores de outras mutações no gene *TP53* (n=12)

5.4.3 Carcinoma de Adrenal

O carcinoma adrenocortical (ADR) é uma neoplasia rara, cuja incidência anual estimada é de aproximadamente 0.3 para cada 1.000.000 de indivíduos abaixo dos 15 anos de idade; contudo, nas regiões Sul e Sudeste do Brasil, essa incidência é 10 a 15 vezes maior do que a observada em outras partes do mundo, fato ligado à alta ocorrência da mutação p.R337H nesta população (SANDRINI et al. 1997). Esta neoplasia tem uma distribuição bimodal, havendo um pico de incidência até os cinco anos de idade e outro pico após a quarta década de vida. O quadro clínico do carcinoma de córtex de adrenal normalmente está relacionado ao excesso da produção dos hormônios adrenocorticais. Os pacientes frequentemente apresentam quadros de puberdade precoce, Síndrome de

Cushing e hipertensão arterial sistêmica (LATRONICO e CHROUSOS 1997). Recentemente foi descrito que aproximadamente 90% dos carcinomas adrenocorticais infantis ocorriam em portadores da mutação p.R337H. A penetrância de carcinoma de adrenal é estimada em 2.39% em crianças portadoras da mutação p.R337H até os 5 anos de idade e acredita-se que chegue a 10% até os 12 anos de idade (FIGUEIREDO et al. 2006; CUSTÓDIO et al. 2013).

Na nossa casuística, aproximadamente 47% dos carcinomas adrenocorticais ocorrem até um ano de idade e 76% até os cinco anos de idade (Figura 25). Com relação ao tipo de mutação apresentada pelos pacientes, a idade média do diagnóstico nos portadores da mutação p.R337H foi 7.5 anos e nos portadores das demais mutações no gene *TP53* foi 8 meses, $p=0.029$ (Tabela 7).

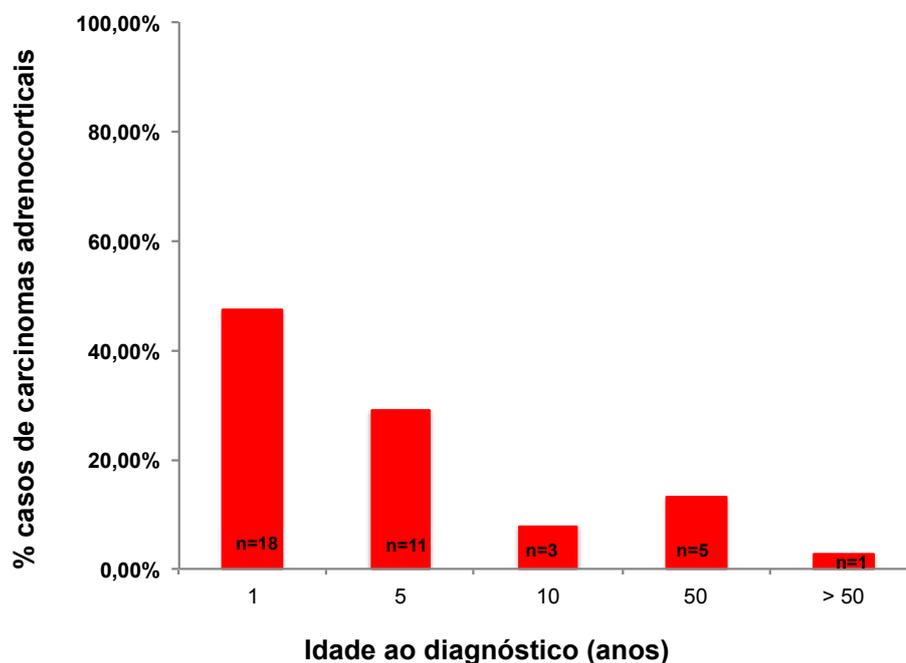


Figura 25 - Distribuição dos pacientes com carcinoma de adrenal de acordo com idade do diagnóstico

5.4.4 Outros Tumores

Interessantemente três tumores não característicos da Síndrome de Li-Fraumeni clássica foram frequentes nos pacientes portadores da mutação fundadora p.R337H: carcinoma de tireoide, carcinoma de pulmão e carcinoma renal (Figura 26).

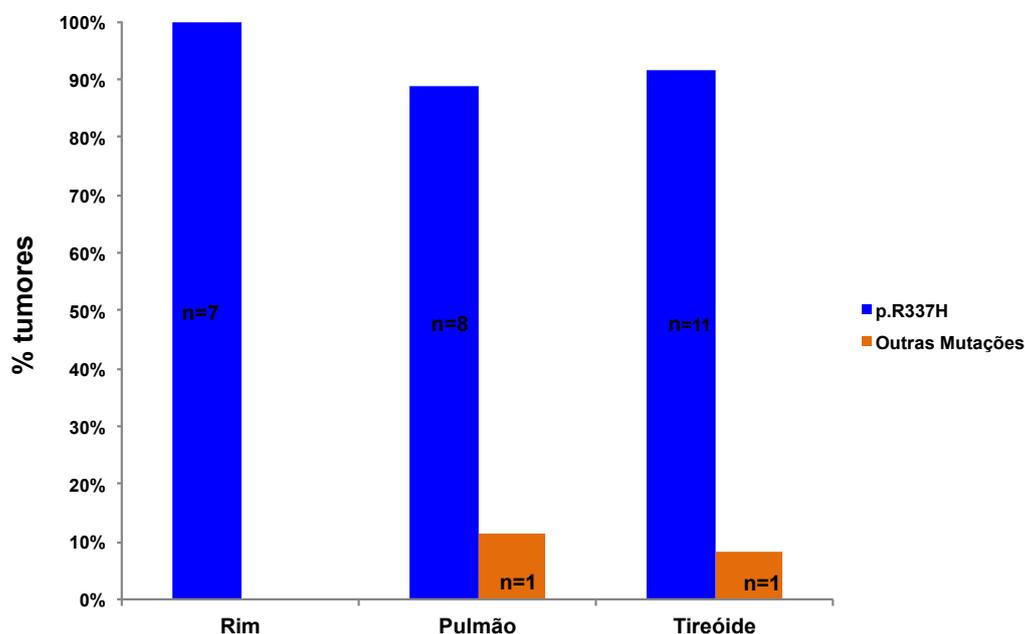


Figura 26 - Número de casos de tumores de tireoide, rim e pulmão de acordo com o tipo de mutação

5.4.4.1 Câncer de Tireoide

Foram observados onze casos de carcinoma de tireoide nos portadores da mutação p.R337H, comparado com apenas um caso nos portadores de outras mutações, em uma paciente de 37 anos. Foi o quarto tumor mais frequente nos portadores da mutação fundadora p.R337H (6.7%), ficando atrás apenas de câncer de mama, sarcoma de partes moles e carcinoma de adrenal. Todos os onze casos tinham histologia de carcinoma papilífero de tireoide, sendo oito em mulheres e três em homens, com uma idade média de diagnóstico de 44 anos (mediana de 43 anos \pm 14.77). De onze portadores de carcinoma de tireoide com mutação p.R337H,

em seis pacientes o câncer de tireoide foi o primeiro tumor desenvolvido (54.5%) e na portadora de mutação não-p.R337H com carcinoma de tireoide, esta neoplasia foi o segundo câncer apresentado pela paciente, sete anos após o diagnóstico de um câncer de mama (Tabela 9).

Tabela 9 - Pacientes com carcinoma de tireoide

Identificação	Mutação	Sexo	Idade ao diagnóstico	Histopatologia	Tratamento	Outros tumores (idade ao diagnóstico em anos)
Y0015T004	c.1010G; p.R337H	F	25	Carcinoma papilífero, variante folicular	cirurgia e iodoterapia	Feocromocitoma (25)
Y0012T000	c.1010G; p.R337H	F	28	Carcinoma papilífero	cirurgia e iodoterapia	Mama (42)
Y0015T003	c.1010G; p.R337H	F	26	Carcinoma papilífero	cirurgia	-
Y0015T001	c.1010G; p.R337H	M	70	Carcinoma papilífero, variante folicular	cirurgia e iodoterapia	-
Y0012T012	c.1010G; p.R337H	M	54	Carcinoma papilífero	cirurgia e iodoterapia	SPM (61)
Y0012T011	c.1010G; p.R337H	M	32	Carcinoma papilífero	cirurgia e iodoterapia	-
Y0185T000	c.1010G; p.R337H	F	43	Carcinoma papilífero	cirurgia	Condrossarcoma (23); Tumor filoides maligno (45); Condrossarcoma (49)
Y0012T001	c.1010G; p.R337H	F	58	Carcinoma papilífero	cirurgia	SPM (57); Mama (60), Pulmão (62); SPM (67), SPM (68)
Y0012T070	c.1010G; p.R337H	F	62	Carcinoma papilífero	cirurgia e iodoterapia	Mama (51); Pulmão (66)
Y0231T000	c.1010G> A; p.R337H	F	40	Carcinoma papilífero	cirurgia	SPM-Rabdomiossarcoma (30); Rim (32)
Y0131T001	c.1010G; p.R337H	F	46	Carcinoma papilífero	cirurgia e iodoterapia	Mama (43)
GGC 1598	c.731G>A ;p.G244D	F	37	Carcinoma papilífero	cirurgia	Mama (30)

5.4.4.2 Câncer de Pulmão

A prevalência de câncer de pulmão nos portadores de LFS é pouco conhecida, mas há um aumento dos casos vistos em estudos observacionais de portadores de LFS, o que permitiu que esse tumor fosse incluído nos critérios de Chompret modificado para LFL (Quadro 3). O subtipo histológico adenocarcinoma, principalmente adenocarcinoma predominantemente lepidico (anteriormente classificado como carcinoma bronquíolo-alveolar), representa a maioria dos casos em portadores de LFS. A maioria desses tumores ocorre antes da quinta década e em pacientes femininas.

Na nossa população do estudo, foram observados nove casos de adenocarcinoma de pulmão em 140 portadores que tiveram câncer (5.7%). O carcinoma de pulmão foi observado em oito pacientes com a mutação p.R337H, com uma média de idade de diagnóstico de 52.4 anos, sendo cinco mulheres e três homens. Cinco desses pacientes eram tabagistas, uma paciente não relatava história de tabagismo e informações sobre tabagismo não foi possível de ser obtido dos arquivos médicos em duas pacientes. Apenas uma paciente apresentou carcinoma de pulmão aos 48 anos no grupo de portadores de outras mutações no gene *TP53*.

No nosso estudo, estavam disponíveis nos documentos de prontuário dados da análise anátomo-patológica de seis tumores de pulmão associados a mutação p.R337H, revelando um adenocarcinoma in situ, dois adenocarcinomas, dois carcinomas bronquíolo-alveolar (este atualmente

denominado adenocarcinoma predominantemente lepidico) e um adenocarcinoma misto com padrão bronquíolo-alveolar.

A literatura é escassa com relação às anormalidades moleculares de carcinoma de pulmão nestes portadores. Um crescente número de publicações sugere uma associação entre mutação *TP53* e carcinoma de pulmão com mutação do EGFR, levantando a hipótese da perda de função da proteína p53 pode ativar o promotor do gene *EGFR*. Na literatura há relato de seis casos de pacientes com a síndrome e adenocarcinoma de pulmão EGFR mutado, sendo cinco pacientes femininas e todos sem história de tabagismo (BEMIS et al.2007; MICHALAREA et al. 2014; RICORDEL et al. 2015).

Na nossa população só havia informação sobre mutação do EGFR em um paciente cujo tumor de pulmão era adenocarcinoma com mutação do EGFR e apresentando resposta duradoura à terapia com inibidor de tirosina-quinase do EGFR (erlotinibe).

5.4.4.3 Câncer Renal

Em portadores de outras mutações no gene *TP53*, nenhum caso de carcinoma de células renais foi observado. Uma criança apresentou um tumor de Wilms, aos 7 meses de idade, um tumor infantil já descrito na Síndrome de Li-Fraumeni.

No entanto, nos portadores da mutação p.R337H, sete carcinomas de células renais foram diagnosticados, com uma idade média de diagnóstico de 42.7 anos (Tabela 7). Quatro tumores tinham histologia de carcinoma de

células claras, um carcinoma medular em uma criança de 8 anos, um carcinoma sarcomatóide e em um caso de carcinoma renal não foi possível resgatar os dados anátomo-patológicos dos arquivos de prontuários médicos.

5.4.4.4 Câncer Colorretal

Nesta coorte de 247 portadores de mutações patogênicas no gene *TP53*, foram observados quatro casos de carcinoma colorretal, todos em pacientes femininas portadoras de outras mutações no gene *TP53*, com uma média de idade ao diagnóstico de 38.7 anos. Interessantemente nenhum caso de câncer colorretal foi observado nos portadores da mutação fundadora p.R337H desta coorte.

