

PROTEINA SUPRESSORA DE TUMOR P53 E SUA RELAÇÃO COM A SÍNDROME DE LI-FRAUMENI

DANIELE CAMINHA LEAL VALLS

Pós-graduanda do Curso de Especialização em Análises Clínicas, Colégio Brasileiro de Estudos Sistemáticos – CBES, Av. Alberto Bins, CEP 376, 90.030-140, Centro, Porto Alegre, RS.

INTRODUÇÃO

O câncer é uma doença caracterizada por uma população de células que cresce e se divide fora dos limites normais, invade e destrói tecidos adjacentes, e pode se espalhar para lugares distantes no corpo, através de um processo chamado metástase. Estas propriedades malignas do câncer o diferencia dos tumores benignos, que são auto-limitados em seu crescimento e não invadem tecidos adjacentes.^{1,2}

É o resultado final de um acúmulo de alterações genéticas, herdadas ou adquiridas. Os genes que são alterados são aqueles envolvidos nos processos celulares normais e fundamentais, como a regulação do ciclo celular, sinalização e diferenciação.² A regulação do ciclo celular é um equilíbrio entre os produtos dos genes que induzem uma célula a replicar-se e outros genes que impedem a replicação celular. Consiste na mudança de períodos de descanso e períodos de divisão, até a morte celular.³

Em vários tipos de câncer, existem defeitos nesse sistema regulador, levando as células a uma replicação descontrolada. Estes genes que levam a replicação são chamados de protooncogenes, enquanto que os genes que impedem a divisão celular são conhecidos como supressores de tumor.¹ Os oncogenes apresentam efeito genético dominante, e basta um de seus alelos afetado para a carcinogênese ocorrer. Ao contrário dos supressores de tumor, que apresentam característica recessiva, sendo necessário uma mutação nos dois alelos.⁴

Existem várias evidências de que a ocorrência de alterações em determinadas proteínas poderá modificar a história natural de uma neoplasia, levando a uma diferença significativa no prognóstico do paciente e seus índices de resposta à terapêutica instituída. O estudo das proteínas supressoras de tumor consiste em uma

ferramenta útil para a decisão sobre a melhor terapia. Muitos destes marcadores podem nos fornecer valiosas informações sobre as características de um tumor, determinado o tratamento mais eficaz.²

O presente trabalho tem como objetivo descrever sobre a proteína supressora de tumor p53 e sua relação com a Síndrome de Li-Fraumeni. Foi realizada uma revisão bibliográfica a partir das principais bases de dados em saúde: MEDLINE (base de dados de literatura internacional, produzida pela US National Library of Medicine – NLM), LILACS (Literatura Latino-Americana y del Caribe em Ciencias de la Salud) e SciELO (Scientific Electronic Library Online), no período de 2002 a 2008.

CICLO CELULAR

O ciclo celular consiste na mudança de descanso e períodos de divisão até a morte celular. Apesar do tempo de duração de cada fase variar com o tipo celular, pelo menos duas grandes barreiras parecem operar em todas as células eucarióticas, que são a transição entre G1→S e G2→M. A fase S, período de síntese de DNA e a fase M, durante a qual os cromossomos se condensam e se alinham no feixe de microtúbulos e as cromátides irmãs são separadas. Estas fases são separadas por intervalos denominados G1 e G2. Quando não estão se dividindo, as células se encontram em uma fase quiescente denominada G0. Essas células só entram em divisão após receberem instruções ou estimulação extracelular, através de substâncias estimuladoras mitogênicas, bloqueio de citocinas antiproliferativas ou mesmo contato com células adjacentes.^{3,5}

