

MARIA ISABEL ALVES DE SOUZA WADDINGTON ACHATZ

**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**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para a obtenção do título de
Doutor em Ciências

Área de concentração: Oncologia

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Renzo Brentani

São Paulo

2008

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Achatz, Maria Isabel Alves de Souza Waddington

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 / Maria Isabel Alves de Souza Waddington Achatz. -- São Paulo, 2008.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Departamento de Radiologia.

Área de concentração: Oncologia.

Orientador: Ricardo Renzo Brentani.

Descritores: 1.Síndrome de Li-Fraumeni 2.Proteína supressora de tumor p53
3.Mutação em linhagem germinativa 4.Deleção de genes 5.Polimorfismo genético
6.Predisposição genética para doença 7.Carcinoma adrenocortical 8.Proteínas
proto-oncogênicas c-mdm2

USP/FM/SBD-446/08

DEDICATÓRIA

*A Yvonne, por seu infinito amor.
Aos meus filhos, meus grandes amores.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Ricardo Renzo Brentani, pelo reconhecimento e incentivo. Por ter sempre acreditado em mim e apoiado minhas escolhas.

As todas as famílias que confiaram em meu trabalho e que me acompanharam nos últimos anos, em especial à Augusta Tereza.

Ao Dr. Pierre Hainaut por ser muito mais do que um grande professor. Obrigada por acreditar tanto em meu trabalho.

A Prof. Dra. Patricia Prolla, por ser meu exemplo, meu apoio e minha grande companheira nas discussões de casos. Obrigada pela sua amizade.

Aos meus filhos tão amados, Thiago, Rafaela, Mariana e Felipe, por todas as vezes que abriram mão da minha presença, pela compreensão, carinho e incentivo.

Agradeço a Deus a cada dia por vocês terem me escolhido.

Ao Michael, pela persistência, pelo seu amor e apoio.

Aos meus pais, Ary e Maria Martha, por todo amor e pelo carinho.

Aos meus irmãos Cristina, Eduardo e Roberto, pela grande amizade que nos liga.

À Tereza Messias, Joana Alecrim e Alfredo Messias, por me darem todo apoio e suporte, eu eterno agradecimento pelo amor que vocês têm pelos meus filhos.

A nossa equipe da Oncogenética, sem a qual não conseguiria ter completado este trabalho.

À Enfermeira Amanda França, pelo grande apoio, incentivo e amizade.

À Assistente de Pesquisa Andreia Veloso, pela coragem e por me apoiar tanto.

À Psicóloga Christina, por todo apoio, infundável perseverança e amizade.

À Edaise Silva, pela coragem em aceitar os desafios.

À Dra Simône Noronha por todo o nosso caminhar e à Dra. Rima Jbili pela coragem.

As colegas do IARC, Dra Edenir Palmero, pela ajuda inestimável na revisão da tese.

À Dra. Ghyslaine Martel-Planche, pela orientação nas manipulações e por ter me acolhido de braços abertos no IARC.

À Virginie Marcel, por ter aberto as portas no estudo do PIN3 e paciência em me explicar as técnicas.

Aos Dra. Florence e Olaf Kelm, amigos queridos que me ensinaram tanto e me hospedaram tantas vezes.

À Dra. Magali Olivier, pela orientação no Database *TP53*.

À Dra. Audrey Petijean, pelo trabalho no Database *TP53*.

À Michelle Wrizes por todo apoio em Lyon.

Ao Prof. Dr. Fernando Soares, pela confiança, pelo seu grande apoio e ajuda

Ao Dr. Luis Fernando Lima Reis, pela sua amizade, apoio e força.

Ao Prof. Dr. Roger Chammas, pelo apoio ao meu trabalho.

Aos Dras Helena Brentani, Dr Cesar Torres e todo Laboratório de Bioestatística.

Dra. Adriana Abalen e Dr. Alex Fiorinni pelo apoio e orientação.

À Dra. Dirce Carraro e todo o seu laboratório pela extração de DNA de nossos pacientes, e em especial a Eloisa Olivieri, Thiago Saraiva e Louise Mota.