Tabela 10 - Casos de câncer colorretal nos portadores de outras mutações no gene *TP53*

Tipo de Mutação	Idade (anos)
c.589G>A; p.V197M	45
c.375G>A; p.T125T	53
c.672+1G>T; IVS6+1G>T	22
c.731G>A; p.G244D	35

5.5 TUMORES ESPORÁDICOS E TUMORES ASSOCIADOS A MUTAÇÕES GERMINATIVAS NO GENE *TP53*

Os tumores apresentados por pacientes portadores de síndromes hereditárias de predisposição a câncer normalmente ocorrem em idade mais precoce do que os tumores esporádicos na população geral. Isto é explicado pela teoria de “*two-hits*” de Knudson (KNUDSON 1971), onde um alelo já se encontra alterado no portador de mutação germinativa. Comparando os nossos resultados com os dados do SEER americano, observamos que os tumores na nossa população ocorreram em idade mais jovem do que no registro populacional de tumores esporádicos. Destacamos nesta análise o sarcoma de partes moles, que nos casos esporádicos a idade média de diagnóstico é 59 anos e nos portadores da mutação p.R337H foi 46.8 anos e nos portadores de outras mutações no gene *TP53* foi 24 anos (Tabela 11). O carcinoma de adrenal, que também não é um tumor frequente na população geral, tem idade média de diagnóstico nos casos esporádicos de 46 anos, enquanto nos nossos pacientes foi 7.5 anos nos portadores da mutação p.R337H e 8 meses nos portadores de outras mutações no gene *TP53*.

Os tumores de SNC ocorrem mais na população geral após os 50 anos (idade média de diagnóstico de 46 anos). Nos portadores da mutação p.R337H, a idade média de diagnóstico de 11.7 anos e nos portadores de outras mutações foi 18.6 anos (Tabela 11). Interessantemente no grupo de portadores da mutação p.R337H, 57% dos tumores de SNC eram carcinoma

de plexo coróide, enquanto 12.5% dos tumores de SNC eram carcinoma de plexo coróide nos portadores de outras mutações.

Outros tumores também confirmam esse padrão de idade mais jovem ao diagnóstico nos casos associados a mutações germinativas no gene *TP53* como, por exemplo, câncer de rim, melanoma, câncer colorretal e câncer gástrico (Figura 27 e Tabela 11).

Tabela 11 - Tipo de tumor e idade ao diagnóstico entre portadores de mutações germinativas no gene *TP53* e na população geral (dados do SEER)

Tumor	Idade média ao diagnóstico (anos)		
	p.R337H	Outras mutações	SEER
Mama	42.8	37	61
Sarcoma de Partes Moles	46.8	24	59
ADR	7.58	8m	46
SNC	11.7	18.6	46
Sarcoma Ósseo	36	27.5	42
Tireoide	44	37	50
Pulmão	52.4	48	70
Próstata	61	-	66
Rim	42.7	-	64
CRC	-	38.7	68
Estômago	59	35	69
Melanoma	-	39	63

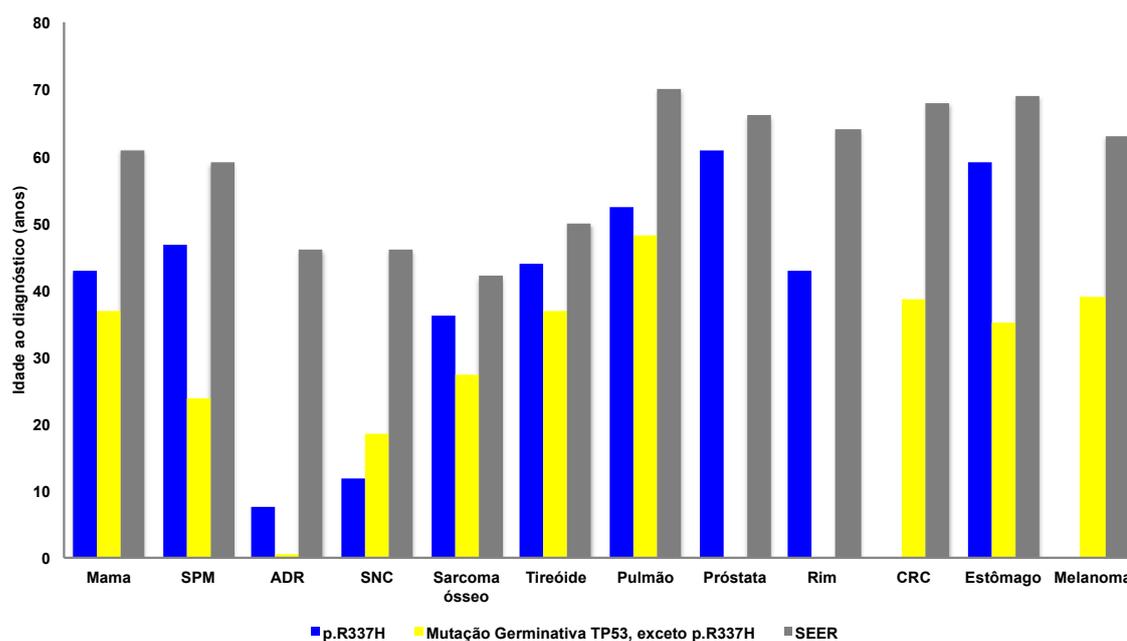


Figura 27 - Comparação das idades de diagnóstico entre os 2 grupos de mutações e dados de tumores esporádicos do SEER

5.6 RADIOTERAPIA

Geralmente os tumores radioinduzidos ocorrem no campo da radioterapia, com uma latência de tempo variável. Além disso, a exposição à radiação ionizante, radiação gama, raios UV (ultravioletas), agentes oxidantes, drogas citotóxicas e agentes químicos causadores de câncer podem aumentar o risco de desenvolvimento de tumores relacionados à síndrome (HISADA et al. 1998; NUTTING et al. 2000; LIMACHER et al. 2001).

Na nossa população podemos observar que muitos dos pacientes realizaram radioterapia previamente ao diagnóstico molecular da Síndrome

de Li-Fraumeni e, em alguns casos, mesmo sabendo do risco de tumores radioinduzidos, havia necessidade de complementar o tratamento local com radioterapia para evitar cirurgias mutiladoras. De todos portadores sintomáticos desta coorte, 27 foram submetidos à radioterapia em algum momento do tratamento oncológico e onze deles apresentaram neoplasias após, não necessariamente no campo de radioterapia (Tabela 12).

Alguns casos foram relevantes para hipótese de tumores radioinduzidos. A paciente Y0243T000 apresentou tumor de mama direita aos 39 anos, quando recebeu radioterapia local e, aos 44 anos, apresentou um carcinoma no lobo superior do pulmão direito. O paciente Y0047T000 teve diagnóstico de linfoma de Hodgkin aos doze anos e recebeu radioterapia em cadeias linfonodais do mediastino e abdome e, aos 20 anos, desenvolveu um sarcoma de retroperitônio e, aos 35 anos, um carcinoma gástrico.

A paciente Y0228T000 é um caso onde a hipótese de tumor radioinduzido é mais concreta. Fez radioterapia em mama esquerda aos 47 anos e aos 49 anos apresentou um sarcoma na mesma mama (no campo da radioterapia).

A paciente Y0102T000 apresentou linfoma de Hodgkin aos sete anos de idade, recebendo radioterapia em campos mediastinais e em região dorsal esquerda. Aos dez anos de idade desenvolveu um sarcoma em escápula esquerda e aos quatorze anos apresentou três sarcomas primários na região supra-clavicular esquerda e paravertebral esquerda. Aos dezenove anos foi submetida à radioterapia em fossa cubital esquerda após

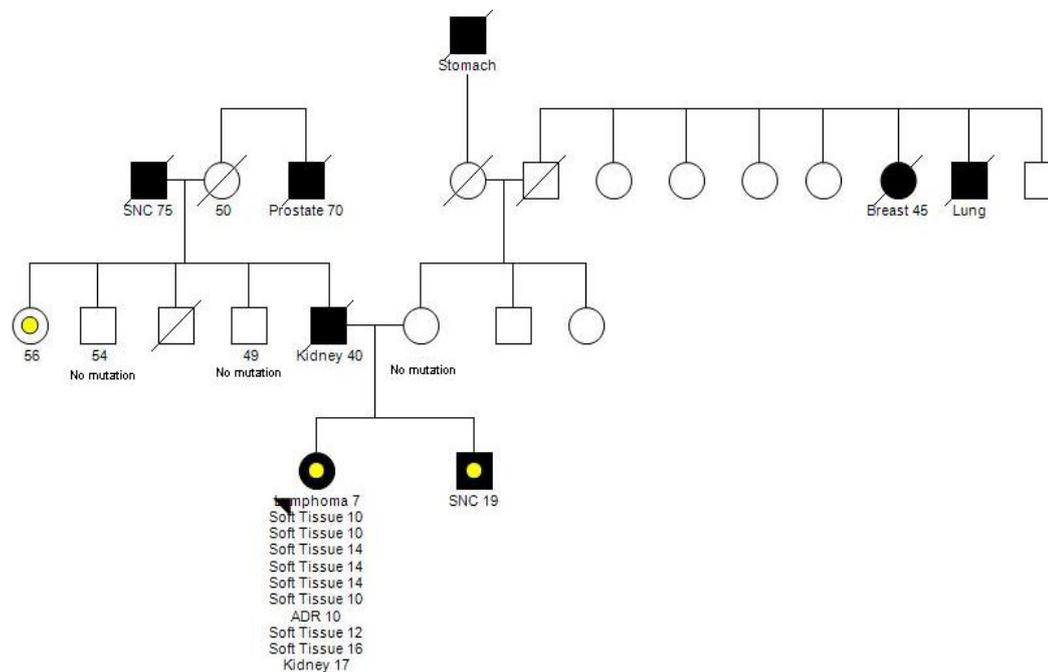
uma ressecção cirúrgica marginal de sarcoma, apresentando nos meses seguintes recidiva local (Figura 28). A paciente Y0012T070 recebeu radioterapia após cirurgia na mama direita e dez anos após apresentou novo carcinoma na mesma mama e um carcinoma de tireoide (em alguns casos a tireoide pode ser parcialmente atingida em campos de radioterapia para câncer de mama) (Figura 29). O paciente Y0106T007 realizou radioterapia para tratamento de sarcoma de retroperitônio, apresentando múltiplas recidivas locais nos anos seguintes.

Tabela 12 - Radioterapia e tumores desenvolvidos após

Identificação	Local Radioterapia (idade em anos)	Dose	Novo Tumor (idade em anos)
Y0254T000	Mama (31)	50,4Gy	-
Y0243T000	Mama Direita (39)	50,4Gy	Pulmão D (44)
Y0012T070	Mama Direita (51)	-	Mama (61); Tireoide (62); Pulmão E (66)
Y0227T000	SNC (15)	-	-
Y0106T009	Mama (28)	-	-
Y0012T055	Mama Direita (58)	-	Mama Esquerda (65)
Y0161T000	Coxa direita (56)	-	-
Y0333T000	Mama (32)	-	-
Y0027T006	Mama (39)	-	-
Y0102T001	SNC (19)	-	-
Y0047T000	Cadeias linfonodais mediastino/ abdome (12)	-	Sarcoma de retroperitônio (20) Estômago (35)
Y0097T000	Órbita (1)	-	SPM perna direita (28) SPM perna esquerda (36)
Y0012T071	SNC (51)	-	-
	Mama esquerda (47)	-	Pulmão (lobo superior direito) (48)
Y0228T000			SPM mama esquerda (49) Fígado (51)
	Mediastino e região dorsal E (7)	64Gy	SPM escápula esquerda (10)
Y0102T000	Região cubital E (19)		ADR (10); SPM glúteo (10) Recidiva local (19)
Y0232T000	Mama (48)	-	
Y0131T001	Mama (43)	-	Tireoide (46)
Y0099T000	Mama (32)	-	-
Y0106T000	Mama (43)	-	SPM uterino (52)
Y0198T000	Mama (50)	-	-
Y0171T006	Mama (50)	-	-
Y0349T000	Mama (29)	-	-
Y0347T000	Mama (41)	-	-
Y0186T000	Mama E (33)	-	Mama E (40); Mama D (40); Mama D (46); SPM (48); SPM (51)
Y0187T000	Mama (64)	-	-
Y0242T000	Pulmão (54)	-	-
Y0106T007	Sarcoma retroperitônio (75)	-	Múltiplas recidivas locais sarcoma

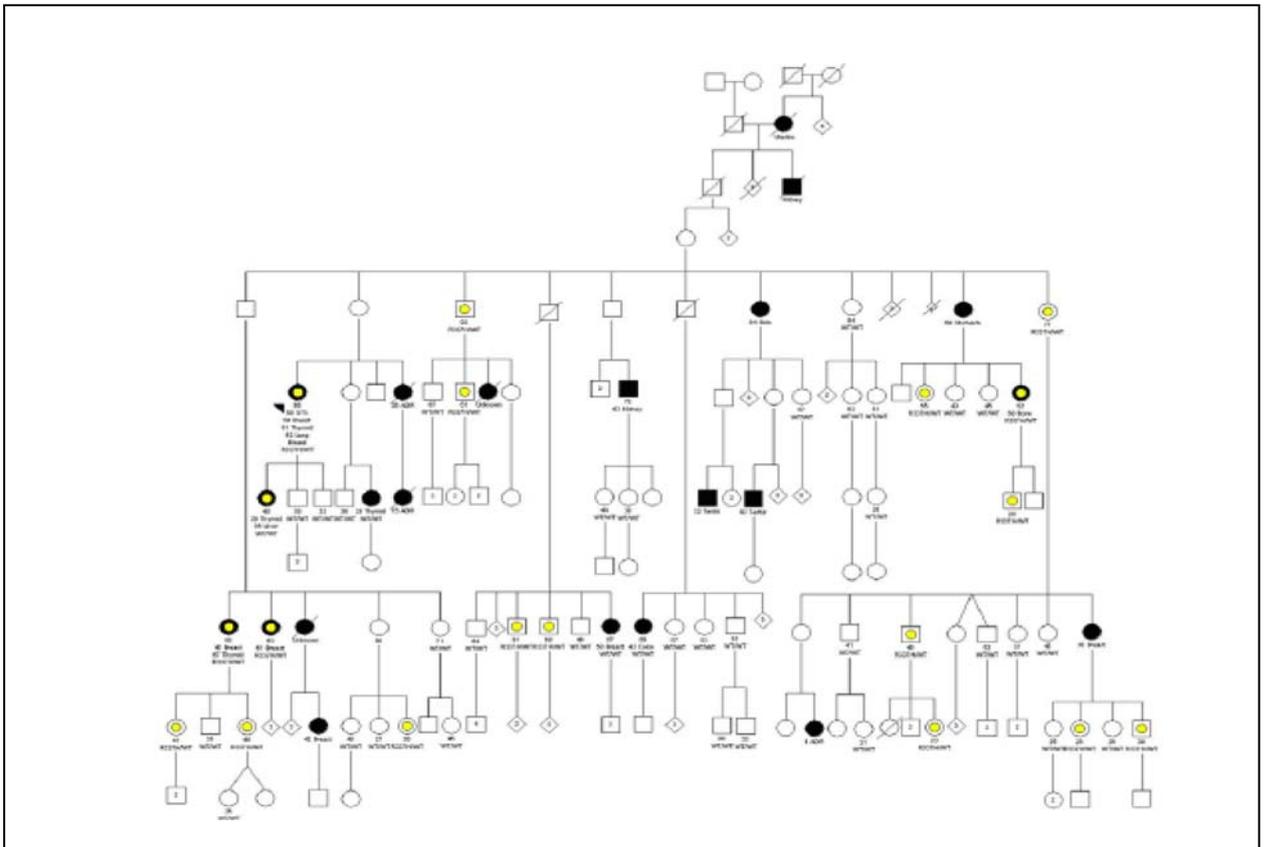
Legenda: E- esquerda; D-direita

Y102

 Genetic Testing, Test Result = mutation


Legenda: o paciente índice (probando) está indicado por uma seta. Amarelo: pacientes portadores. Preto: paciente acometido por neoplasia maligna. Primeira informação abaixo do símbolo: idade na época do heredograma. Segunda informação: tipo de tumor e idade ao diagnóstico

Figura 28 - Heredograma ilustrativo da família Y0102. Paciente Y0102T000 portadora de mutação p.R337H apresentou 13 tumores primários nos primeiros 18 anos de vida: aos 7 anos -Linfoma de Hodgkin, aos 10 anos-carcinoma de adrenal 2 sarcomas pleomórficos na região de escápula esquerda e 1 fibrohistiocitoma maligno no glúteo, aos 12 anos- 1 sarcoma fusocelular de alto grau em coxa direita, aos 14 anos- 4 sarcomas pleomórficos (três na região dorsal e um na axila esquerda), aos 16 anos- 1 sarcoma pleomórfico na região de crista ilíaca direita, aos 17 anos- carcinoma de células claras renais e aos 18 anos- 1 sarcoma pleomórfico na fossa cubital esquerda



Legenda: o paciente índice (probando) está indicado por uma seta. Amarelo: pacientes portadores. Preto: paciente acometido por neoplasia maligna. Primeira informação abaixo do símbolo: idade na época do heredograma. Segunda informação: tipo de tumor e idade ao diagnóstico.

Figura 29 A - Heredograma ilustrativo da família Y0012. Maior família acompanhada no Departamento de Oncogenética do A.C.Camargo Cancer Center Este heredograma é de 2007, quando havia 57 indivíduos testados (em amarelo) e 19 deles eram portadores da mutação p.R337H

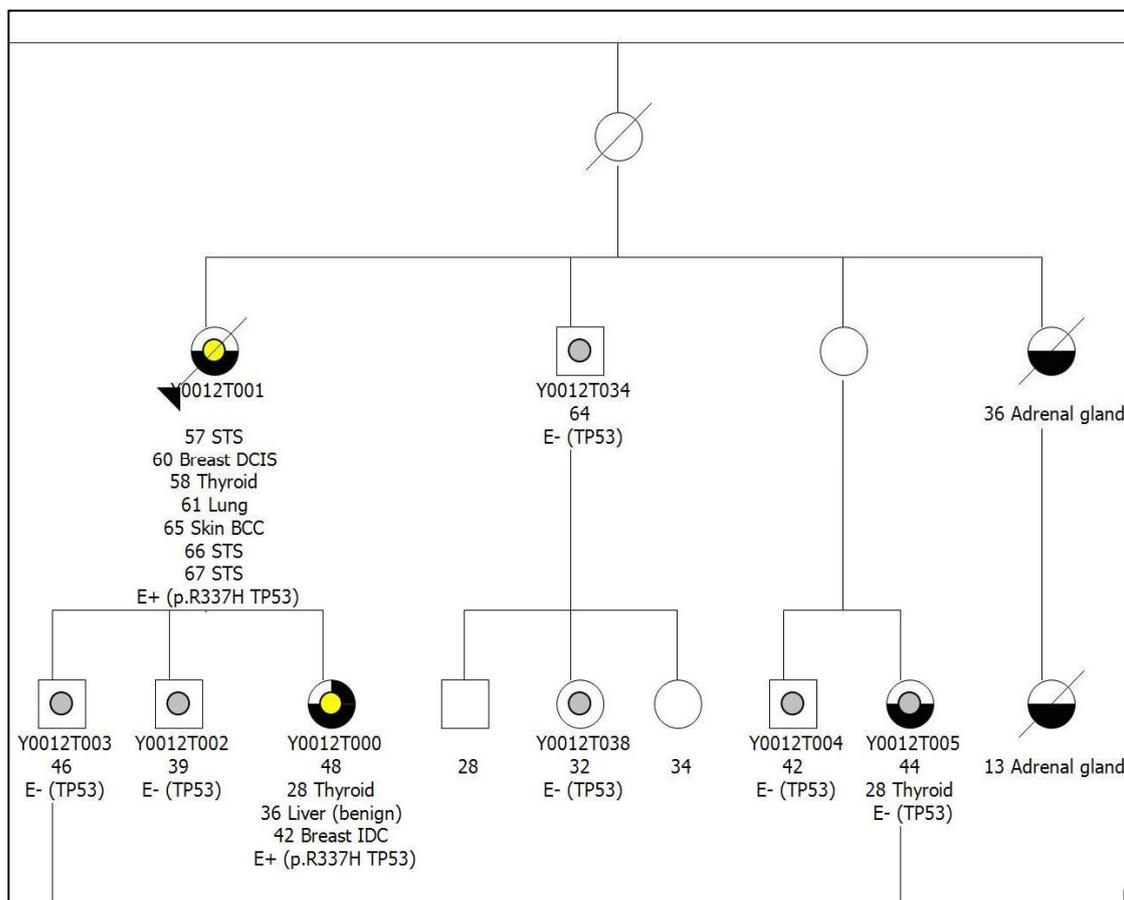


Figura 29 C - Paciente Y0012T001. A paciente Y0012T001 (indicada pela seta) apresentou 18 tumores primários e foi a óbito aos 67 anos: leiomiossarcoma de retroperitônio aos 57 anos, carcinoma papilífero de tireoide aos 58 anos, carcinoma *in situ* de mama aos 60 anos, carcinoma bronquíolo-alveolar de pulmão aos 62 anos, carcinoma basocelular de pele aos 65 anos, 8 sarcomas sincrônicos aos 66 anos e 5 sarcomas sincrônicos aos 67 anos.

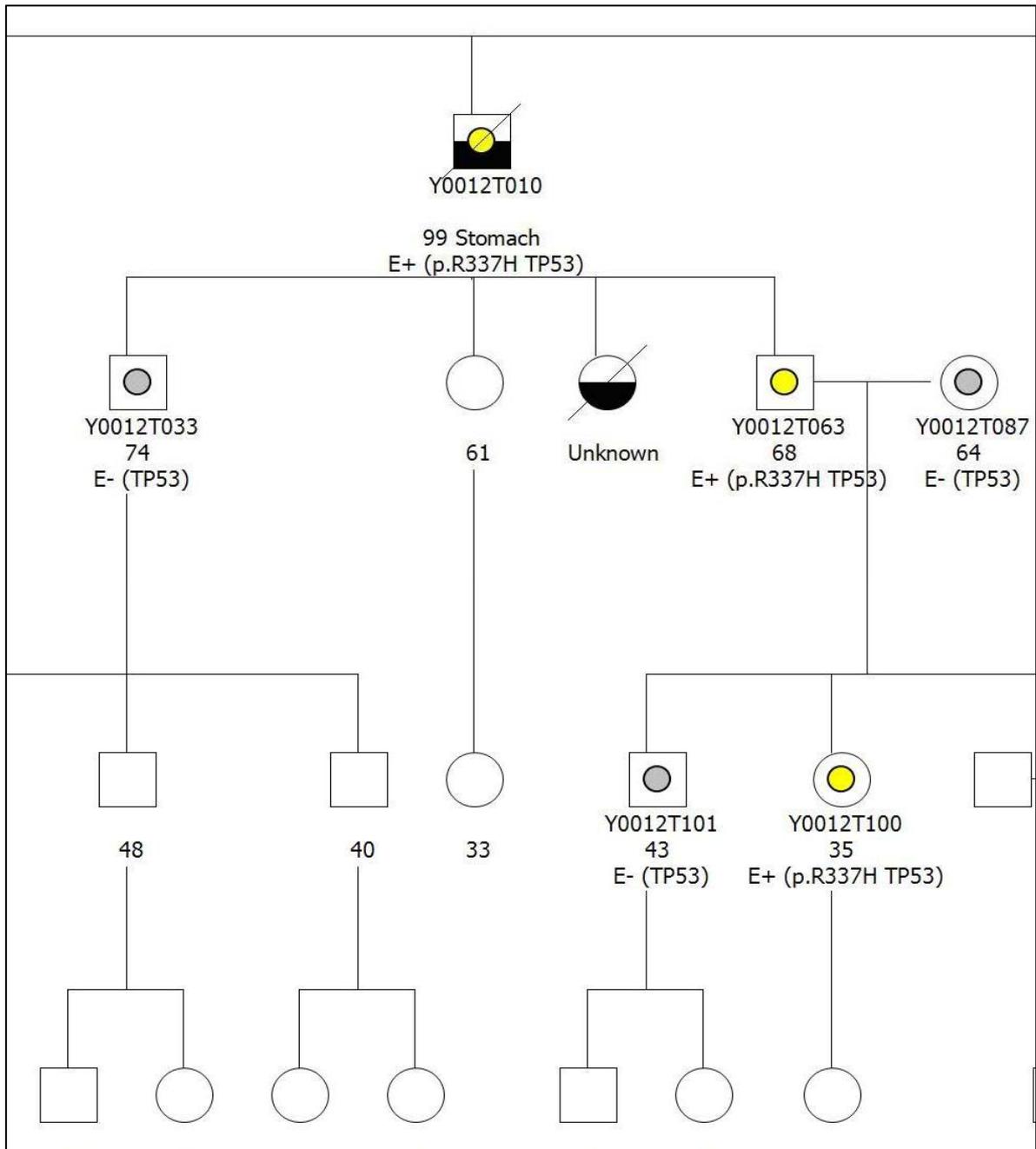


Figura 29 D - Paciente Y0012T010. O paciente Y0012T010 apresentou a primeira neoplasia (câncer gástrico) aos 99 anos de idade

6 DISCUSSÃO

As mutações germinativas do gene *TP53* normalmente estão associadas à Síndrome de *Li-Fraumeni* (LFS), uma síndrome de predisposição hereditária ao câncer em que os portadores chegam a apresentar 90% de risco de desenvolver algum tipo de tumor ao longo de suas vidas (NAGY et al. 2004). O nosso estudo teve o objetivo de avaliar retrospectivamente as características clínicas dos portadores brasileiros da Síndrome de Li Fraumeni (LFS) e Síndrome *Li-Fraumeni like* (LFL), comparando as características dos portadores da mutação fundadora brasileira p.R337H com os portadores das demais mutações germinativas no gene *TP53*.

O conhecimento do fenótipo distinto dos portadores da mutação p.R337H pode auxiliar a estabelecer um programa de rastreamento para esses pacientes diferente do preconizado para os portadores das demais mutações no gene *TP53* (não-p.R337H).

Os dados obtidos neste estudo ajudarão no aconselhamento genético das famílias de portadores da mutação p.R337H, além de poderem auxiliar no estabelecimento de critérios clínicos sugestivos da presença de mutações no gene *TP53*.

6.1 CORRELAÇÃO GENÓTIPO-FENÓTIPO

Sabe-se que o genótipo influencia a idade de aparecimento do tumor e o espectro tumoral nos portadores de síndromes de predisposição a câncer. BIRCH et al. (1994) reportaram uma maior incidência e idade mais precoce de diagnóstico de câncer de mama e tumor de SNC em famílias com mutações *missense* no sítio de ligação ao DNA.

A mutação p.R337H, conhecida como mutação fundadora brasileira, e que ocorre no domínio de oligomerização do gene *TP53* (éxon 10), não foi descrita inicialmente como uma mutação associada a um amplo espectro tumoral e, sim, como uma mutação tecido específica, associada somente ao desenvolvimento do tumor do córtex da adrenal (RIBEIRO et al. 2001). O perfil tumoral associado a essa mutação parece diferir ao espectro tumoral das mutações no domínio de ligação ao DNA do gene *TP53*, assim como as idades de aparecimento dos tumores. Nas regiões sul e sudeste do Brasil, onde a frequência estimada desta mutação alcança 0.3% da população, a incidência do carcinoma de cortex de adrenal chega a ser 10 a 15 vezes maior do que a descrita em outros países (SANDRINI et al. 1997). Em 2006, foi identificada a presença desta mutação em famílias brasileiras com LFL (ACHATZ et al. 2007), abrindo a discussão sobre o espectro de tumores a que esta mutação predispõe. A expressão fenotípica da mutação p.R337H parece ser distinta da LFS clássica, mas há poucos dados na literatura sobre este aspecto.