A transição da fase inicial ou intermediária para o final da G1 é chamada ponto de restrição (R),

enquanto que as transições que ocorrem em outros pontos do ciclo celular são chamadas pontos de checagem, o qual o mais importante se encontra na passagem de G2 para M. A passagem por estes pontos de controle permite que a progressão na divisão celular ocorra somente se as condições da célula estiverem perfeitas, o que inclui replicação de DNA completa e sem danos. As células cancerosas abandonam seus mecanismos de controle e continuam se dividindo sem o mecanismo de morte celular programada. A decisão para se dividir acontece logo que a célula passa do ponto R, e segue seu próprio programa até a divisão. A passagem da célula através do ponto R e dos pontos de checagem é regulada por uma família de proteínas quinases, que incluem uma subunidade regulatória, as ciclinas, e uma subunidade catalítica, as quinases ciclinas dependentes (CDK).^{3,5}

As ciclinas são um grupo de proteínas responsáveis pela ativação das principais divisões celulares. Elas regulam a atividade das quinases, que por essa razão são chamadas quinases-ciclinas dependentes. A ativação do complexo CDK específico resulta em uma cascata de fosforilação das proteínas que são necessárias para a passagem por um determinado estágio do ciclo celular.⁶ As CDKs são inativas como monômeros, sua ativação depende da ligação com as ciclinas. Elas também participam no controle da transcrição e na apoptose.⁷

A morte celular programada, conhecida como apoptose, é uma propriedade fundamental de todos os organismos multicelulares. Ocorre em diferentes estágios de crescimento, como por exemplo, na degeneração de neurônios que falham nas conexões celulares ou até mesmo para regular o tamanho da população de determinadas células nos tecidos. Quando as células são confrontadas com um ambiente de estresse, elas podem ser destruídas acidentalmente ou podem se auto destruir usando um mecanismo ativo. Isto depende do tipo e intensidade do estresse.⁸

O início do processo é controlado rigidamente por numerosos sinais intra e extracelulares capazes de induzir a morte celular programada. Envolve proteases específicas, chamadas caspases, as quais são ativadas por clivagens proteolíticas como resposta aos sinais que induzem a apoptose. Estas proteases ativas clivam proteínas chaves das células e ocorre a morte rapidamente. A regulação deste processo é tão complexa quanto a regulação do crescimento celular e acompanha uma série de alterações bioquímicas, com modificações morfológicas da célula e do núcleo.⁹

Os processos da apoptose em células animais incluem a condensação da cromatina, a quebra do

DNA, a fragmentação celular e a formação de corpos apoptóticos. A apoptose pode ser detectada por microscopia, histopatologia convencional ou técnicas especiais.^{8,9}

GENE TP53

O TP53 é um gene supressor tumoral localizado na região cromossômica 17p31, que codifica uma proteína de 393 aminoácidos, a proteína p53. Este gene, quando sofre mutações, leva ao desenvolvimento de neoplasias, sendo classificado, portanto como um gene regulador chave do ciclo celular.^{4,10,11,12}

O TP53 age como um fator de transcrição que controla vários processos biológicos importantes para o controle do crescimento tumoral, incluindo regulação do ciclo celular, angiogênese e apoptose.¹⁴ A p53 controla a progressão de células da fase G1 para a fase S do ciclo celular, para promover reparos, participa no controle da apoptose das células com danos no DNA e também regula a expressão do fator de crescimento endotelial vascular e ativa a transcrição de inibidores da angiogênese.^{4,11,14}

A seqüência codificante da proteína contém cinco regiões mostrando um alto grau de conservação nos vertebrados e apresenta dez éxons codificantes. O gene contém uma região 5' bastante longa que apresenta um éxon 1 não codificante e um íntron 1 com 10 kilobases de pares. As mutações no TP53 são alterações importantes no complexo processo da carcinogênese, sendo o local mais comum de mutações somáticas em cânceres humanos. As alterações genéticas no TP53 são freqüentes em uma variedade de cânceres esporádicos, com freqüências que variam de 10 a 60% dependendo do tipo de tumor e da população. Ocorrem bastante em cânceres associados à exposição ambiental e a carcinógenos ocupacionais. Os tipos e distribuição da linhagem germinativa e somática das mutações do TP53 são bastante similares, sendo a maioria mutações missense nas ligações do DNA, geralmente do éxon 4 ao 9 do gene TP53. Mutações do tipo splice-site, deleções e complexo inserção-deleção também podem ocorrer.¹⁵

Além de seu papel determinante como gene supressor tumoral, o gene p53 apresenta também outros aspectos importantes, como os polimorfismos da proteína codificada por este gene. Estes polimorfismos podem causar alterações leves ou dramáticas na atividade da proteína. Um dos mais estudados é o do códon 72, podendo codificar uma arginina (Arg) ou uma prolina (Pro), determinando três genótipos: homocigoto

para Arg (Arg/Arg p53), heterozigoto (Arg/Pro p53) ou homozigoto para prolina (Pro/Pro p53). Em estudos anteriores foi mostrado que os pacientes Arg/Arg p53 teriam risco maior de desenvolver câncer cervical associado ao papiloma vírus humano e suspeita de leucemia mielóide crônica.^{16,17}

Em um teste com ratos, foi associada a dosagem do gene p53 e o fenótipo de câncer espontâneo. Todos os ratos com o genótipo homozigoto recessivo, sem nenhum alelo da p53 (-/-), acabaram desenvolvendo tumores, principalmente linfomas de timo até os 10 meses de idade, com rápido desenvolvimento do tumor e morte a partir dos 3 meses. Os ratos heterozigotos (+/-) desenvolveram vários tipos de tumores com idade mais avançada. Mais de 95% destes ratos apresentaram osteosarcomas, linfomas de timo e linfomas esplênicos até os dois anos idade. Nos ratos heterozigotos, os níveis de p53 foram reduzidos e a diversidade dos tipos de tumor mostrou que os tecidos se tornaram suscetíveis à perda do segundo alelo da p53.¹⁸

Pacientes com somente um alelo funcional do TP53 apresentam maior risco de desenvolver múltiplos cânceres quando o alelo restante é inativado por vários mecanismos. A perda da função da p53 cria uma forma de fenótipo mutante, permitindo as células replicarem com o DNA danificado e acelerando o processo da carcinogênese.¹⁵

PROTEÍNA P53

Depois de mais de 25 anos de descrita, a proteína p53 tem sido mostrada como papel chave na supressão tumoral e no envelhecimento, e tem sido alvo de muitas pesquisas. A p53 é um fator de transcrição expressa na maioria dos tipos celulares e é ativada em respostas a vários sinais de estresse, principalmente o estresse genotóxico.¹⁵

A proteína mutada perde sua função reparadora do DNA e indutora da apoptose, o que provoca um aumento no número de mutações celulares e a perpetuação dos clones anormais.¹³ A mutação da p53 foi descrita em mais da metade dos tumores humanos, essa proteína mutada apresenta grande estabilidade e longo tempo de meia vida, o que era de aproximadamente 20 minutos na proteína normal, aumenta para várias horas na proteína mutada. Isto gera um acúmulo no núcleo celular, que pode ser identificado pela imunohistoquímica usando anticorpos específicos.^{5,10,11,13} No entanto, a p53, em células normais é expressa em baixos níveis e não é detectada. Esse aumento na expressão da p53, quando mutada, pode ser uma

tentativa de frear o ciclo celular como resposta a desregulação.⁵

Os sinais que ativam a p53 incluem os diversos tipos de dano do DNA, hipóxia, encurtamento dos telômeros, choque de temperatura, deficiência nutricional, depleção de microtúbulos, ribonucleotídeos ou fatores de crescimento, modelação da adesão celular e alteração do metabolismo. Uma vez ativada a p53 exerce seus efeitos através de dois mecanismos principais; pelo controle da transcrição (ativação e repressão dos genes) e pela interferência na função de outras proteínas através da formação de complexos.^{15,19}

Existem três respostas que ocorrem depois da ativação da p53: apoptose, envelhecimento celular e parada do ciclo celular. Os dois primeiros são terminais para a célula, enquanto que a parada do ciclo permite os processos de reparo e a célula sobrevive. A escolha destes três mecanismos pela célula que está sob estresse depende de um número de outras variáveis. Em algumas células, em que ocorre geralmente a apoptose, a resposta pode ser revertida ou reduzida com tratamento com interleucina 6. A introdução do oncogene RAS ativado em uma célula normal resulta em senescência da célula. Como parte nesse processo de senescência, a p53 produz citoquinas que atacam as células inflamatórias, as quais eliminam a célula RAS transformada do organismo. Em outras palavras, a ativação da p53 em uma célula normal geralmente resulta na sua deleção permanente do conjunto de células com capacidade proliferativa, promovendo uma maneira drástica para a supressão de qualquer célula que possa apresentar uma transformação oncogênica.^{15,19}

Além desses mecanismos de resposta, existem outros processos celulares que são alterados por genes regulados pela p53. Estes incluem feedback positivo e negativo, regulação de outros sinais de transdução, alteração na matriz extracelular, alteração no citoesqueleto e processos de reparo do DNA. Estes processos ocorrem em níveis moleculares e celulares, podendo causar conseqüências fisiológicas e sistêmicas, como resposta ao estresse. Exossomas produzidos pela ativação da p53 em uma resposta apoptótica combinada com células dendríticas do corpo pode aumentar o processo imune contra antígenos. Vários genes regulados pela p53 que são expressos e agem no SNC podem se comunicar com neurônios, e em algumas situações resultar em neurodegeneração.¹⁹

A principal forma de ativação da transcrição é através da ativação direta de uma seqüência específica do DNA, mas pode também reprimir vários genes através de métodos indiretos. Quase todos os genes transcritos pela ativação da p53 possuem um sítio de ligação no

DNA que se liga ao mesmo sítio alvo da resposta da p53. Através de interações proteína-proteína, a p53 pode se ligar e recrutar proteínas de transcrição para a região promotora dos genes regulados pela p53 para induzir a transcrição.¹⁹

Em alguns genes, a ligação da p53 ao seu sítio alvo resulta na repressão direta do gene. Existem três métodos diretos de repressão direta pela p53. Entre eles, a interferência estérica, que envolve a ligação de uma seqüência específica de DNA, que bloqueia o sítio de ligação de uma proteína de transcrição mais potente. O segundo método, a inativação dos promotores da transcrição ocorre através de interações proteína-proteína. O último método direto é a ativação das histona deacetilases (HDACs), que ocorre através da ligação da p53 a proteína repressora SIN3A, que se liga a HDCA.¹⁹

Entre os métodos indiretos de repressão da transcrição pela p53, está a ativação de CDKN1A que inibe o complexo ciclina D-CDK4 através da ligação direta. A consequência dessa inibição do complexo é a ausência da hiperfosforilação da proteína de retinoblastoma RB da fase G1 do ciclo celular. A RB não fosforilada reprime a função da família de fatores de transcrição E2F, formando um complexo E2F-DP1-RB. Este complexo inibe os alvos da E2F parando o ciclo celular na fase G1.¹⁹

Um aspecto bastante controverso é o papel das modificações pós traducionais da p53 na determinação da sua eficácia na regulação da transcrição. Entre elas estão a fosforilação, metilação e acetilação. Estudos mostraram que a p53 precisa dessas modificações no seu domínio C-terminal para se ligar ao DNA *in vitro*, mas não necessita na presença de cromatina. Foi mostrado que a indução da p53AIP1 (apoptose regulada pela p53 induzida pela proteína 1) depende da fosforilação de um resíduo de serina da p53. A fosforilação dos resíduos de serina conferiu a p53 a ativação do gene APC, enquanto a p53 não fosforilada serviu como supressor do APC.¹⁹

A evidência mais forte que mostra que as modificações pós traducionais são importantes para os mecanismos regulatórios da p53, é o fato que os inibidores HDAC mostraram um aumento nos níveis de p53 acetilada e induziram a apoptose e senescência das células cancerosas e normais.¹⁹

Outro mecanismo mediado pela p53 é a ativação de sítios de ligações fracos da p53, por suas proteínas homólogas p63 e p73. A p63 participa no desenvolvimento e diferenciação de determinados tecidos, portanto o produto de seu gene não é um supressor tumoral como o da p53. A p73 quando está superexpressa

pode bloquear o ciclo celular e desencadear a apoptose. Existem evidências de que danos ao DNA possam induzir a acetilação do p73 através da acetiltransferase p300, causando apoptose por um mecanismo independente da p53.^{13,19}

SÍNDROME DE LI-FRAUMENI

Em 1969, Li e Fraumeni mostraram quatro famílias com uma predisposição autossômica dominante de diversos tipos de câncer em crianças e jovens adultos, incluindo sarcoma de tecidos moles e câncer de mama. Em 1988, eles expandiram as pesquisas para 24 famílias para caracterizar melhor o fenótipo da síndrome. Estas famílias apresentavam mais tipos de câncer do que o esperado, incluindo osteosarcomas, câncer de mama, carcinoma adrenocortical, tumores cerebrais e leucemia. Este grupo de cânceres foi aceito como a forma clássica da síndrome de Li-Fraumeni (LFS).^{14,20,21,22,23}

A base genética da doença é uma mutação na linhagem germinativa do gene TP53, o qual representa um papel importante na tumorigênese, e está mutado em pelo menos 50% dos tumores específicos.^{14,21,22,23} Em 1990, foi mostrado que a maioria das famílias com LFS apresentava mutações no gene TP53 e este fato foi confirmado por outros pesquisadores. Baseado em análises, como a amplificação do gene, as mutações apareceram em 80% dos casos. Em 1994, foi descoberto um segundo tipo de LFS, a Li-Fraumeni like (LFL), com mutação de 30 a 40% dos casos.²³

O gene CHEK2 foi mostrado em 1999, como possível causa de acúmulos de câncer nas famílias com LFS. Foi identificada uma mutação no gene CHEK2 em uma família clássica de LFS, que não apresentava mutação no gene TP53, e em duas famílias sugestivas de LFS. Os sarcomas foram presentes em duas das três famílias.^{20,23}

Em um estudo foi mostrado duas mutações diferentes no gene p53, uma no íntron 5 (IVS5-1 G → A) e no éxon 7 (Asn235Ser 704 A → G), ambas classificadas como patogênicas. Foram observadas famílias com estas mutações com câncer de mama, que foi o tipo predominante, e não foram identificadas mutações no BRCA1 e BRCA2, marcadores típicos de câncer de mama, indicando que a mutação no p53 está associada com a predisposição ao câncer.²¹

Em relação ao sexo também foram observadas diferenças significativas, as mulheres que apresentaram mutações no p53 apresentaram mais chances de desenvolver tumores que os homens com as mesmas mutações, devido ao câncer de mama e de ovário.²³

A LFS serve como um modelo para estudar os diferentes mecanismos que controlam a iniciação de um tumor em indivíduos diferentes. Nas doenças genéticas, a variação na idade em que o paciente é diagnosticado, é determinada por dois mecanismos principais: os modificadores genéticos, genes que modificam ou influenciam a severidade da carga genética anormal, e a antecipação genética. Esta é definida como uma maior incidência, o aparecimento mais cedo ou o aumento da gravidade da doença nas gerações sucessivas.²²

A antecipação genética desempenha um papel importante na LFS. Foi descoberto um polimorfismo MDM2-SNP309, o qual pode ser um modificador genético nos cânceres que apresentaram mutações na p53. O MDM2 é um regulador negativo da p53, levando a p53 a degradação proteossômica. A variação SNP309, localizada no gene do MDM2, aumenta a ligação de fatores de transcrição e eleva os níveis de MDM2. Como a p53 possui afinidade com o MDM2, é esperado um aumento na degradação da p53.²²

Também foi relacionado com a LFS, o tamanho dos telômeros dos pacientes. Os telômeros são seqüências protetoras que constituem o final dos cromossomos e estão envolvidos em praticamente todos os tipos de cânceres no homem.⁴ Os pacientes com LFS apresentaram telômeros mais curtos e disfuncionais, o que foi associado com a progressão de tecidos normais até neoplasias. Não é entendido porque os pacientes com LFS possuem atritos nos telômeros mais rapidamente que indivíduos normais, mas este fato já foi observado em outras síndromes envolvendo anormalidades com o reparo do DNA. A falta do p53, permite as células com disfunção nos telômeros, ambas somáticas e germinativas, escaparem do processo de senescência e continuarem se multiplicando. Isto levará ao nascimento de crianças com os telômeros mais curtos nas próximas gerações.²² A atividade da telomerase encontra-se muito baixa ou ausente nos tecidos normais, entretanto nas células neoplásicas sua atividade está presente ocasionando imortalidade celular. A integridade dos telômeros é fundamental para a manutenção da estabilidade cromossômica e para prevenir fusão de cromossomos e translocações.⁴

O tratamento para a LFS com sucesso é difícil devido à frequência de múltiplas malignidades que apresentam defeitos genéticos na p53, que são fundamentais para a progressão do câncer e o desenvolvimento da resistência ao tratamento. O mais paradoxo no tratamento de tumores da LFS é que as terapias citotóxicas convencionais que induzem ao dano no DNA, atacam tanto as células cancerosas quanto as células normais, o

que contribui para a alta incidência de tumores secundários nestes pacientes. Devido a este fato, estão sendo estudados tratamentos específicos para a LFS, com a transferência do gene p53.¹⁴

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os estudos sobre a p53 ainda causam impacto nos conhecimentos da biologia molecular do câncer. O desafio é transformar os conhecimentos em avanços na prevenção, detecção, prognóstico e tratamento da doença. Novas descobertas sobre a função e o controle da p53 continuam surgindo. O entendimento exato da síndrome de Li-Fraumeni e sua relação com as mutações na linhagem germinativa da p53 ainda estão incompletos. Estudos adicionais são necessários para identificar o papel dos carcinógenos ambientais entre os membros das famílias, possíveis hereditariedades genéticas, o poder de penetrância do gene mutante, os polimorfismos da p53, entre outros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. WARD, Laura. Entendendo o processo molecular da tumorigênese. *Arq Bras Endocrinol Metab.* São Paulo, v.46, n.4, p.351-360, ago.2002.
2. PELÚZIO, M et al. As proteínas supressoras em neoplasias malignas – Conhecendo seu papel. *Rev Bras Nutr Clin.* São Paulo, v.21, n.3, p.233-238, ago.2006.
3. CIPOLLOTTI, R et al. Inactivation of the p15 gene in children with acute lymphoblastic leukemia. *Sao Paulo Med J.*, São Paulo, v.121, n.5, p.203-206, 2003.
4. DUARTE, R e PASCHOAL, M. Marcadores moleculares no câncer de pulmão: papel prognóstico e sua relação com o tabagismo. *J Bras Pneumol.* Brasília, v.32, n.1, p.56-65, jan/fev 2006.
5. DONANGELO, I e GADELHA, M. Bases moleculares dos adenomas hipofisários com ênfase nos somatotropinomas. *Arq Bras Endocrinol Metab.* São Paulo, v.48, n.4, p.464-479, ago.2004.
6. NEVES, A et al. Comparison between imunohistochemical expression of cyclin D1 and p21 and histological malignancy graduation of oral squamous cell carcinomas. *Braz Dent J.* São Paulo, v.15, n.2, p.93-98, 2004.
7. CANDURI, F et al. Structural bioinformatics of cyclin-dependent kinases complexed with inhibitors. *Ecl Quim.* São Paulo, v.28, n.1, p.45-53, 2003.
8. RIBEIRO, J et al. Involvement of mitochondria in apoptosis of cancer cells induced by photodynamic therapy. *J Bras Patol Med Lab.* Rio de Janeiro, v.40, n.6, p.383-390, dez. 2004.