À Dra. Lygia da Veiga Pereira, pelo infundável incentivo, amizade e apoio.

Ao Dr. André Lopes Carvalho pela disponibilidade e incentivo.

À Dra. Silvia Rogatto pela orientação e apoio em todos momentos.

À Dra. Maria Aparecida Koike pelo apoio e exemplo.

À equipe da Anatomia Patologia e Alexandra Longo e Gilmara da Silva pelo apoio.

À Dra. Isabela Werneck e Dra. Renata Coudry, pelas explicações e amizade.

Drs Gilles Landman, Dr. Antonio Hugo Froes, Dra. Cyntia Osório e Dra. Maria Dirley Begnami.

Ao Prof. Dr. Fabio Alves e toda a equipe de Estomatologia, pelo imenso apoio, companheirismo e gentileza em terem nos recebido.

Ao Prof. Dr. Ademar Lopes e toda equipe da Cirurgia Pélvica.

Ao Dr. Benedito Rossi, pela grande disponibilidade, orientação e amizade.

Ao Dr. Gustavo Guimarães pelos inúmeros conselhos e explicações.

Ao grupo do GETH, Enfermeira Erika, Dr. Fábio Ferreira, Dr. Wilson Nakagawa e Dr. Samuel Aguiar Jr.

Ao Dr. João Duprat e a equipe da Dermatologia, Dra. Bianca de Sá, Dr. Alexandre Leon, Dr. Marco Antonio de Oliveira e Dra. Adriana Mendes.

Ao Dr. Mário Mourão e a equipe da Mastologia: Dras. Fabiana Makkdissi, Maria do Socorro Maciel, Solange Carvalho e Dr. Hirofumi Iyeyasu pela confiança e apoio.

Ao Dr. Marcelo Fanelli e a toda equipe da Oncologia: Dr. Daniel Gimenez, Dr. Dr. Celso Mello, Dr. Wladimir Lima, Dra. Andreia Guimarães e Dr. José Augusto Rinck Jr. E Dr. Aldo Dettino pela ajuda e apoio no acompanhamento de nossos pacientes.

Ao Dr. Eduardo Nóbrega Lima e Dr Rubens Choniack e suas equipes pelo apoio.

Ao Dr. Jefferson Gross, Dr. Fábio Haddad e toda equipe da cirurgia torácica.

Ao Prof. Dr. Luiz Paulo Kowalsky, Dr. Mauro Ikeda, Dr. Magrin, Dr. José Guilherme Vartanian e toda equipe da cirurgia de cabeça e pescoço.

Dra. Cecília Costa, Prof. Dra. Beatriz de Camargo, Dra Viviane Sonaglio e toda equipe da Pediatria.

Ao Dr. André Vettore, pelo apoio iniciado em meu projeto de mestrado

À Dra. Adriane Pelosof, pelo apoio e amizade.

Dr. André Montagnini, Dr. Felipe Coimbra e a equipe da cirurgia abdominal.

À bibliotecária Suely Francisco, Erica Falcão e Priscilla Gomes pelo apoio, prontidão e carinho.

Ao Prof. Dr. Fernando Vargas pela amizade e confiança.

Ao Prof. Dr. Roberto Giuliani pelo imenso apoio na Genética Medica.

Ao Dr. Humberto Torloni e Dr. Alois Bianchi, pelo incentivo e exemplo.

Ao Dr. Carlos Lotfi, pela confiança e apoio.

Ao Dr. Décio Brunoni e todos do CGM-UNIIFESP pelo apoio desde o início.

À Dra. Ana Maria Camargo Aranha e Valéria paixão pela gentileza, apoio e compreensão.

À Secretária Elizete Costa, pela atenção e imensa paciência.

Às secretárias Iara Bittencourt e Solange de Melo, pelo carinho e simpatia.

Às secretárias da pós graduação da Faculdade de Medicina da USP, D. Iara e D. Gorette, pela assistência e apoio.

Às secretárias da Oncologia/Radiologia da Faculdade de Medicina da USP, Elisângela e Rosilene, pelo imenso apoio.

Aos funcionários do Lavoisier pela coleta de sangue dos pacientes.