Além disso, a correlação genótipo-fenótipo não é consistente, uma

vez que famílias portadoras da mesma mutação expressam manifestações clínicas diversas com espectro tumoral e idade de diagnóstico dos tumores diferentes. Além do mais, dentro de uma única família observamos expressão fenotípica distinta (GUIDI et al. 2016). Por exemplo, na família Y102, a paciente Y0102T00 apresentou mais de dez tumores primários, enquanto seu irmão, o paciente Y0102T001 apresentou apenas um tumor primário (Figura 28). Na família Y0012, a maior família com mutação p.R337H acompanhada no Departamento de Oncogenética do A.C. Camargo Cancer Center, temos uma penetrância bem variada entre os portadores, o paciente Y0012T010 apresentou a primeira neoplasia (câncer gástrico) aos 99 anos de idade (figura 28D), enquanto a paciente Y0012T001 apresentou mais de dez tumores primários.

6.2 IDADE DO DIAGNÓSTICO E RISCO DE CÂNCER

Na nossa coorte com 247 pacientes brasileiros portadores da Síndrome de Li-Fraumeni 193 pacientes eram portadores da mutação c.1010G>A; p.R337H. Deste total de 193 portadores da mutação p.R337H, 101 pacientes apresentaram câncer (52.3%) e 23,8% (n=24) dos pacientes com câncer tiveram dois ou mais tumores ao longo da vida. A idade média de diagnóstico do primeiro câncer neste grupo foi de 30.8 anos, comparada a 28.9 anos nos portadores de outras mutações no gene *TP53*, p=0.604. Numa série de 415 portadores franceses da LFS, a maior coorte de Síndrome de Li Fraumeni publicada até o momento, foram observadas 133

mutações distintas no gene *TP53* e a idade do diagnóstico do primeiro câncer foi mais precoce nos portadores de mutação do tipo *missense*, seguida por mutações com perda de função e uma idade mais tardia do diagnóstico do primeiro câncer para rearranjos nos genes *TP53*. Nessa casuística não houve diferença entre a idade mediana do diagnóstico de tumor entre mutações ocorrendo dentro ou fora do domínio de ligação do DNA do gene *TP53* (BOUGEARD et al. 2015).

Normalmente, as mulheres portadoras de LFS apresentam o primeiro tumor mais jovem do que os homens (29 *versus* 40 anos), pelos dados do IARC (2016). Uma recente análise do NCI (*National Cancer Institute*) com 286 portadores encontrou uma mediana de idade para o primeiro câncer de 31 anos para as portadoras femininas e 46 anos para os portadores masculinos (MAI et al. 2016). No nosso estudo, nos portadores da mutação p.R337H, o primeiro tumor também ocorreu em idade mais precoce nas pacientes femininas (média de 34.7 anos *versus* 50.4 anos, $p < 0.001$). Analisando os portadores de mutações não-p.R337H, não houve diferença da idade do diagnóstico do primeiro câncer para ambos os sexos.

Com relação à penetrância dos dois grupos de pacientes portadores (Figura 19), observamos que até os 20 anos de idade, 40% dos portadores da mutação p.R337H já haviam apresentado o primeiro tumor, resultando numa penetrância maior que as demais mutações não-p.R337H (nesta faixa etária), provavelmente devido à alta incidência de carcinoma de adrenal nos portadores da mutação p.R337H. Após os 20 anos de idade, as curvas dos dois grupos se invertem e voltam a se aproximar por volta dos 70 anos.

Então, a idéia de penetrância menor para mutação p.R337H é relativa, na faixa etária dos 20-70 anos. No nosso estudo, a mediana de idade para desenvolvimento do primeiro câncer nos portadores da mutação p.R337H foi de 31 ± 22.7 anos e nos portadores de outras mutações não-R337H 26.5 ± 20.8 anos.

Em respeito ao número de tumores apresentados pelos portadores de mutação no gene *TP53* na nossa casuística, 30% dos pacientes com câncer desenvolveram um segundo tumor primário, 13.5% desenvolveram um terceiro tumor primário e 5.7% desenvolveram um quarto tumor primário. Isso é concordante com a literatura que mostra que 15-35% dos pacientes com LFS irão desenvolver múltiplos tumores ao longo da vida (SORRELL et al. 2013). Numa casuística holandesa de 24 famílias com mutações germinativas no *TP53*, havia 52 portadores com câncer e, destes portadores com câncer, 42.3% desenvolveram dois ou mais tumores primários (RUIJS et al. 2010).

O risco de tumores adicionais para pacientes com LFS é principalmente para tumores que compõem o espectro da síndrome, com maior risco observado para portadores que tiveram câncer infantil. A incidência de tumores metacrônicos nos portadores da Síndrome de Li-Fraumeni foi inicialmente descrita como 15% dos portadores com câncer desenvolvem um segundo câncer, 4% apresentam um terceiro câncer e 2% um quarto câncer (HISADA et al.1998).

6.3 ESPECTRO TUMORAL

Os tumores frequentemente encontrados em portadores da LFS incluem sarcomas ósseos e de partes moles, câncer de mama, tumores do sistema nervoso central, tumor do córtex da adrenal e leucemia (LI et al. 1988). Numa análise recente de dados do NCI de 403 tumores ocorridos em 193 portadores, câncer de mama foi o mais comum, seguido por SPM, tumor de SNC e osteosarcoma (MAI et al. 2016).

Em relação ao espectro dos tumores p.R337H na nossa população, câncer de mama e sarcoma de partes moles foram os tumores mais frequentes, seguidos de carcinoma adrenocortical, perfazendo 70.5% dos tumores apresentados nesta população. Nos portadores de outras mutações no gene *TP53*, câncer de mama, sarcoma de partes moles, tumor de sistema nervoso central e sarcoma ósseo correspondem a 69.3% de todos os tumores observados, muito semelhante aos dados do banco do IARC, onde os tumores mais frequentes nos portadores de LFS são: câncer de mama, sarcoma de partes moles, tumor de SNC, sarcoma ósseo e carcinoma adrenocortical, nessa ordem (OLIVIER et al. 2003).

Previamente, GONZALEZ et al. (2009) reportaram resultados da coorte de 91 portadores da LFS e mostraram câncer de mama como tumor mais comum (31.2%), seguido de sarcoma (27%), carcinoma adrenocortical (9.9%) e tumor de Sistema Nervoso Central (5.7%).

RUIJS et al. (2010) reportaram numa série de portadores LFS, a idade média de desenvolvimento de câncer foi 34.2 anos e 31% dos

pacientes apresentaram câncer não pertencentes ao espectro LFS. OS tumores mais frequentes foram câncer de mama (27%), sarcoma de partes moles (17%) e tumor de SNC (16%).

Estudo asiático que avaliou características clínicas de pacientes com LFS na Coreia, onde poucos casos da síndrome tem sido relatados. Foram realizados testes genéticos em 89 indivíduos e foram encontradas nove mutações diferentes em quatorze pacientes. A Idade mediana do primeiro tumor foi 25 anos e 71% dos pacientes tiveram múltiplos tumores primários: câncer mama, osteossarcoma, tumor de SNC, leucemia, estômago, tireoide, pulmão, pele, bexiga, nasofaringe e carcinoma adrenocortical, nesta ordem de frequência (PARK et al. 2016).

Recentemente, na série francesa de 415 portadores da LFS publicada por BOUGEARD et al. (2015), 332 portadores apresentaram câncer, sendo os seguintes tumores mais frequentes: câncer de mama (31.1%), sarcoma de partes moles (18.8%), osteossarcoma (9.6%), tumor de SNC (7.7%) e carcinoma adrenocortical (7.7%), muito semelhante ao espectro tumoral observado por GONZALEZ et al. (2009). Suportando esses resultados da literatura, os dois tumores mais frequentes observados na nossa população foram também câncer de mama e sarcoma de partes moles, tanto na população total quanto nos dois grupos de portadores (p.R337H *versus* outras mutações). No entanto, quando olhamos para os portadores da mutação p.R337H o carcinoma de adrenal foi o terceiro tumor mais frequente (21.5% dos tumores), seguido de carcinoma de tireoide (6.8%), carcinoma de pulmão (4.9%) e carcinoma renal (4.3%), sendo estes três

últimos muito pouco prevalentes na série de BOUGEARD et al. (2015): carcinoma de tireoide (2%), carcinoma de pulmão (3.2%) e carcinoma renal (0.5%). No nosso grupo de pacientes portadores de mutações germinativas no gene *TP53* não-p.R337H, não foi observado nenhum carcinoma de células renais, e o carcinoma de tireoide totalizou apenas 1.3% dos tumores, assim como carcinoma de pulmão (1.3%).

Outro achado relevante na nossa coorte de 247 portadores de mutação germinativa no gene *TP53* foi que o carcinoma colorretal foi observado em quatro pacientes de 140 portadores sintomáticos (2.8%). Em todos esses casos, o carcinoma colorretal foi o primeiro tumor apresentado pelos pacientes e todas eram pacientes femininas, com uma média de idade de 38.7 anos ao diagnóstico (Tabela 10). Considerando os 54 portadores de mutações germinativas no gene *TP53* não-p.R337H, o câncer colorretal ocorreu em 7.4% desses portadores. Essa incidência é bem maior do que a existente na literatura. Um estudo do Registro Familiar de Câncer de Cólon publicado em 2015 com pacientes provenientes dos Estados Unidos, Canadá, Austrália e Nova Zelândia identificou mutação germinativa no gene *TP53* em 1.3% dos indivíduos com câncer colorretal em idade igual ou menor que 40 anos (seis portadores em 457 pacientes testados (YURGELUN et al. 2015)). Como nenhum caso foi visto em portadores da mutação fundadora p.R337H na nossa casuística, questiona-se o real papel de manter a colonoscopia tão frequente no protocolo de rastreamento dos portadores da mutação p.R337H (Quadro 4 e Quadro 5), devendo ser feita exceção quando houver tumor colorretal na família.

6.3.1 Câncer de Mama

O câncer de mama é o tumor mais frequente nos portadores da LFS e isso foi confirmado no nosso levantamento nas duas populações: portadores de mutação p.R337H e portadores de demais mutações no gene *TP53*. Os nossos dados também confirmam esses achados da literatura, mostrando um risco relativo de câncer de 0.554 [0,38-0,808, p=0.002] para os portadores masculinos, em decorrência do risco alto de câncer de mama nas portadoras femininas. No grupo de portadores da mutação p.R337H, o sexo masculino teve risco relativo de 0.457 [95% IC: 0,293;0,713] para aparecimento do primeiro câncer (p=0.001), ainda menor do que quando olhamos a população total do estudo.

Com relação às características anátomo-patológicas dos tumores de mama nos portadores de LFS, estudos recentes sugerem que os cânceres de mama nas portadoras de LFS são receptores hormonais positivos e HER2 positivo (luminal B), na grande maioria dos casos. Em algumas séries, 67% dos tumores associados a mutação germinativa no *TP53* hiperexpressam HER2 (MELHEM-BERTRANDT et al. 2012). Na nossa população apenas nas pacientes com câncer de mama portadoras de outras mutações no gene *TP53*, os tumores eram hiperexpressores de HER2 numa proporção maior que nos tumores esporádicos. No nosso estudo, entre as pacientes portadoras da mutação p.R337H, a idade média ao diagnóstico de câncer de mama foi 42.8 anos, sendo 65.7% dos tumores carcinomas invasivos. Desses carcinomas invasivos, 62% dos carcinomas invasivos de mama eram do subtipo molecular luminal (RE e/ou RP positivos e HER2

negativo), 19% eram luminal B HER2 positivo (RE e/ou RP positivos e HER2 positivo) e 19% eram triplo negativo (RE, RP e HER2 negativos), muito semelhante ao padrão que observamos nos tumores esporádicos. Os carcinomas de mama não-associados a síndromes de predisposição hereditária ao câncer são carcinoma ductal *in situ* em 15-30% e, em relação aos subtipos moleculares dos carcinomas invasivos, 15% são triplo negativo, 65% são receptores hormonais positivos e 20% hiperexpressam a proteína HER2.

No grupo de pacientes portadoras de outras mutações no gene *TP53*, a idade média ao diagnóstico do câncer de mama foi de 37 anos e mediana de 36 anos. De todos os casos, 69.2% eram carcinomas invasivos e 62.5% apresentavam hiperexpressão de HER2, uma expressão surpreendentemente mais alta do que a observada nos carcinomas de mama esporádicos. Esses achados vão de encontro aos dados já publicados por FITARELLI-KIEHL et al. (2015), que mostrou numa coorte de pacientes com câncer de mama de portadoras de mutações no gene *TP53*, uma idade média de diagnóstico de 42 anos e hiperexpressão de HER2 em 22.7% dos tumores, em 66 pacientes portadoras da mutação p.R337H; enquanto nas 12 portadoras de outras mutações gene *TP53*, a idade média do diagnóstico foi 30 anos e 75% dos tumores tinham hiperexpressão do HER2.

Na base dados do IARC, nas famílias com LFS clássica, a idade média de diagnóstico de câncer de mama foi 34.6 anos, significativamente menor que nas famílias sem mutação detectada (42 anos). Assim, na nossa

coorte, a idade média do diagnóstico de câncer de mama foi maior do que na base de dados do IARC (OLIVIER et al. 2003).

Os tumores filodes de mama correspondem a menos de 1% dos tumores de mama na população geral. No entanto há relatos da associação de mutações germinativas no gene *TP53* com uma frequência maior de tumores filodes da mama benigno e maligno (BIRCH et al. 2001; PROCHAZKOVA et al. 2008). Numa série brasileira de 148 tumores filodes, foi encontrada mutação p.R337H em 5.4% dos tumores e, considerando que essa mutação não tem sido descrita como somática, esses achados devem refletir a presença de mutações germinativas nestas pacientes (GIACOMAZZI et al. 2013). Na nossa série de 247 portadores de mutações germinativas no gene *TP53*, foram observados cinco tumores filodes de mama: um tumor filodes benigno (aos 29 anos de idade) e um tumor filodes maligno (aos 45 anos de idade) em portadores da mutação p.R337H e dois tumores filodes benignos (aos 21 e aos 36 anos de idade) e um tumor filodes maligno nas portadoras de outras mutações no gene *TP53* (aos 15 anos de idade).

6.3.2 Sarcomas

Na nossa casuística os sarcomas de partes moles representam 23% dos tumores em portadores da mutação p.R337H e 24% dos tumores nos portadores das outras mutações no gene *TP53*, condizente com os dados do IARC, onde os sarcomas representam 25% dos tumores apresentados pelos portadores de LFS, e 37% dos tumores em portadores abaixo dos 20 anos

(OGNJANOVIC et al. 2012). Na nossa população também observamos variações genótipo-fenótipo em relação aos sarcomas de partes moles. Em portadores da mutação p.R337H, as histologias mais frequentes foram leiomiossarcoma (54.3%), seguida de sarcoma pleomórfico (34.3%), condizentes com os dados dos sarcomas esporádicos na população geral (dados da SEER). Enquanto nos portadores de outras mutações no gene *TP53* com sarcoma, o tipo histológico rabdomyossarcoma (33.3%) foi tão frequente quanto leiomiossarcoma (33.3%).

Assim, como na nossa casuística, no banco de dados do IARC (OGNJANOVIC et al. 2012), GIST (tumor do estroma gastrointestinal, considerado o tipo de sarcoma esporádico mais comum na população caucasiana mundial), sarcoma de Ewing e angiossarcoma não estavam entre os sarcomas detectados nos portadores de mutação germinativa no gene *TP53*. Nesta análise do IARC, os pacientes que apresentaram rabdomyossarcoma e osteossarcoma tinham mais mutações *missense* no domínio de ligação do DNA.

Observando as figuras 17 e 18, podemos verificar que os SPM nos portadores da mutação p.R337H apresentam dois picos de incidência: dos 10 aos 20 anos e após os 50 anos de idade. Enquanto nos portadores de mutações não-R337H, os SPM ocorrem até os 35 anos de idade. Dados do IARC mostram que sarcomas de partes moles ocorrem mais frequentemente na infância (0-10 anos), enquanto os sarcomas ósseos são mais prevalentes em adolescentes (11-20 anos). Nos portadores de mutações p.R337H na nossa população, os sarcomas ósseos foram raros, embora seja um dos

tumores do espectro da LFS.

As mutações que são mais associadas com tipos de sarcoma de aparecimento tardio (leiomiossarcoma, lipossarcoma e sarcoma não-classificável) são mutações que levam à ausência de expressão da proteína p53 *wild-type*, muito mais que mutações que estabilizam a p53 e levam a acúmulo de p53 mutante, ocorrendo no domínio de ligação do DNA. Nossos dados vão de encontro a esses achados, uma vez que leiomiossarcoma e lipossarcoma foram sarcomas de partes moles mais frequentes nos portadores da mutação p.R337H, uma mutação fora do domínio de ligação do DNA, ocorrendo em idades mais tardias; enquanto rhabdomyosarcoma foi mais frequente em mutações no domínio de ligação do DNA.

No banco de dados do IARC, 67% dos sarcomas ocorreram em pacientes abaixo dos 20 anos de idade, comparado a 11.9% dos sarcomas documentados no SEER. Tanto nos portadores de LFS quanto no banco de dados de tumores esporádicos do SEER, leiomiossarcoma e lipossarcoma foram diagnosticados apenas em adultos, entretanto nos portadores de LFS do banco de dados do IARC, esses subtipos histológicos representam apenas 12.3% dos sarcomas. Na nossa coorte, esses são os dois subtipos mais frequentes nos portadores da mutação p.R337H, reforçando a idéia de que os tumores apresentados nesta população têm características muito semelhantes aos tumores esporádicos da população geral.

6.3.3 Carcinoma de Tireoide

O carcinoma papilífero de tireoide foi muito frequente nos portadores da mutação p.R337H, correspondendo a 6.8% de todos os tumores apresentados nessa população. A literatura é muito escassa sobre a ocorrência de carcinoma de tireoide nos portadores de LFS. Num estudo que utilizou protocolo de rastreamento com PET-CT em portadores de LFS, foram diagnosticados dois carcinomas papilíferos de tireoide em 15 portadores assintomáticos (MASCIARI et al. 2008). Há um relato recente na literatura de um paciente espanhol portador de mutação germinativa no *TP53* que apresentou carcinoma papilífero de tireoide aos 36 anos (PEÑA ROS et al. 2016).

Apenas 1 a 2% dos tumores em LFS são leucemias linfoblástica aguda e síndromes mielodisplásicas. Isso também observamos na nossa população, onde leucemias corresponderam a 0.6% dos tumores nos portadores da mutação p.R337H e 1.3% dos tumores nos portadores de outras mutações no gene *TP53* (OLIVIER et al. 2003). Confirmando a associação da mutação p.R337H com carcinoma de plexo coróide, na nossa casuística foram observados cinco casos de carcinoma de plexo coróide (quatro em portadores da mutação p.R337H). Em resumo, nos portadores da mutação p.R337H, 57% dos tumores de SNC eram carcinoma de plexo coróide, enquanto 12.5% dos tumores de SNC eram carcinoma de plexo coróide nos portadores de outras mutações.

No nosso estudo não foi observado no grupo de pacientes com mutações não-p.R337H nenhum caso de câncer de próstata e nenhum

carcinoma de células renais. Neste grupo também foi rara a ocorrência de carcinoma adrenocortical. Nos portadores da mutação p.R337H não foi observado melanoma nem carcinoma colorretal entre os tumores apresentados, e foi pouco frequente a ocorrência de sarcomas ósseos.

Esses achados mostram que o espectro tumoral da LFS associada à mutação fundadora p.R337H parece ser distinto da LFS observada nos portadores das mutações em outras regiões do gene *TP53*, levantando a questão de que poderíamos estar diante de uma outra síndrome.

7 CONCLUSÕES

- Este é o primeiro estudo que descreveu o espectro tumoral da LFS numa grande coorte de portadores brasileiros da mutação fundadora p.R337H no gene *TP53*
- Esse estudo reforça a importância da correlação genótipo-fenótipo nos portadores da Síndrome de Li-Fraumeni, revelando um espectro tumoral dos portadores da mutação p.R337H distinto do espectro tumoral dos portadores de outras mutações no gene *TP53*
- Nossos dados revelam uma alta prevalência de carcinoma adrenocortical, carcinoma papilífero de tireoide, carcinoma renal e adenocarcinoma de pulmão nos portadores da mutação p.R337H
- O câncer de mama nos portadores da mutação fundadora p.R337H tem características anátomo-patológicas distintas do câncer de mama associado a outras mutações no gene *TP53* (semelhante ao câncer de mama esporádico com frequente expressão de receptores hormonais e expressão de HER2 em 19%)
- Embora o sarcoma de partes moles seja o segundo tumor mais frequente em todas as séries e na nossa população também, nos portadores p.R337H os tipos histológicos dos sarcomas são distintos dos demais portadores (leiomiossarcoma *versus* rabiomiossarcoma)
- Carcinoma de plexo coróide é mais frequentes nos portadores da mutação fundadora p.R337H
- A idade de diagnóstico do primeiro câncer não foi diferente nos dois grupos de portadores

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Achatz MI, Olivier M, Le Calvez F, et al. The TP53 mutation, R337H, is associated with Li-Fraumeni and Li-Fraumeni-like syndromes in Brazilian families. **Cancer Lett** 2007; 245:96-102.

Achatz MI. **Modificadores de penetrância de mutações germinativas no gene TP53 em famílias brasileiras com diagnóstico clínico da síndrome de Li-Fraumeni e Li-Fraumeni like: impacto dos polimorfismos intragênicos do TP53 e de genes que regulam a atividade da p53**. São Paulo; 2008. [Tese de Doutorado-Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo].

Achatz MI, Hainaut P, Ashton-Prolla P. Highly prevalent TP53 mutation predisposing to many cancers in the Brazilian population: a case for newborn screening? **Lancet Oncol** 2009; 10:920-5.

Andrade KC, Santiago KM, Fortes FP, et al. Early-onset breast cancer patients in the South and Southeast of Brazil should be tested for the TP53 p.R337H mutation. **Genet Mol Biol** 2016; 39:199-202.

Ariffin H, Hainaut P, Puzio-Kuter A, et al. Whole-genome sequencing analysis of phenotypic heterogeneity and anticipation in Li-Fraumeni cancer predisposition syndrome. **Proc Natl Acad Sci USA** 2014; 111:15497-501.

Ariffin H, Chan AS, Oh L, et al. Frequent occurrence of gastric cancer in Asian kindreds with Li-Fraumeni syndrome. **Clin Genet** 2015; 88:450-5.

Assumpção JG, Seidinger AL, Mastellaro MJ, et al. Association of the germline TP53 R337H mutation with breast cancer in southern Brazil. **BMC Cancer** 2008; 8:357.

Ballinger ML, Mitchell G, Thomas DM. Surveillance recommendations for patients with germline TP53 mutations. **Curr Opin Oncol** 2015; 27:332-7.

Barber M, Murrell A, Ito Y, et al. Mechanisms and sequelae of E-cadherin silencing in hereditary diffuse gastric cancer. **J Pathol** 2008; 216:295-306.

Barbosa OV, Reiriz AB, Boff RA, et al. Angiosarcoma in previously irradiated breast in patient with Li-Fraumeni syndrome. A case report. **Sao Paulo Med J** 2015; 133:151-3.

Bell DW, Varley JM, Szydlo TE, et al. Heterozygous germ line hCHK2 mutations in Li-Fraumeni syndrome. **Science** 1999; 286:2528-31.

Bemis LT, Robinson WA, McFarlane R, et al. EGFR-mutant lung adenocarcinoma in a patient with Li-Fraumeni syndrome. **Lancet Oncol** 2007; 8:559-60.

Birch JM, Hartley AL, Blair V, et al. Cancer in the families of children with soft tissue sarcoma. **Cancer** 1990; 66:2239-48.

Birch JM. Germline mutations in the p53 tumour suppressor gene: scientific, clinical and ethical challenges. **Br J Cancer** 1992; 66:424-6.

Birch JM, Hartley AL, Tricker KJ, et al. Prevalence and diversity of constitutional mutations in the p53 gene among 21 Li-Fraumeni families. **Cancer Res** 1994; 54:1298-304.

Birch JM, Alston RD, McNally RJ, et al. Relative frequency and morphology of cancers in carriers of germline TP53 mutations. **Oncogene** 2001; 20:4621-8.

Bond GL, Hu W, Bond EE, et al. A single nucleotide polymorphism in the MDM2 promoter attenuates the p53 tumor suppressor pathway and accelerates tumor formation in humans. **Cell** 2004; 119:591-602.

Borg A, Sandberg T, Nilsson K, et al. High frequency of multiple melanomas and breast and pancreas carcinomas in CDKN2A mutation-positive melanoma families. **J Natl Cancer Inst** 2000; 92:1260-6.

Borresen AL, Andersen TI, Garber J, et al. Screening for germ line TP53 mutations in breast cancer patients. **Cancer Res** 1992; 52:3234-6.

Bougeard G, Baert-Desurmont S, Tournier I, et al. Impact of the MDM2 SNP309 and p53 Arg72Pro polymorphism on age of tumour onset in Li-Fraumeni syndrome. **J Med Genet** 2006; 43:531-3.

Bougeard G, Sesboüé R, Baert-Desurmont S, et al. French LFS working group. Molecular basis of the Li-Fraumeni syndrome: an update from the French LFS families. **J Med Genet** 2008; 45: 535-8.

Bougeard G, Renaux-Petel M, Flaman JM, et al. Revisiting Li-Fraumeni Syndrome From TP53 Mutation Carriers. **J Clin Oncol** 2015; 33:2345-52.

Brown LT, Sexsmith E, Malkin D. Identification of a novel PTEN intronic deletion in Li-Fraumeni syndrome and its effect on RNA processing. **Cancer Genet Cytogenet** 2000; 123:65-8.

Callender GG, Rich TA, Perrier ND. Multiple endocrine neoplasia syndromes. **Surg Clin North Am** 2008; 88:863-95.

Caminha I. **Prevalência da mutação germinativa da mutação TP53 p.R337H na região metropolitana de Campinas e cidades circunvizinhas.** São Paulo; 2015. [Tese de Doutorado-Universidade de Campinas].

Carraro DM, Koike Folgueira MA, Garcia Lisboa BC, et al. Comprehensive analysis of BRCA1, BRCA2 and TP53 germline mutation and tumor characterization: a portrait of early-onset breast cancer in Brazil. **PLoS One** 2013; 8:e57581.

Chompret A, Brugières L, Ronsin M, et al. P53 germline mutations in childhood cancers and cancer risk for carrier individuals. **Br J Cancer** 2000; 82:1932-7.

Chompret A, Abel A, Stoppa-Lyonnet D, et al. Sensitivity and predictive value of criteria for p53 germline mutation screening. **J Med Genet** 2001; 38:43-7.

Chompret A. The Li-Fraumeni syndrome. **Biochimie** 2002; 84:75-82.

Choong SS, Latiff ZA, Mohamed M, et al. Malaysian Society of Paediatric Haematology-Oncology. Childhood adrenocortical carcinoma as a sentinel cancer for detecting families with germline TP53 mutations. **Clin Genet** 2012; 82:564-8.

Collins LC, Marotti JD, Gelber S, et al. Pathologic features and molecular phenotype by patient age in a large cohort of young women with breast cancer. **Breast Cancer Res Treat** 2012; 131:1061-6.

Cury NM, Ferraz VE, Silva WA Jr. TP53 p.R337H prevalence in a series of Brazilian hereditary breast cancer families. **Hered Cancer Clin Pract** 2014; 12:8.

Custodio G, Taques GR, Figueiredo BC, et al. Increased incidence of choroid plexus carcinoma due to the germline TP53 R337H mutation in southern Brazil. **PLoS One** 2011; 6:e18015.

Custódio G, Parise GA, Kiesel Filho N, et al. Impact of neonatal screening and surveillance for the TP53 R337H mutation on early detection of childhood adrenocortical tumors. **J Clin Oncol** 2013; 31:2619-26.

De la Chapelle A. The incidence of Lynch syndrome. **Fam Cancer** 2005; 4:233-7.

Di Giammarino EL, Lee AS, Cadwell C, et al. A novel mechanism of tumorigenesis involving pH-dependent destabilization of a mutant p53 tetramer. **Nat Struct Biol** 2002; 9:12-6.

Diller L, Sexsmith E, Gottlieb A, et al. Germline p53 mutations are frequently detected in young children with rhabdomyosarcoma. **J Clin Invest** 1995; 95:1606-11.

Donehower LA, Harvey M, Slagle BL, et al. Mice deficient for p53 are developmentally normal but susceptible to spontaneous tumours. **Nature** 1992; 356:215-21.

Eeles RA. Germline mutations in the TP53 gene. **Cancer Surv** 1995; 25:101-24.

Evans DG, Sainio M, Baser ME. Neurofibromatosis type 2. **J Med Genet** 2000; 37:897-904.

Fang S, Krahe R, Bachinski LL, et al. Sex-specific effect of the TP53 PIN3 polymorphism on cancer risk in a cohort study of TP53 germline mutation carriers. **Hum Genet** 2011; 130:789-94.

Felix CA, Slavc I, Dunn M, et al. p53 gene mutations in pediatric brain tumors. **Med Pediatr Oncol** 1995; 25:431-6.

Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, et al. **GLOBOCAN 2012 v1.0**, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2013. <<http://globocan.iarc.fr>>. [2016 Apr 29].

Ferrarini A, Auteri-Kaczmarek A, Pica A, et al. Early occurrence of lung adenocarcinoma and breast cancer after radiotherapy of a chest wall sarcoma in a patient with a de novo germline mutation in TP53. **Fam Cancer** 2011; 10:187-92.

Figueiredo BC, Sandrini R, Zambetti GP, et al. Penetrance of adrenocortical tumours associated with the germline TP53 R337H mutation. **J Med Genet** 2006; 43:91-6.

Fitarelli-Kiehl M, Giacomazzi J, Santos-Silva P, et al. The breast cancer immunophenotype of TP53-p.R337H carriers is different from that observed among other pathogenic TP53 mutation carriers. **Fam Cancer** 2015; 14:333-6.

Fitarelli-Kiehl M, Macedo GS, Schlatter RP, et al. Comparison of multiple genotyping methods for the identification of the cancer predisposing founder mutation p.R337H in TP53. **Genet Mol Biol** 2016; 39:203-9.

Frebourg T, Kassel J, Lam KT, et al. Germ-line mutations of the p53 tumor suppressor gene in patients with high risk for cancer inactivate the p53 protein. **Proc Natl Acad Sci USA** 1992; 89:6413-7.

Frebourg T, Barbier N, Yan YX, et al. Germ-line p53 mutations in 15 families with Li-Fraumeni syndrome. **Am J Hum Genet** 1995; 56:608-15.

Frebourg T, Abel A, Bonaiti-Pellie C, et al. [Li-Fraumeni syndrome: update, new data and guidelines for clinical management]. **Bull Cancer** 2001; 88:581-7.

Friedl W, Aretz S. Familial adenomatous polyposis: experience from a study of 1164 unrelated german polyposis patients. **Hered Cancer Clin Pract** 2005; 3:95-114.

Garber JE, Goldstein AM, Kantor AF, et al. Follow-up study of twenty-four families with Li-Fraumeni syndrome. **Cancer Res** 1991; 51:6094-7.

Garritano S, Gemignani F, Palmero EI, 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. **Hum Mutat** 2010; 31:143-50.

Giacomazzi J, Selistre S, Duarte J, et al. TP53 p.R337H is a conditional cancer-predisposing mutation: further evidence from a homozygous patient. **BMC Cancer** 2013a; 13:187.

Giacomazzi J, Koehler-Santos P, Palmero EI, et al. A TP53 founder mutation, p.R337H, is associated with phyllodes breast tumors in Brazil. **Virchows Arch** 2013b; 463:17-22.

Giacomazzi J, Selistre SG, Rossi C, et al. Li-Fraumeni and Li-Fraumeni-like syndrome among children diagnosed with pediatric cancer in Southern Brazil. **Cancer** 2013c; 119:4341-9.

Giacomazzi J, Graudenz MS, Osorio CA, et al. Prevalence of the TP53 p.R337H mutation in breast cancer patients in Brazil. **PLoS One** 2014a; 9:e99893.

Giacomazzi J, Correia RL, Palmero EI, et al. The Brazilian founder mutation TP53 p.R337H is uncommon in Portuguese women diagnosed with breast cancer. **Breast J** 2014b; 20:534-6.

Giacomazzi CR, Giacomazzi J, Netto CB, et al. Pediatric cancer and Li-Fraumeni/Li-Fraumeni-like syndromes: a review for the pediatrician. **Rev Assoc Med Bras** 2015; 61:282-9.

Gomes MC, Kotsopoulos J, de Almeida GL, et al. The R337H mutation in TP53 and breast cancer in Brazil. **Hered Cancer Clin Pract** 2012; 10:3.

Gonzalez-Angulo AM, Broglio K, Kau SW, et al. Women age < or = 35 years with primary breast carcinoma: disease features at presentation. **Cancer** 2005; 103:2466-72.

Gonzalez KD, Noltner KA, Buzin CH, et al. Beyond Li Fraumeni Syndrome: clinical characteristics of families with p53 germline mutations. **J Clin Oncol** 2009a; 27:1250-6.

Gonzalez KD, Buzin CH, Noltner KA, et al. High frequency of de novo mutations in Li-Fraumeni syndrome. **J Med Genet** 2009a; 46:689-93.

Gozali AE, Britt B, Shane L, et al. Choroid plexus tumors; management, outcome, and association with the Li-Fraumeni syndrome: the Children's Hospital Los Angeles (CHLA) experience, 1991-2010. **Pediatr Blood Cancer** 2012; 58:905-9.

Guidi M, Giunti L, Lucchesi M, et al. Brain tumors in Li-Fraumeni syndrome: a commentary and a case of a gliosarcoma patient. **Future Oncol** 2016 Aug 15. [Epub ahead of print]

Guimaraes DP, Hainaut P. TP53: a key gene in human cancer. **Biochimie** 2002; 84:83-93.

Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. **Ann Oncol** 2013; 24:2206-23.

Hafsi H, Hainaut P. Redox control and interplay between p53 isoforms: roles in the regulation of basal p53 levels, cell fate, and senescence. **Antioxid Redox Signal** 2011; 15:1655-67.

Hainaut P, Wiman KG. 30 years and a long way into p53 research. **Lancet Oncol** 2009; 10:913-9.

Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. **Cell** 2000; 100:57-70.

Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. **Cell** 2011; 144:646-74.

Hemminki A, Markie D, Tomlinson I, et al. A serine/threonine kinase gene defective in Peutz-Jeghers syndrome. **Nature** 1998; 391:184-7.

Henry E, Villalobos V, Million L, et al. Chest wall leiomyosarcoma after breast-conservative therapy for early-stage breast cancer in a young woman with Li-Fraumeni syndrome. **J Natl Compr Canc Netw** 2012; 10:939-42.

Herrmann LJ, Heinze B, Fassnacht M, et al. TP53 germline mutations in adult patients with adrenocortical carcinoma. **J Clin Endocrinol Metab** 2012; 97:E476-85.

Hettmer S, Archer NM, Somers GR, et al. Anaplastic rhabdomyosarcoma in TP53 germline mutation carriers. **Cancer** 2014; 120:1068-75.

Heymann S, Delaloge S, Rahal A, et al. Radio-induced malignancies after breast cancer postoperative radiotherapy in patients with Li-Fraumeni syndrome. **Radiat Oncol** 2010; 5:104.

Hisada M, Garber JE, Fung CY, Fraumeni JF Jr, Li FP. Multiple primary cancers in families with Li-Fraumeni syndrome. **J Natl Cancer Inst.** 1998; 90:606-11.

Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, Harris CC. p53 mutations in human cancers. **Science** 1991; 253:49-53.

Hwang SJ, Lozano G, Amos CI, Strong LC. Germline p53 Mutations in a Cohort with Childhood Sarcoma: Sex Differences in Cancer Risk. **Am J Hum Genet** 2003; 72:975-83.

[IARC] International Agency for Research on Cancer. **TP53 Database**. Available from: <URL:<http://p53.iarc.fr/>> [2016 jun 20].

Kaelin WG Jr. Molecular basis of the VHL hereditary cancer syndrome. **Nat Rev Cancer** 2002; 2:673-82.

Kamihara J, Rana HQ, Garber JE. Germline TP53 mutations and the changing landscape of Li-Fraumeni syndrome. **Hum Mutat** 2014; 35: 654-62.

Katballe N, Christensen M, Wikman FP, et al. Frequency of hereditary non-polyposis colorectal cancer in Danish colorectal cancer patients. **Gut** 2002; 50:43-51.

Kemp CJ, Wheldon T, Balmain A. p53-deficient mice are extremely susceptible to radiation-induced tumorigenesis. **Nat Genet** 1994; 8:66-9.

Knudson AG Jr. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. **Proc Natl Acad Sci USA** 1971; 68:820-3.

Kony SJ, de Vathaire F, Chompret A, et al. Radiation and genetic factors in the risk of second malignant neoplasms after a first cancer in childhood. **Lancet** 1997; 350:91-5.

Krutilkova V, Trkova M, Fleitz J, et al. Identification of five new families strengthens the link between childhood choroid plexus carcinoma and germline TP53 mutations. **Eur J Cancer** 2005; 41:1597-603.

Laloo F, Varley J, Ellis D, et al. Early onset breast cancer study group. prediction of pathogenic mutations in patients with early-onset breast cancer by family history. **Lancet** 2003; 361:1101-2.

Laloo F, Varley J, Moran A, et al. BRCA1, BRCA2 and TP53 mutations in very early-onset breast cancer with associated risks to relatives. **Eur J Cancer** 2006; 42:1143-50.

Lane DP. Cancer. p53, guardian of the genome. **Nature** 1992; 358:15-6.

Lane DP, Lain S. Therapeutic exploitation of the p53 pathway. **Trends Mol Med** 2002; 8(4 Suppl):S38-42.

Latronico AC, Chrousos GP. Adrenocortical tumors. **J Clin Endocrinol Metab** 1997; 82:1317-24.

Latronico AC, Pinto EM, Domenice S, et al. An inherited mutation outside the highly conserved DNA-binding domain of the p53 tumor suppressor protein in children and adults with sporadic adrenocortical tumors. **J Clin Endocrinol Metab** 2001; 86:4970-3.

Laycock-van Spyk S, Thomas N, Cooper DN, Upadhyaya M. Neurofibromatosis type 1-associated tumours: their somatic mutational spectrum and pathogenesis. **Hum Genomics** 2011; 5:623-90.

Lee D, Yoon SY, Looi L, et al. Comparable frequency of BRCA1, BRCA2 and TP53 germline mutations in a multi-ethnic Asian cohort suggests TP53 screening should be offered together with BRCA1/2 screening to early-onset breast cancer patients. **Breast Cancer Res** 2012; 14:R66.

Legal EF, Ascurra M, Custódio G, et al. Prevalence of an inherited cancer predisposition syndrome associated with the germ line TP53 R337H mutation in Paraguay. **Cancer Epidemiol** 2015; 39:166-9.

Levine AJ, Momand J, Finlay CA. The p53 tumour suppressor gene. **Nature** 1991; 351:453-6.

Li FP, Fraumeni JF Jr. Rhabdomyosarcoma in children: epidemiologic study and identification of a familial cancer syndrome. **J Natl Cancer Inst** 1969a; 43:1365-73.

Li FP, Fraumeni JF Jr. Soft-tissue sarcomas, breast cancer and other neoplasms: A familial syndrome? **Ann Intern Med** 1969b; 71:747-52.

Li FP, Cassady JR, Jaffe N. Risk of second tumors in survivors of childhood cancer. **Cancer** 1975; 35:1230-5.

Li FP. Second malignant tumors after cancer in childhood. **Cancer** 1977; 40(4 Suppl):1899-902.

Li FP, Fraumeni JF Jr. Prospective study of a family cancer syndrome. **JAMA** 1982; 247:2692-4.

Li FP, Fraumeni JF Jr, Mulvihill JJ, et al. A cancer family syndrome in twenty-four kindreds. **Cancer Res** 1988; 48:5358-62.

Li FP, Garber JE, Friend SH, et al. Recommendations on predictive testing for germ line p53 mutations among cancer-prone individuals. **J Natl Cancer Inst** 1992; 84:1156-60.

Li YJ, Sanson M, Hoang-Xuan K, et al. Incidence of germ-line p53 mutations in patients with gliomas. **Int J Cancer** 1995; 64:383-7

Limacher JM, Frebourg T, Natarajan-Ame S, Bergerat JP. Two metachronous tumors in the radiotherapy fields of a patient with Li-Fraumeni syndrome. **Int J Cancer** 2001; 96:238-42.

Lindor NM, Greene MH. The concise handbook of family cancer syndromes. Mayo Familial Cancer Program. **J Natl Cancer Inst** 1998; 90:1039-71.

Lindor NM, McMaster ML, Lindor CJ, Greene MH; National Cancer Institute, Division of Cancer Prevention, Community Oncology and Prevention Trials Research Group. Concise handbook of familial cancer susceptibility syndromes – second edition. **J Natl Cancer Inst Monogr** 2008; (38):1-93.

Lohmann DR, Brandt B, Höpping W, et al. The spectrum of RB1 germ-line mutations in hereditary retinoblastoma. **Am J Hum Genet** 1996; 58:940-9.

Lustbader ED, Williams WR, Bondy ML, Strom S, Strong IC. Segregation analysis of cancer in families of childhood soft-tissue-sarcoma patients. **Am J Hum Genet** 1992; 51:344-56.

Lynch HT, Guirgis HA. Childhood cancer and the SBLA syndrome. **Med Hypotheses** 1979; 5:15-22.

Mai PL, Malkin D, Garber JE, et al. Li-Fraumeni syndrome: report of a clinical research workshop and creation of a research consortium. **Cancer Genet** 2012; 205:479-87.

Mai PL, Best AF, Peters JA, et al. Risks of first and subsequent cancers among TP53 mutation carriers in the National Cancer Institute Li-Fraumeni syndrome cohort. **Cancer** 2016 Aug 6. [Epub ahead of print]

Malkin D, Li FP, Strong LC, Fraumeni JF, J et al. Germ line p53 mutations in a familial syndrome of breast cancer, sarcomas, and other neoplasms. **Science** 1990; 250:1233-8.

Malkin D, Jolly KW, Barbier N, et al. Germline mutations of the p53 tumor-suppressor gene in children and young adults with second malignant neoplasms. **N Engl J Med** 1992; 326:1309-15.

Malkin D. p53 and the Li-Fraumeni syndrome. **Biochim Biophys Acta** 1994; 1198:197-213.

Malkin D. Li-fraumeni syndrome. **Genes Cancer** 2011; 2:475-84.

Malkin D, Garber JE, Strong LC, Friend SH. CANCER. The cancer predisposition revolution. **Science** 2016; 352:1052-3.

Marcel V, Palmero EI, Falagan-Lotsch P, et al. TP53 PIN3 and MDM2 SNP309 polymorphisms as genetic modifiers in the Li-Fraumeni syndrome: impact on age at first diagnosis. **J Med Genet** 2009; 46:766-72.

Masciari S, Van den Abbeele AD, Diller LR, et al. F18-fluorodeoxyglucose-positron emission tomography/computed tomography screening in Li-Fraumeni syndrome. **JAMA** 2008; 299:1315-9.

Masciari S, Dewanwala A, Stoffel EM, et al. Gastric cancer in individuals with Li-Fraumeni syndrome. **Genet Med** 2011; 13:651-7.

Masciari S, Dillon DA, Rath M, et al. Breast cancer phenotype in women with TP53 germline mutations: a Li-Fraumeni syndrome consortium effort. **Breast Cancer Res Treat** 2012; 133:1125-30.

McCuaig JM, Armel SR, Novokmet A, et al. Routine TP53 testing for breast cancer under age 30: ready for prime time? **Fam Cancer** 2012; 11:607-13.

McIntyre JF, Smith-Sorensen B, Friend SH, et al. Germline mutations of the p53 tumor suppressor gene in children with osteosarcoma. **J Clin Oncol** 1994; 12:925-30.

Melhem-Bertrandt A, Bojadzieva J, Ready KJ, et al. Early onset HER2-positive breast cancer is associated with germline TP53 mutations. **Cancer** 2012; 118:908-13.

Michalarea V, Calcasola M, Cane P, et al. EGFR-mutated lung cancer in Li-Fraumeni syndrome. **Lung Cancer** 2014; 85:485-7.

Michalkiewicz E, Sandrini R, Figueiredo B, et al. Clinical and outcome characteristics of children with adrenocortical tumors: a report from the International Pediatric Adrenocortical Tumor Registry. **J Clin Oncol** 2004; 22:838-45.

Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer José de Alencar Gomes da Silva. **Estimativa/2016 incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA; 2016.

Morrow M, Burstein HJ; Harris JR. Malignant tumors of the Breast. In: DeVita Jr, TS Lawrence, SA Rosenberg, et al. editors. **Devita, Hellman and Rosenberg's Cancer: Principles and Practice of Oncology**. 10 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2011. p.7238-40.

Mouchawar J, Korch C, Byers T, et al. Population-based estimate of the contribution of TP53 mutations to subgroups of early-onset breast cancer: Australian Breast Cancer Family Study. **Cancer Res** 2010; 70:4795-800.

Nagy R, Sweet K, Eng C. Highly penetrant hereditary cancer syndromes. **Oncogene** 2004; 23:6445-70.

[NCCN] National Comprehensive Cancer Network. **Genetic/Familial high-risk assessment: breast and ovarian**. Version 2. 2016. Available from: <URL:http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/genetics_screening.pdf> [2016 jun 20].

Nelen MR, Kremer H, Konings IB, et al. Novel PTEN mutations in patients with Cowden disease: absence of clear genotype-phenotype correlations. **Eur J Hum Genet** 1999; 7:267-73.

Nichols KE, Malkin D, Garber JE, Fraumeni JF Jr, Li FP. Germ-line p53 mutations predispose to a wide spectrum of early-onset cancers. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev** 2001; 10:83-7.

Nielsen SM, Rhodes L, Blanco I, et al. Von Hippel-Lindau Disease: genetics and role of Genetic Counseling in a Multiple Neoplasia Syndrome. **J Clin Oncol** 2016; 34:2172-81.

Nogueira ST, Lima EN, Nóbrega AF, et al. (18)F-FDG PET-CT for surveillance of Brazilian patients with Li-Fraumeni Syndrome. **Front Oncol** 2015; 5:38.

Nutting C, Camplejohn RS, Gilchrist R, et al. A patient with 17 primary tumours and a germ line mutation in TP53: tumour induction by adjuvant therapy? **Clin Oncol (R Coll Radiol)** 2000; 12:300-4.

O'Daniel JM, Lee K. Whole-genome and whole-exome sequencing in hereditary cancer: impact on genetic testing and counseling. **Cancer J** 2012; 18:287-92.

Ognjanovic S, Olivier M, Bergemann T, Hainaut P. Sarcomas in TP53 germline mutation carriers: a review of the IARC TP53 database. **Cancer** 2012; 118:1387-96.

Olivier M, Goldgar DE, Sodha N, et al. Li-Fraumeni and related syndromes: correlation between tumor type, family structure, and TP53 genotype. **Cancer Res** 2003; 63:6643-50.

Olivier M, Hollstein M, Hainaut P. TP53 mutations in human cancers: origins, consequences, and clinical use. **Cold Spring Harb Perspect Biol** 2010; 2:a001008.

Palmero EI, Schüler-Faccini L, Caleffi M, et al. Detection of R337H, a germline TP53 mutation predisposing to multiple cancers, in asymptomatic women participating in a breast cancer screening program in Southern Brazil. **Cancer Lett** 2008; 261:21-5.

Palmero EI, Achatz MI, Ashton-Prolla P, et al. Tumor protein 53 mutations and inherited cancer: beyond Li-Fraumeni syndrome. **Curr Opin Oncol** 2010; 22:64-9.

Park KJ, Choi HJ, Suh SP, et al. Germline TP53 Mutation and Clinical Characteristics of Korean Patients With Li-Fraumeni Syndrome. **Ann Lab Med** 2016; 36:463-8.

Paskulin DD, Giacomazzi J, Achatz MI, 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. **PLoS One** 2015; 10:e0143262.

Peña Ros E, Candel Arenas MF, Albarracín Marín-Blázquez A. [Papillary thyroid carcinoma in Li-Fraumeni syndrome: Sporadic case or a rare association?]. **Med Clin (Barc)** 2016; 147:e19.

Pereira DP. **Avaliação da ressonância nuclear magnética rápida de corpo inteiro na detecção de tumores em pacientes portadores da Síndrome de Li-Fraumeni**. São Paulo; 2015. [Dissertação de Mestrado-Fundação Antônio Prudente].

Petitjean A, Mathe E, Kato S, 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 Mutat** 2007; 28:622-9.

Pianovski MA, Maluf EM, de Carvalho DS, et al. Mortality rate of adrenocortical tumors in children under 15 years of age in Curitiba, Brazil. **Pediatr Blood Cancer** 2006; 47:56-60.

Pinto C, Veiga I, Pinheiro M, et al TP53 germline mutations in Portugal and genetic modifiers of age at cancer onset. **Fam Cancer** 2009; 8:383-90.

Pinto EM, Billerbeck AE, Villares MC, et al. Founder effect for the highly prevalent R337H mutation of tumor suppressor p53 in Brazilian patients with adrenocortical tumors. **Arq Bras Endocrinol Metabol** 2004; 48:647-50.

Prochazkova K, Foretova L, Sedlacek Z. A rare tumor and an ethical dilemma in a family with a germline TP53 mutation. **Cancer Genet Cytogenet**. 2008; 180:65-9.

Ribeiro RC, Sandrini F, Figueiredo B, et al. An inherited p53 mutation that contributes in a tissue-specific manner to pediatric adrenal cortical carcinoma. **Proc Natl Acad Sci U S A** 2001; 98: 9330-5.

Ricordel C, Labalette-Tiercin M, Lespagnol A, et al. EGFR-mutant lung adenocarcinoma and Li-Fraumeni syndrome: report of two cases and review of the literature. **Lung Cancer** 2015; 87:80-4.

Robson ME, Bradbury AR, Arun B, et al. American Society of Clinical Oncology Policy Statement Update: Genetic and Genomic Testing for Cancer Susceptibility. **J Clin Oncol** 2015; 33: 3660-7.

Ruijs MW, Schmidt MK, Nevanlinna H, et al. The single-nucleotide polymorphism 309 in the MDM2 gene contributes to the Li-Fraumeni syndrome and related phenotypes. **Eur J Hum Genet** 2007; 15:110-4.

Ruijs MW, Verhoef S, Rookus MA, et al. TP53 germline mutation testing in 180 families suspected of Li-Fraumeni syndrome: mutation detection rate and relative frequency of cancers in different familial phenotypes. **J Med Genet** 2010; 47:421-8.

Salmon A, Amikam D, Sodha N, et al. Rapid development of post-radiotherapy sarcoma and breast cancer in a patient with a novel germline 'de-novo' TP53 mutation. **Clin Oncol** 2007; 19:490-3.

Sandrini R, Ribeiro RC, DeLacerda L. Childhood adrenocortical tumors. **J Clin Endocrinol Metab** 1997; 82:2027-31.

Schayek H, De Marco L, Starinsky-Elbaz S, et al. The rate of recurrent BRCA1, BRCA2, and TP53 mutations in the general population, and unselected ovarian cancer cases, in Belo Horizonte, Brazil. **Cancer Genet** 2016; 209:50-2.

Seidinger AL, Mastellaro MJ, Paschoal Fortes F, et al. Association of the highly prevalent TP53 R337H mutation with pediatric choroid plexus carcinoma and osteosarcoma in southeast Brazil. **Cancer** 2011; 117:2228-35.

Shlien A, Tabori U, Marshall CR, et al. Excessive genomic DNA copy number variation in the Li-Fraumeni cancer predisposition syndrome. **Proc Natl Acad Sci U S A** 2008; 105:11264-9.

Siegel R, Ma J, Zou Z, et al. Cancer statistics, 2014. **CA Cancer J Clin** 2014; 64:9-29.

Sorrell AD, Espenschied CR, Culver JO, Weitzel JN. Tumor protein p53 (TP53) testing and Li-Fraumeni syndrome : current status of clinical applications and future directions. **Mol Diagn Ther** 2013; 17:31-47

Srivastava S, Zou ZQ, Pirollo K, Blattner W, Chang EH. Germ-line transmission of a mutated p53 gene in a cancer-prone family with Li-Fraumeni syndrome. **Nature** 1990; 348:747-9.

Tabori U, Nanda S, Druker H, Lees J, Malkin D. Younger age of cancer initiation is associated with shorter telomere length in Li-Fraumeni syndrome. **Cancer Res** 2007; 67:1415-8.

Tabori U, Shlien A, Baskin B, et al. TP53 alterations determine clinical subgroups and survival of patients with choroid plexus tumors. **J Clin Oncol** 2010; 28:1995-2001.

Thomas DM, Savage SA, Bond GL. Hereditary and environmental epidemiology of sarcomas. **Clin Sarcoma Res** 2012; 2:13.

Tinat J, Bougeard G, Baert-Desurmont S, et al. 2009 version of the Chompret criteria for Li Fraumeni syndrome. **J Clin Oncol** 2009; 27:e108-9.