9. PEREIRA, K et al. Apoptosis as a prognostic marker in canine mammary tumors by Tunel. *Bras J Vet Res Anim Sci*. São Paulo, v.40, n.5, p.359-365, mai. 2003.
10. SIROMA, M e BARACAT, F. Associação entre a presença da proteína p53 e o grau de diferenciação em carcinomas ductais invasivos de mama. *Rev Bras Gineol Obstet*. Rio de Janeiro, v. 28, n.5, p.298-303, mai. 2006.
11. FONSECA, G et al. The role of HER2/neu, BCL2, p53 genes and proliferating cell nuclear protein as molecular prognostic parameters in localized prostate carcinoma. *Sao Paulo Med J*. São Paulo, v. 122, n.3, p.124-127, 2004.
12. ALMEIDA, O et al. Carcinoma ductal in situ associado a carcinoma invasivo na mesma mama: análise do grau nuclear e da expressão das proteínas p53 e c-erbB-2 e dos receptores de estrógeno. *Rev Bras GInec Obst*. Rio de Janeiro, v. 26, n.6, p.435-439, 2004.
13. RIBEIRO-SILVA, A e ZUCOLOTO, S. A família do p53: aspectos estruturais e funcionais do p73 e do p63. *J. Bras. Patologia*. Rio de Janeiro, v.39, n.2, p.179-184, nov.2002.
14. SENZER, N et al. p53 therapy in a patient with Li-Fraumeni syndrome. *Mol Cancer Ther*. Philadelphia, v.6, n.5, p.1478-1482, mai. 2007.
15. ACHATZ, M et al. TP53 Gene and Li-Fraumeni Syndrome. *Applied Cancer Research*. São Paulo, v.25, n.2, p.51-57, 2005.
16. HAMÚ, C et al. Polimorfismo do gene tp53 no códon 72 em pacientes com suspeita de LMC. *Rev Bras Hematol Hemoter*. Rio de Janeiro, v.29, n.4, p. 346-350, 2007.
17. ANSCHAU, F et al. Associação entre o polimorfismo no códon 72 e as lesões pré-malignas e malignas cervicais. *Rev Bras Ginecol Obstet*. Rio de Janeiro, v.27, n.10, p.607-612, out. 2005.
18. HILL, K et al. Most spontaneous tumors in a mouse model of Li-Fraumeni syndrome do not have a mutator phenotype. *Carcinogenesis*. [s.l], v.27, n.9, p.1860-1866, abr. 2006.
19. RILEY, T et al. Transcriptional control of human p53-regulated genes. *Nature Reviews*. [s.l], v.9, p. 402-410, mai.2008
20. EVANS, D et al. Is CHEK2 a cause of the Li-Fraumeni syndrome? *J Med Genet*. London, v.45, n.1, p.63-64, jan. 2008.
21. HEST, L et al. Two TP53 germline mutations in a classical Li-Fraumeni syndrome family. *Familial Cancer*. [s.l], v.6, p.311-316, fev.2007.
22. TABORI, U et al. Younger age of cancer initiation is associated with shorter telomere length in Li-Fraumeni syndrome. *Cancer Research*. Philadelphia, v.67, p.1415-1418, fev. 2007.
23. WU, C et al. Joint effects of germ-line p53 mutation and sex on cancer risk in Li-Fraumeni syndrome. *Cancer Research*. Philadelphia, v.66, p.8287-8292, ago.2006.