A Fundação Antonio Prudente e ao IARC pelo apoio financeiro.

SUMÁRIO

Lista de figuras	
Lista de tabelas	
Lista de quadros	
Lista de abreviaturas	
Lista de símbolos	
Lista de siglas	
Resumo	
Summary	
1	INTRODUÇÃO..... 1
1.1	Câncer, genes e mutações herdadas no gene <i>TP53</i> : contribuição para a ocorrência do câncer na população brasileira..... 1
1.2	Incidência do câncer no Brasil: contribuição das síndromes de predisposição hereditária na compreensão da genética dos tumores hereditários..... 3
1.3	O desenvolvimento de serviços de Oncogenética clínica no Brasil..... 5
1.4	Departamento de Oncogenética do Hospital A.C. Camargo, São Paulo..... 7
1.5	AG em pacientes com síndromes de predisposição hereditária ao câncer... 8
1.5.1	Definição de aconselhamento genético..... 8
1.5.2	Quando encaminhar uma família para aconselhamento genético e avaliação do risco..... 8
1.5.3	Identificação de famílias com tumores hereditários..... 9
1.5.4	AG nas síndromes de predisposição hereditária ao câncer..... 10
1.5.4.1	Anamnese e exame físico..... 10
1.5.4.2	História familiar e elaboração do heredograma..... 12
1.5.4.3	Diagnóstico..... 12
1.5.4.4	AG pré-teste..... 13
1.5.4.5	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)..... 14
1.5.4.6	Teste genético..... 15

1.5.4.7	AG pós-teste.....	16
1.5.4.8	Estratégias de acompanhamento prospectivas.....	17
1.5.4.9	Limitações do teste genético.....	17
1.6	Síndrome de Li-Fraumeni.....	18
1.6.1	Histórico.....	18
1.6.2	Diagnóstico clínico da LFS/LFL.....	20
1.6.3	Espectro tumoral da LFS/LFL.....	22
1.6.4	Acompanhamento e rastreamento na LFS/LFL.....	23
1.7	O gene supressor de tumor <i>TP53</i> - estrutura e função.....	27
1.7.1	Histórico.....	27
1.7.2	Características do gene <i>TP53</i>	29
1.7.3	A família de genes relacionados ao <i>TP53</i>	31
1.7.4	A proteína p53.....	34
1.7.5	A regulação da expressão.....	35
1.7.6	Regulação pós-traducional: sinalização de danos ao DNA.....	35
1.7.7	A proteína p53 como fator fundamental no controle do ciclo celular, na apoptose e no reparo ao DNA.....	36
1.7.8	Mutações em <i>TP53</i> no câncer em humanos.....	38
1.7.9	R337H: mutação específica da população brasileira.....	40
1.7.10	Propriedades bioquímicas e biológicas do R337H.....	44
1.8	Características do padrão de mutações em famílias brasileiras LFS/LFL...	46
1.9	Modificadores genéticos de mutações no gene <i>TP53</i> : <i>MDM2</i> e polimorfismos intragênicos do gene <i>TP53</i>	48
1.9.1	<i>MDM2</i> : efeito modificador a partir do principal regulador de <i>TP53</i>	48
1.9.2	Polimorfismos intragênicos no gene <i>TP53</i>	49
2	OBJETIVOS.....	52
2.1	Objetivo geral.....	52
2.2	Objetivos específicos.....	52
3	PACIENTES E MÉTODOS.....	54
3.1	Seleção de famílias e pacientes.....	54