Trkova M, Hladikova M, Kasal P, Goetz P, Sedlacek Z. Is there anticipation in the age at onset of cancer in families with Li-Fraumeni syndrome? **J Hum Genet** 2002; 47:381-6.

Trkova M, Prochazkova K, Krutilkova V, Sumerauer D, Sedlacek Z. Telomere length in peripheral blood cells of germline TP53 mutation carriers is shorter than that of normal individuals of corresponding age. **Cancer** 2007; 110:694-702.

Turnbull C, Mirugaesu N, Eeles R. Radiotherapy and genetic predisposition to breast cancer. **Clin Oncol (R Coll Radiol)** 2006; 18:257-67.

Vahteristo P, Tamminen A, Karvinen P, et al. p53, CHK2, and CHK1 genes in Finnish families with Li-Fraumeni syndrome: further evidence of CHK2 in inherited cancer predisposition. **Cancer Res** 2001; 61:5718-22.

Varley JM, McGown G, Thorncroft M, et al. Germ-line mutations of TP53 in Li-Fraumeni families: an extended study of 39 families. **Cancer Res** 1997a; 57:3245-52.

Varley JM, Evans DG, Birch JM. Li-Fraumeni syndrome – a molecular and clinical review. **Br J Cancer** 1997b; 76:1-14.

Varley JM, McGown G, Thorncroft M, et al. Are there low-penetrance TP53 Alleles? evidence from childhood adrenocortical tumors. **Am J Hum Genet** 1999; 65:995-1006.

Varley JM. Germline TP53 mutations and Li-Fraumeni syndrome. **Hum Mutat** 2003a; 21:313-20.

Varley J. TP53, hChk2, and the Li-Fraumeni syndrome. **Methods Mol Biol** 2003b; 222:117-29.

Villani A, Tabori U, Schiffman J, et al. Biochemical and imaging surveillance in germline TP53 mutation carriers with Li-Fraumeni syndrome: a prospective observational study. **Lancet Oncol** 2011; 12:559-67.

Villani A, Shore A, Wasserman JD, et al. Biochemical and imaging surveillance in germline TP53 mutation carriers with Li-Fraumeni syndrome: 11 year follow-up of a prospective observational study. **Lancet Oncol** 2016; 17:1295-305.

Wagner J, Portwine C, Rabin K, Leclerc JM, Narod SA, Malkin D. High frequency of germline p53 mutations in childhood adrenocortical cancer. **J Natl Cancer Inst** 1994; 86:1707-10.

Welander J, Söderkvist P, Gimm O. Genetics and clinical characteristics of hereditary pheochromocytomas and paragangliomas. **Endocr Relat Cancer** 2011; 18:R253-76.

Whittemore AS, Gong G, John EM, et al. Prevalence of BRCA1 mutation carriers among U.S. non-Hispanic Whites. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev** 2004; 13:2078-83.

Willis A, Jung EJ, Wakefield T, Chen X. Mutant p53 exerts a dominant negative effect by preventing wild-type p53 from binding to the promoter of its target genes. **Oncogene** 2004; 23:2330-8.

Wilson JR, Bateman AC, Hanson H, et al. A novel HER2-positive breast cancer phenotype arising from germline TP53 mutations. **J Med Genet** 2010; 47:771-4.

Wong P, Verselis SJ, Garber JE, et al. Prevalence of early onset colorectal cancer in 397 patients with classic Li-Fraumeni syndrome. **Gastroenterology** 2006; 130:73-9.

Wu CC, Shete S, Amos CI, Strong LC. Joint effects of germ-line p53 mutation and sex on cancer risk in Li-Fraumeni syndrome. **Cancer Res** 2006; 66:8287-92.

Yamaguchi K, Urakami K, Nagashima T, et al. Prevalence of low-penetrant germline TP53 D49H mutation in Japanese cancer patients. **Biomed Res** 2016; 37:259-64.

Yurgelun MB, Masciari S, Joshi VA, et al. Germline TP53 Mutations in Patients With Early-Onset Colorectal Cancer in the Colon Cancer Family Registry. **JAMA Oncol** 2015; 1:214-21.

Anexo 1 – Carta de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa-CEP



**A.C. Camargo
Cancer Center**

**Comitê de Ética em
Pesquisa - CEP**

São Paulo, 04 de novembro de 2014.

A

Dra. Maria Isabel Waddington Achatz.

Aluna: Maria Nirvana da Cruz Formiga (Doutorado).

Ref.: Projeto de Pesquisa nº. 1965/14

“Caracterização clínica e histopatológica da Síndrome de Li-Fraumeni e Síndrome de Li-Fraumeni *Like* em pacientes brasileiros”.

Os membros do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Fundação Antonio Prudente – Hospital do Câncer - A.C. Camargo/SP, em sua última reunião de 07/10/2014, **aprovaram** a realização do projeto (datado de setembro de 2014) e tomaram conhecimento dos seguintes documentos:

- Folha de Rosto para Pesquisa Envolvendo Seres Humanos;
- Termo de Compromisso do Pesquisador com Resoluções do Conselho Nacional de Saúde;
- Termo de Dispensa do Consentimento Livre e Esclarecido;
- Declaração Sobre os Dados Coletados, Publicação dos Dados e Propriedade das Informações Geradas;
- Declaração de Ciência e Comprometimento do Departamento de Oncogenética;
- Declaração de Infraestrutura e Instalações do Departamento de Oncogenética;
- Cronograma do Estudo;
- Orçamento Financeiro Detalhado.

Informações a respeito do andamento do referido projeto deverão ser encaminhadas ao CEP dentro de 06 meses em relatório (modelo CEP).

Atenciosamente,


Dr. Jefferson Luiz Gross

1º Vice-Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa

1/1

Anexo 2 – Ficha de coleta de dados

Projeto: Caracterização clínica e histopatológica da Síndrome de *Li-Fraumeni* e Síndrome *Li-Fraumeni Like* em pacientes brasileiros

Nome:

Identificação : Família:

RGH:

Data de Nascimento:

Naturalidade:

Procedência

Cor:

Mutação *TP53* :

Técnica:

Data teste genético:

	Tumor 1	Tumor 2	Tumor3	Tumor4
Sítio do tumor				
Histologia Tipo histológico Grau IHQ				
Idade ao diagnóstico				
Estadiamento TNM				
Tratamento 1. cirurgia 2. RT 3. QT 4. cirurgia+ QT 5. RT+QT 6. Cirurgia+RT+QT 7. HT				
Recidiva (1) sim (2) Não				
Tempo até a recidiva (anos)				
Status último <i>follow up</i> (1) Óbito (2)Vivo				
Idade último <i>follow up</i>				

Anexo 3 - Certificado Congresso Sociedade Americana de Oncologia (ASCO 2015)



American Society of Clinical Oncology

2015 ASCO Annual Meeting

McCormick Place

Chicago, Illinois

May 29, 2015 - June 2, 2015

The American Society of Clinical Oncology certifies that

Maria Nirvana Formiga
attended the above live activity.*

A handwritten signature in black ink that reads "Jamie Von Roenn".

Jamie Von Roenn, MD
Senior Director
Education, Science, and Professional Development

*This document does not award any continuing education credit to the recipient nor is it intended to verify hours of participation in the above-mentioned activity.
For a more accurate representation of participation in this activity, please request a CME certificate or Certificate of Participation. Thank you.

Anexo 4 - Resumo aceito para publicação anais do Congresso Sociedade Americana de Oncologia (ASCO 2015)



Published on *Meeting Library* (<http://meetinglibrary.asco.org>)
[Home](#) > 151598-156

Molecular and clinical profile of Li-Fraumeni Syndrome in a Brazilian cohort.

Meeting:

2015 ASCO Annual Meeting

Category:

Cancer Prevention, Genetics, and Epidemiology

Subcategory:

Cancer Genetics

Session Type and Session Title:

This abstract will not be presented at the 2015 ASCO Annual Meeting but has been published in conjunction with the meeting.

Abstract Number:

e12533

Citation:

J Clin Oncol 33, 2015 (suppl; abstr e12533)

Author(s):

Maria Nirvana Cruz Formiga, Amanda Franca Nobrega, Karina Miranda Santiago, Maria Isabel Waddington Achatz; AC Camargo Cancer Center, São Paulo, Brazil; AC Camargo Cancer Center, Sao Paulo, Brazil

Background: Li-Fraumeni syndrome (LFS), an autosomal dominant highly penetrant cancer predisposition syndrome, is associated with germline mutations in *TP53* gene and characterized by a variety of early onset tumors. Core LFS tumors are soft-tissue and bone sarcomas (SBS), breast cancer (BC), adrenal cortical carcinoma (ACC) and brain tumors (BT). DNA-binding domain *TP53* mutation carriers have a 90% lifetime risk of developing a cancer. In Brazil, a variant form of LFS is exceedingly frequent due to a founder *TP53* mutation, p.R337H, detected in 0.3% of South and Southeastern Brazilian population. This mutation occurs outside the DNA-binding domain (exon 10), in *TP53* oligomerization domain. *TP53* p.R337H carriers have lower cumulative lifetime cancer risk, with a number of mutation carriers being cancer-free. **Methods:** From a cohort of 172 Brazilian germline *TP53* mutation carrier families, pedigrees, medical records, histopathological reports and death certificates were retrospectively accessed. Clinical features of *TP53* carriers were based on types of cancer, number of tumors and age of cancer diagnosis. The cancer pattern in p.R337H carriers and other mutation carriers was compared. **Results:** *TP53* p.R337H was present in 76.7% of carriers. From all *TP53* mutation carriers, 57.5% have developed at least one cancer (53.8% for p.R337H, 70% for other mutations), 36% of all cancer patients had two or more tumors. Mean age at first cancer diagnosis was 30.3 years old (32.7yo for p.R337H carriers, 24.2yo for other mutation carriers). In p.R337H patients, BC, SBS, ACC and BT account for 70.2% of all tumors. In this subgroup, we identified high occurrence of tumors that are not described as part of LFS spectrum, including thyroid, lung and kidney cancers. In other mutations carriers, a similar profile was found, including SBS, BC, BT and ACC, diagnosed in 72.4% of the tumors. **Conclusions:** Brazilian p.R337H founder mutation carriers have a similar tumor profile than typical *TP53* mutations carriers. The high occurrence of the syndrome in Brazil may constitute a public health issue. The understanding of the tumors spectrum and the age of cancer onset in this population may help defining

Anexos 5, 6 e 7 - Trabalhos apresentados como pôster no *International Society for Gastrointestinal Hereditary Tumours (InSIGHT)- 6th Biennial Meeting 2015*

**INTERNATIONAL SOCIETY FOR
GASTROINTESTINAL HEREDITARY TUMOURS**
JUNE 18 - 20 - SÃO PAULO - BRAZIL

Certificate of POSTER PRESENTATION

This Certificate acknowledges that **HIGH PREVALENCE OF LI-FRAUMENI SYNDROME IN SOUTH AND SOUTHEASTERN BRAZIL DUE TO A FOUNDER MUTATION**, with the authors **MARIA NIRVANA CRUZ FORMIGA; KARINA MIRANDA SANTIAGO; AMANDA FRANCA NOBREGA; MARIA ISABEL WADDINGTON ACHATZ** was presented as an **POSTER PRESENTATION** in the **6th Biennial Meeting of the International Society for Gastrointestinal Hereditary Tumours**, held in São Paulo - Brazil, from June 18th-20th, 2015.


BENEDITO MAURO ROSSI
Chairman







**INTERNATIONAL SOCIETY FOR
GASTROINTESTINAL HEREDITARY TUMOURS
JUNE 18 - 20 - SÃO PAULO - BRAZIL**

Certificate of POSTER PRESENTATION

This Certificate acknowledges that **PREVALENCE OF GASTROINTESTINAL TUMORS IN LI-FRAUMENI SYNDROME**, with the authors **MARIA NIRVANA CRUZ FORMIGA; KARINA MIRANDA SANTIAGO; AMANDA DE FRANÇA NOBREGA; MARIA ISABEL WADDINGTON ACHATZ** was presented as an **POSTER PRESENTATION** in the 6th Biennial Meeting of the International Society for Gastrointestinal Hereditary Tumours, held in São Paulo - Brasil, from June 18th-20th, 2015.

BENEDITO MAURO ROSSI
Chairman





**INTERNATIONAL SOCIETY FOR
GASTROINTESTINAL HEREDITARY TUMOURS
JUNE 18 - 20 - SÃO PAULO - BRAZIL**

Certificate of POSTER PRESENTATION

This Certificate acknowledges that **PROFILE OF GASTROINTESTINAL TUMORS IN A LARGE CANCER GENETICS CLINIC IN BRAZIL**, with the authors **MARIA NIRVANA CRUZ FORMIGA; KARINA MIRANDA SANTIAGO; AMANDA FRANÇA NOBREGA; KELVIN CESAR ANDRADE; MARIA ISABEL WADDINGTON ACHATZ** was presented as an **POSTER PRESENTATION** in the **6th Biennial Meeting of the International Society for Gastrointestinal Hereditary Tumours**, held in São Paulo - Brasil, from June 18th-20th, 2015.

BENEDITO MAURO ROSSI
Chairman



Grupo de Estudos
de Tumores Hereditarios
www.geth.org.br



**HOSPITAL
SIRIO-LIBANÊS**
CONHECER PARA CUIDAR

Anexo 8 - Certificado de participação no *International Society for Gastrointestinal Hereditary Tumours (InSIGHT)- 6th Biennial Meeting 2015*