3.1.1	Recrutamento da série 1 LFS/LFL.....	54
3.1.2	Recrutamento da série 2 LFS/LFL.....	55
3.2	Extração de DNA.....	56
3.3	Identificação das mutações no gene <i>TP53</i>	58
3.4	Identificação de rearranjos no gene <i>TP53</i> pelo método de MLPA (<i>Multiplex ligation-dependent probe amplification</i>)	61
3.5	Identificação dos haplótipos dos polimorfismos PIN2, PIN3 e PEX 4 no gene <i>TP53</i>	62
3.6	Identificação do SNP309 (rs2279744) do gene <i>MDM2</i>	65
3.7	Análise estatística.....	66
4	RESULTADOS.....	67
4.1	Caracterização clínica e molecular das famílias LFS/LFL avaliadas e seus familiares.....	67
4.1.1	Definição do perfil brasileiro das famílias LFS/LFL.....	67
4.1.2	Investigação aprofundada em uma das famílias portadoras da mutação R337H – recrutamento e avaliação clínica e molecular de membros de uma mesma família.....	67
4.1.3	Pesquisa de mutações germinativas no gene <i>TP53</i> em novas famílias LFS/LFL e recrutamento de familiares para avaliação clínica e molecular	69
4.1.4	Detecção de rearranjos pelo método de MLPA em famílias sem mutações	70
4.1.5	Avaliação do padrão tumoral em famílias LFS/LFL: risco aumentado para câncer de estômago e colorretal de manifestação precoce.....	73
4.2	Origem e disseminação da mutação germinativa R337H e alta frequência de predisposição a câncer na população do sul e sudeste do Brasil: evidência de efeito fundador.....	75
4.3	Penetrância do R337H e risco para o desenvolvimento de tumores.....	81
4.4	Prevalência e distribuição do R337H na população do sul e sudeste brasileiro.....	83
4.5	Rastreamento de tumores nas famílias LFS/LFL brasileiras.....	84
4.6	Modificadores genéticos de penetrância: haplótipos do gene <i>TP53</i> e <i>MDM2</i>	86

4.6.1	Susceptibilidade ao câncer ligada aos polimorfismos PIN2, PIN3 e PEX4 de <i>TP53</i>	86
4.6.1.1	Determinação dos polimorfismos na população brasileira.....	86
4.6.1.2	Associação entre os polimorfismos na população avaliada como referência.....	87
4.6.1.3	Determinação dos polimorfismos em famílias LFS/LFL.....	89
4.6.1.4	Impacto dos polimorfismos na idade de acometimento dos tumores.....	91
4.6.1.5	Efeito de PIN3 no risco de câncer e idade de acometimento.....	93
4.6.1.6	Impacto do PIN3 na idade de acometimento de acordo com o tipo tumoral.....	96
4.6.1.7	Impacto do polimorfismo PIN3 no número de cânceres.....	98
4.6.2	Efeito do SNP 309 do gene <i>MDM2</i> no risco de câncer e idade de acometimento.....	99
4.6.3	Efeitos combinados dos diferentes polimorfismos.....	103
4.6.3.1	Associações entre PIN3 e PEX4.....	103
4.6.3.2	Associações entre PIN3 e <i>MDM2</i>	104
5	DISCUSSÃO.....	106
5.1	Caracterização clínica e populacional de LFS/LFL no Brasil.....	106
5.1.1	Padrão tumoral: espectro tumoral e alta frequência de câncer colorretal e de estômago nas famílias brasileiras LFS/LFL.....	106
5.1.2	Incidência estimada, excesso de risco e manejo.....	108
5.1.3	Panorama atual da LFS/LFL no mundo e no Brasil: contribuição do nosso estudo.....	111
5.1.4	A família Y12 e o desafio do aconselhamento genético.....	112
5.2	R337H e a presença da mutação fundadora em uma população aberta.....	113
5.2.1	R337H: efeito fundador evidente em população de origem caucasiana.....	113
5.2.2	Origem da R337H: hipótese histórica e a rota dos tropeiros.....	115
5.2.3	Paradoxo da persistência de uma mutação deletéria em uma população aberta.....	117
5.2.4	Desafios no manejo das famílias R337H da população do sul e sudeste brasileiro.....	120

Gracias por visitar este Libro Electrónico

Puedes leer la versión completa de este libro electrónico en diferentes formatos:

- HTML(Gratis / Disponible a todos los usuarios)
- PDF / TXT(Disponible a miembros V.I.P. Los miembros con una membresía básica pueden acceder hasta 5 libros electrónicos en formato PDF/TXT durante el mes.)
- Epub y Mobipocket (Exclusivos para miembros V.I.P.)

Para descargar este libro completo, tan solo seleccione el formato deseado, abajo:

