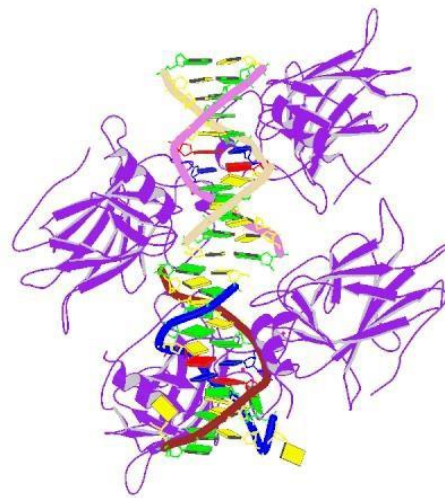
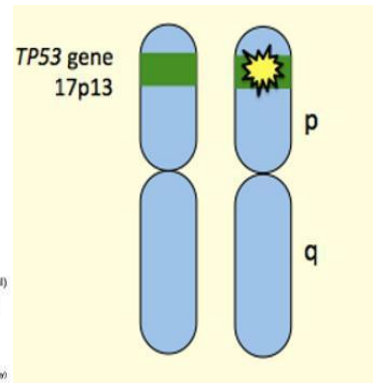
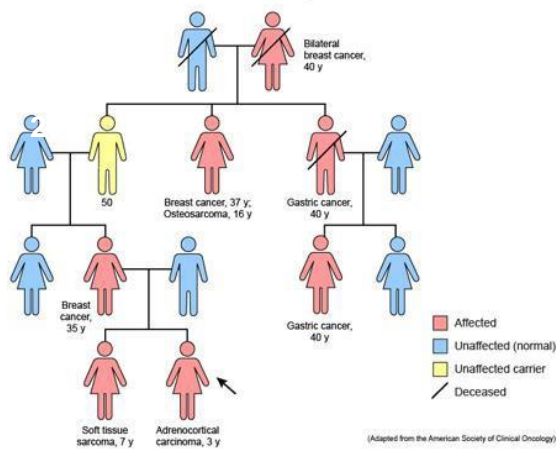


# ESTUDI DE LA SÍNDROME DE LI-FRAUMENI AMB EINES BIOINFORMÀTIQUES



Li-Fraumeni Syndrome



*La ciència humana consisteix més en destruir errors que en descobrir veritats.*

Sòcrates (470 AC-399 AC) Filòsof grec

## Agraïments

Primer de tot, vull agrair aquest treball als meus professors i tutors de treball per tots els seus consells, la seva dedicació i les seves orientacions. Ells van ser els que van proposar-me que fes aquest treball. Gràcies a ells, he pogut conèixer de primera mà aquest món tant interessant.

Tot seguit, vull agrair als meus pares i la meva germana la paciència que han tingut amb mi, i el seu recolzament durant tot el procés.

Finalment, vull donar les gràcies a dues persones que m'han ajudat en la construcció d'aquest treball: en Marc A. Marti Renom, professor i investigador del centre ICREA, director del grup d'estructures genòmiques en el Centre Nacional d'Anàlisi Genòmica - Centre de Regulació Genòmica (CNAG-CRG), per ensenyar-me tot el món relacionat amb la bioinformàtica i donar-me bons consells i a la Marta Serrano del grup Van Leeuwen dels Laboratory Technician i col·laboradora de l'Institut català d'investigació química, pels seus consells i per proporcionar-me una sèrie d'articles científics que jo no tenia al meu abast.

## INDEX

0. MOTS PRELIMINARS .....	6
1. ABREVIATURES .....	7
2. INTRODUCCIÓ .....	8
2.1 PROCESSOS CEL·LULARS DE L'EXPRESSIÓ GÈNICA .....	11
2.2. EL CICLE CEL·LULAR.....	13
2.3. ELS DESCOBRIDORS.....	18
3. DESENVOLUPAMENT .....	19
3.1. HISTÒRIA .....	19
3.2. GEN TP53.....	21
3.3. LA PROTEÏNA P53 .....	23
I. ESTRUCTURA .....	23
II. FUNCIÓ.....	25
III. FUNCIONAMENT .....	25
IV. REGULACIÓ.....	26
3.4. POSSIBLES MUTACIONS TP53.....	28
3.5. TIPUS DE CÀNCERS EN LFS .....	32
3.6. CÒM ES DIAGNOSTICA LA LFS.....	35
3.7. POSSIBLES TRACTAMENTS.....	36
4. INVESTIGACIÓ .....	38
4.1. QUÈ SÓN LES MALALTIES MINORITÀRIES .....	38
I. PREVALENÇA .....	39
II. CARACTERÍSTIQUES .....	39
4.2. LA SÍNDROME DE LI-FRAUMENI DINS L'ENTORN DE LES MALALTIES MINORITÀRIES (MM) .....	40
4.3. DADES DE CASOS REALS .....	42
4.4. LA BIOINFORMÀTICA .....	46
I. QUÈ ÉS LA BIOINFORMÀTICA?.....	46
II. RELACIÓ ENTRE GENÈTICA I BIOINFORMÀTICA.....	47
III. QUE SÓN LES BASES DE DADES BIOINFORMÀTIQUES? .....	48
IV. EL GEN DINS DE LES BASES DE DADES BIOINFORMÀTIQUES .....	50
4.5. REPRESENTACIÓ 3D DE LA PROTEÏNA .....	53
I. QUÈ ÉS UN VISOR DE PROTEÏNES? .....	53
II. FUNCIONAMENT DEL VISOR .....	55
4.6. ESTUDI DE LA PROTEÏNA.....	58

I.	HISTIDINA .....	60
II.	ARGININA.....	61
III.	MUTACIÓ POSICIÓ 175 .....	62
	A. PACIENTS I MÈTODES .....	62
	B. ESTUDIS MOLECULARS.....	63
	C. DISCUSSIÓ .....	65
IV.	MUTACIÓ POSICIÓ 337 .....	66
V.	COMPARACIÓ PROTEÏNA SENSE MUTACIONS AMB PROTEÏNES AMB MUTACIONS.....	67
	A. MUTACIÓ POSICIÓ 175/PROTEÏNA NORMAL .....	67
	B. MUTACIÓ POSICIÓ 337/PROTEÏNA NORMAL .....	71
	C. MUTACIÓ POSICIÓ 175 / MUTACIÓ POSICIÓ 337 .....	75
5.	CONCLUSIÓ .....	77
6.	VOCABULARI/GLOSSARI.....	80
7.	TAULA D'IMATGES .....	84
8.	RELACIÓ DE TAULES .....	86
9.	ANNEX I .....	87
10.	BIBLIOGRAFIA.....	91
11.	WEBGRAFIA .....	94

## 0. MOTS PRELIMINARS

L'elaboració d'aquest treball va néixer com fruit d'una proposta per part de dos dels meus professors de l'àmbit de ciències. Coneixien les meves preferències personals per aquest tipus d'estudis i van voler proporcionar-me una primera aproximació al món de la investigació científica amb les noves eines que facilita la informàtica. La proposta em va agradar molt, ja que es tractava d'un treball que abastava diferents àmbits de les matèries que estava estudiant.

En un primer moment, vaig haver de llegir molta bibliografia, ja que els meus coneixements del tema eren gairebé nuls. Tenia els coneixements bàsics proporcionats pels estudis de batxillerat a l'àmbit biosanitari. Però, per a mi, molta de la informació que llegia era nova. A més, la immensa majoria de la bibliografia que vaig haver de consultar estava redactada en anglès.

Em vaig posar a treballar. Segons llegia, entenia el treball i la proposta que se m'havia fet. Vaig començar a fer una classificació del material llegit i treballat i vaig rebre les primeres orientacions per part dels dos tutors de treball. Poc a poc, el meu treball va anar agafant forma.

Després, vaig tenir la sort de poder comptar també amb el recolzament, l'assessorament i l'ajut d'experts en aquestes disciplines. Sense adonar-me, el nombre de pàgines anava creixent. Això recompensava les hores que passava fent aquest treball.

Havia descobert un camp d'investigació nou per a mi. No necessitava anar a un laboratori per poder investigar. A través de l'ús del 'ordinador personal podia fer el seguiment d'una malaltia i, a més, podia fer una recerca de la mateixa manera que es fa ara als grans laboratoris d'investigació científica.

El treball ha merescut la pena. He après molt i m'ha cridat l'atenció com les diferents matèries científiques que estudio al batxillerat estan relacionades entre elles i com es complementen les unes amb les altres a l'hora de realitzar un estudi. A més, he vist la direcció que està prenent una part molt important de la recerca científica. Només espero que la Síndrome de Li Fraumeni, una malaltia hereditària que es transmet segons un patró autosòmic dominant, algun dia, arribi a formar part de la història científica.

## 1. ABREVIATURES

Ordenades per ordre alfabètic.

**ATM:** *Ataxia telangiectasia mutated*

**ATR:** *Ataxia telangiectasia and Rad3 related*

**CAK:** *CDK-activating kinase*

**CDKs:** *Cyclin-dependent kinases*

**CDK2:** *Cyclin-dependent kinase 2*

**CHK1:** *Check point kinase 1*

**CHK2:** *Check point kinase 2*

**DDBJ:** *DNA Data Bank of Japan*

**DNA:** Àcid desoxiribonucleic

**DNA-PK:** *DNA-dependent protein kinase* **EGFR:**

*Epidermal growth factor receptor* **GADD45:**

*Growth Arrest and DNA Damage* **HER2:** *Human epidermal growth factor receptor 2*

**HOT (SERS-HOTSPOTS):** *surface enhanced Raman Scattering- hotspots.*

**HNSCC:** *Head and neck squamous cell carcinoma*

**IARC:** *International Agency for Research on Cancer*

**IR:** Radiació infraroja

**MAPK:** *Mitogen-activated protein kinases*

**Mdm2:** *murine double minute 2*

**pKa:** *Acid dissociation constant*

**p14ARF:** *Alternate reading frame tumor suppressor*

**p21(WAF1/C1P1):** *Cycling-dependent Kinase inhibitor 1.*

**p53:** Proteïna 53

**p53R2:** *protein 53 ribonucleotide reductase*

**RNA:** Àcid ribonucleic

**SDS-PAGE:** *Sodium Dodecyl Sulfate Polyacryl amide Gel Electrophoresis*

**TP53:** *Tumor protein 53*

**UV:** Radiació ultraviolada

**3D:** Tres dimensions

## 2. INTRODUCCIÓ

La Síndrome<sup>1</sup> de Li Fraumeni (LFS) és una malaltia hereditària que es transmet segons un patró autosòmic dominant (1)<sup>2</sup>.

Una malaltia hereditària (2) és una malaltia que es passa de generació en generació, és a dir, de pares a fills. Les malalties hereditàries poden ser de diferents tipus segons el nombre de gens (3) que afecten. N'hi ha de tres tipus:

- **Alteracions monogèniques:** en aquest cas, només un gen està alterat, i aquestes condicions s'hereten de forma autosòmica o lligada al sexe.
- **Anomalies cromosòmiques:** es produeixen per un excés o bé defecte de material cromosòmic.
- **Alteracions multi factorials:** és la interacció de diversos gens amb el medi ambient, que influeix en l'expressió poligènica.

La LFS és un tipus de malaltia monogènica, en la qual un dels dos progenitors patirà la malaltia i el 50% de la descendència la tindrà.

Un gen és una seqüència lineal de nucleòtids (4) de DNA<sup>3\*</sup>, que és essencial per a fer una funció específica del nostre cos. També és considerat com la unitat d'emmagatzemament d'informació i unitat d'herència en transmetre aquesta informació a la descendència.

En les cèl·lules eucariotes, un gen està format per diferents segments, els quals poden ser exons (5) o introns (6). Els exons són els segments de DNA codificats que contenen informació i que no són eliminats en el procés de transcripció. En canvi, els introns són trossos de DNA que la seva informació no s'arriba a expressar per formar la proteïna, ja que són eliminats en el procés de maduració (7) del RNA\*.

---

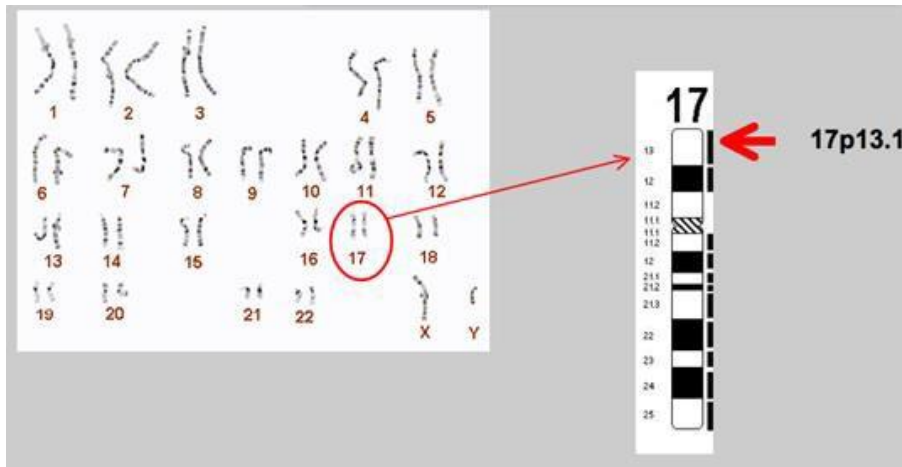
<sup>1</sup> **SÍNDROME:** PAT 1 *Conjunt de símptomes i signes que defineixen clínicament una malaltia.* (Diccionari.cat)

<sup>2</sup>Els conceptes que apareixen numerats tenen la seva corresponent definició al glossari elaborat al final del treball.

<sup>3</sup> Totes les abreviatures es troben explicades a la part inicial d'aquest treball. Seran marcades amb un asterisc(\*)



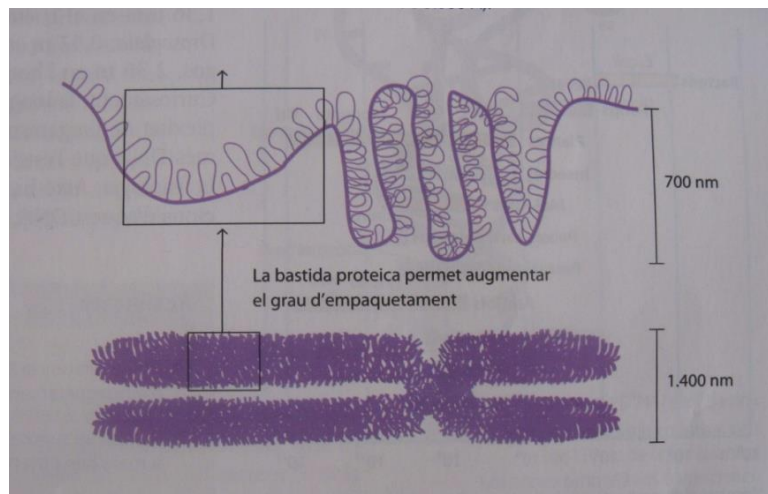
La posició fixa on es troba el gen dins un cromosoma és anomenada *locus* (*loci* en plural). Un DNA codificat en un locus que conté un gen es anomena al·lel<sup>4</sup>. El gen que provoca aquesta malaltia és el gen TP53, i es troba en el cromosoma 17 (**Figura 1**).



**Figura 1:** Localització del gen TP53 dins el cromosoma 17

Font: [http://p53.free.fr/p53\\_info/p53\\_gene.html](http://p53.free.fr/p53_info/p53_gene.html)

La informació genètica que expressen els gens és emmagatzemada en els cromosomes (**Figura 2**). Un cromosoma és cadascun dels petits cossos en forma de bastonets que s'organitzen a la cromatina del nucli cel·lular durant les divisions cel·lulars (mitosi (8) i meiosi (9)) dels organismes eucariotes.



**Figura 2:** Nivells superiors d'empaquetament: els bucles encara s'enrotllen més i formen el cromosoma (1400 nm) Font: <http://webfacil.tinet.cat/adn/82829>

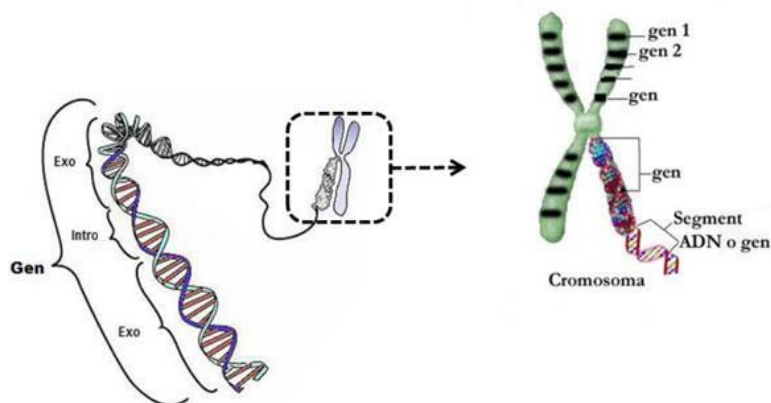
<sup>4</sup>**AL·LEL:** Cadascuna de les formes alternatives que pot presentar un gen que ocupa el mateix lloc en un cromosoma determinat o en dos cromosomes homòlegs, i que expressa diferentment un mateix caràcter. (Diccionari.cat)

La cromatina és un material microscòpic que porta la informació genètica dels organismes eucariotes i està composta de DNA associat a proteïnes especials, anomenades histones<sup>5</sup>. Aquest material es troba al nucli de les cèl·lules eucariotes (10).

Quan el nucli cel·lular comença el procés de divisió (cariocinesi), aquest embull de fils inicia un fenomen de condensació progressiu que finalitza en la formació d'entitats diferenciades i independents, els cromosomes.

El gen TP53 és un gen supressor de tumors<sup>6</sup>, és a dir, corregeix els errors que es formen en la duplicació del DNA alliberant una proteïna, la p53\*. Les proteïnes (11), també denominades polipèptids, són compostos orgànics fets d'aminoàcids units per enllaços peptídics que uneixen els grups funcionals amino (-NH<sub>2</sub>) i carboxil (-COOH). La seqüència d'aminoàcids (12)<sup>7</sup> d'una proteïna és definida per la seqüència d'un gen (**Figura 3**), que està codificada al codi genètic (13).

Els éssers vius emmagatzemen la informació genètica en el DNA, però, en canvi, les proteïnes són expressades a partir de la informació continguda al DNA, que es copiada a RNA per ser traduïda a proteïna. Per passar de DNA a RNA, fan una sèrie de processos, anomenats processos de l'expressió gènica, i que constitueixen el dogma central de la biologia.



**Figura 3:** Estructura d'un gen  
Font: Marta Serrano

<sup>5</sup>**HISTONES:** Nom genèric d'un grup de proteïnes simples, hidrosolubles i de caràcter bàsic, que posseeixen una gran proporció d'aminoàcids bàsics. (Diccionari.cat)

<sup>6</sup>**NEOPLÀSIA:** massa de teixit nou que creix i persisteix independentment dels teixits que l'envolten. (Diccionari.cat)

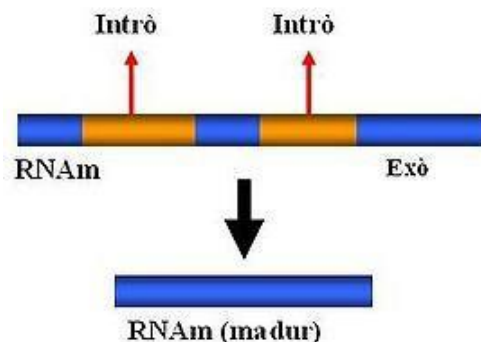
<sup>7</sup> La taula de tots els aminoàcids es troba l'apartat 4.6. Estudi de la proteïna.

## 2.1 PROCESSOS CEL·LULARS DE L'EXPRESSIÓ GÈNICA

Els processos cel·lulars són la duplicació, la transcripció i la traducció.

La **duplicació** és el mecanisme que permet al DNA duplicar-se, és a dir, sintetitzar una còpia idèntica d'ell mateix. D'aquesta manera, d'una molècula de DNA única s'obtenen dues o més repliques de la primera. Aquesta duplicació del material genètic es produeix d'acord amb un mecanisme semi conservatiu, el que indica que les dues cadenes complementàries del DNA original, en separar-se, serveixen de motlle cadascuna per a la síntesi d'una nova cadena complementària de la cadena motlle, de manera que cada nova doble hèlix conté una de les cadenes del DNA original. Gràcies a la complementació entre les bases<sup>8</sup> (Adenina/Timina i Citosina/Guanina) que formen la seqüència de cadascuna de les cadenes, el DNA té la important propietat de reproduir-se idènticament, el que permet que la informació genètica es transmeti d'una cèl·lula mare a les cèl·lules filles. Això és la base de l'herència del material genètic.

La **transcripció** és el procés on les seqüències de DNA són copiades a RNA mitjançant un enzim anomenat RNA polimerasa (14). La transcripció produeix RNA missatger (15) com a primer pas de la síntesi de proteïnes. La transcripció del DNA també podria anomenar-se síntesi del RNA missatger (es produeix al nucli). Aquesta formació del RNAm es fa mitjançant el procés de maduració (Figura 4).

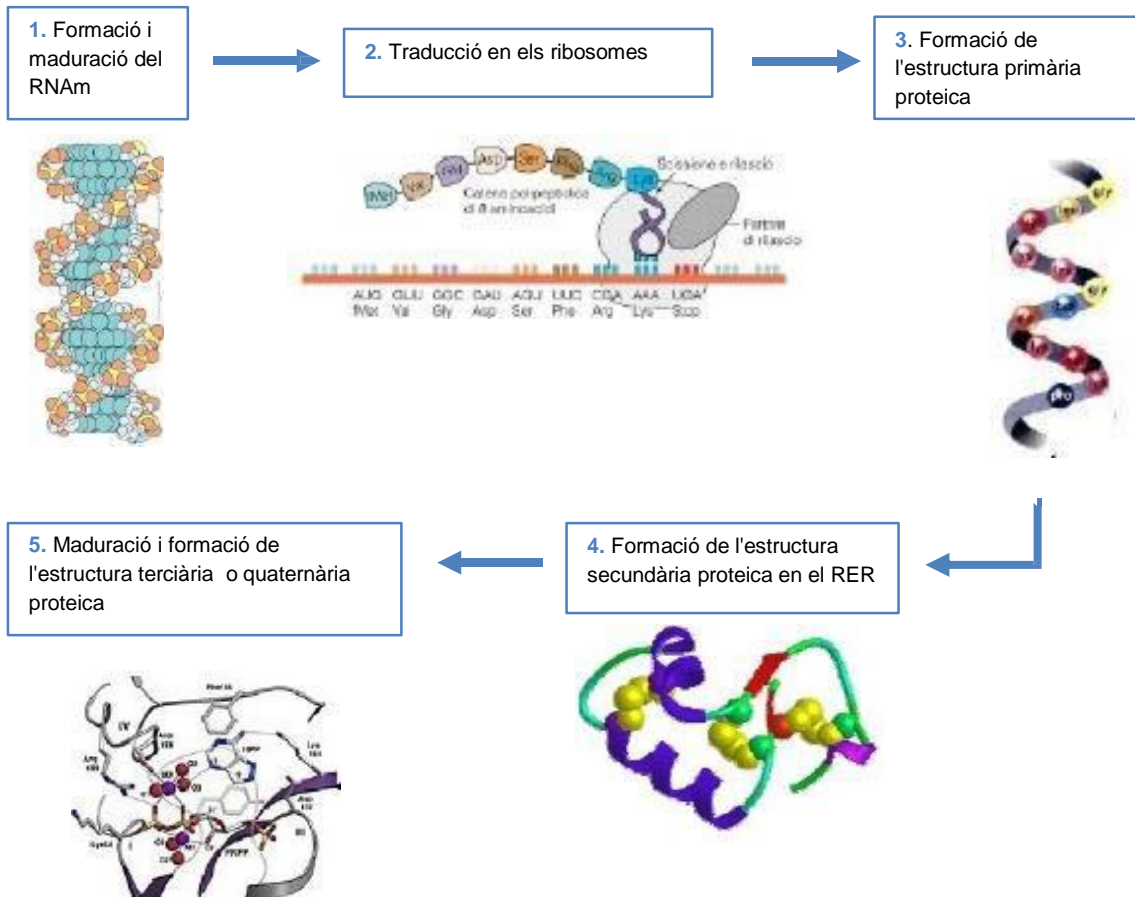


**Figura 4:** Procés de maduració del RNAm  
**Font:** <https://ca.wikipedia.org/wiki/Intr%C3%B3>

A la **traducció**, el RNA missatger (RNAm) produït en la transcripció es descodifica pels ribosomes produint una cadena d'aminoàcids específica o polipèptid, que més tard serà plegada dins una proteïna activa. Als bacteris, la traducció té lloc en el citoplasma. En els eucariotes, la traducció esdevé a través de la membrana del reticle endoplasmàtic en un procés anomenat síntesi vectorial. Molts tipus de RNA transcrit com el RNA de transferència (16), RNA ribosòmic (17) i RNA nuclear (18) no experimenten la traducció a proteïnes.

<sup>8</sup>**BASE NITROGENADA** : és un compost orgànic que deu les propietats de base a un parell solitari d'electrons d'un àtom de nitrogen. (ScienceGraph)

Aquests processos anteriors no són el 100% fiables i, de vegades, pateixen petits errors. A la malaltia de la síndrome de Li Fraumeni, el gen TP53\* està mutat<sup>9</sup> i sintetitza malament la proteïna p53, és a dir, no la fa funcional. Per tant, l'individu és molt propens a desenvolupar tot tipus de càncers (19) i tumors, ja que, si en algun d'aquests processos el DNA es codifica, es duplica o es replica malament (**Figura 5**), la proteïna p53 seria l'encarregada de corregir-los, i com que el gen la sintetitza malament no ho pot fer. Per tant, tenim un gran risc de patir un tumor.



**Figura 5:** Mecanisme d'acció d'un gen

Font: <http://es.slideshare.net/tiotavio/lexpressivitat-gentica>

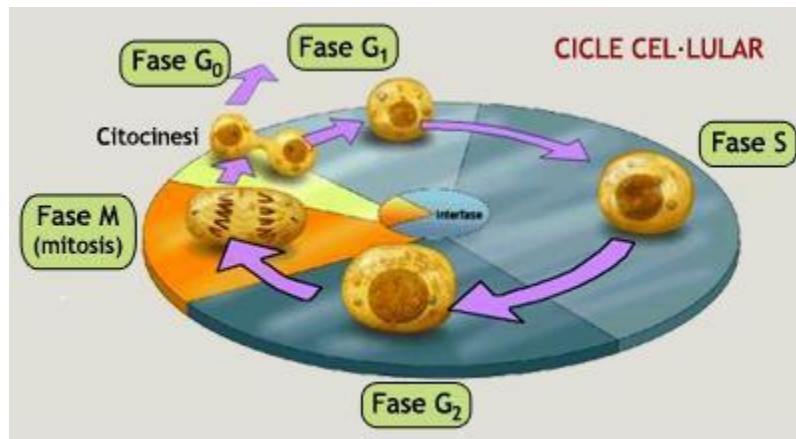
Un tumor és un cúmulo de cèl·lules que es divideixen molt ràpidament sense control. Aquestes cèl·lules perden la seva funció biològica i no fan cap tipus de funció en el nostre organisme, només es divideixen i ocupen espai; per tant, no aturaran mai el seu cicle vital, ni en el G1 ni el G0. Un tumor pot ser benigne o maligne.

<sup>9</sup>Encara que la majoria de mutacions produeixen malalties, hi ha una certa taxa de mutació que pot generar avenços evolutius o ser inòqua.

Un tumor benigne és un conjunt de cèl·lules que es divideixen sense control, però que no tenen la capacitat d'envair o viatjar a altres parts del cos; mentre que, un tumor maligne té una capacitat metastàtica. Això vol dir que pot viatjar pels conductes sanguinis o limfàtics i crear nous tumors a d'altres parts del cos.

## 2.2. EL CICLE CEL·LULAR

Els tumors, siguin del tipus que siguin, deixen de fer el cicle cel·lular (20) (**Figura 6**). El cicle cel·lular és el procés que segueix tota cèl·lula especialment en relació als seus processos de divisió i proliferació, així com els punts de control de pas a cada fase del cicle. Tota cèl·lula prové de la divisió d'una altra cèl·lula. Té dues fases importants, el **procés de no divisió (interfase)** i el **procés de divisió (fase M)**.



**Figura 6:** Cicle cel·lular

**Font:** <https://biolulia.wordpress.com/miscel%C2%B7lania/4-eso-material-antic/3-reproduccio-cel%C2%B7lular/3-3-el-cicle-cel%C2%B7lular/>

El **procés de no divisió (interfase)** es divideix en les següents fases:

- **Fase G<sub>1</sub>:** és una fase de creixement que s'inicia immediatament després de la divisió cel·lular. És una etapa d'intensa activitat metabòlica on els gens es transcriuen i es tradueixen per sintetitzar les proteïnes necessàries per al creixement cel·lular, i on es fa la funció per la qual la cèl·lula ha estat determinada (especialització de la cèl·lula). A més a més, al final d'aquesta fase es produeix el punt de no retorn, al qual si la cèl·lula arriba ha de seguir el cicle cel·lular fins a dividir-se.

- **Fase G0:** en alguns casos, la cèl·lula pot entrar en una fase G0 (des de G1) durant la qual experimenta tota una sèrie de transformacions que porten a la diferenciació cel·lular, de manera que la cèl·lula s'especialitza i únicament utilitza una part del seu genoma(21). Una cèl·lula en G0 no es dividirà. Només en el cas de rebre una senyal exterior, pot tornar a G1 per dividir-se.
- **Fase S:** aquesta és una fase de síntesi i replicació del DNA i finalitza quan el contingut de DNA del nucli s'ha duplicat.
- **Fase G2:** en aquesta etapa, preparatòria per a la mitosi, es transcriuen i es tradueixen certs gens responsables de l'aparició de les proteïnes necessàries per a la divisió cel·lular.

En el **procés de divisió (fase M)**, hi ha dos tipus de divisió: la mitosi i la meiosi.

En la mitosi (**Figura 7 de la pàgina 16**), les mutacions només afecten a l'individu (i no a la descendència, sinó és que tenen lloc en fases primerenques del desenvolupament embrionari, on es veurien afectades la majoria de les cèl·lules i teixits de l'organisme), i es divideix en aquestes etapes:

- **Profase:** els cromosomes es condensen i apareixen tan compactats que es poden veure amb el microscopi. L'embolcall nuclear desapareix i es comença a formar el fus mitòtic<sup>10</sup>, que s'uneix a cada cromosoma i l'ajuda a moure's.
- **Metafase:** els cromosomes s'alineen al centre de la cèl·lula, en la placa equatorial.
- **Anafase:** les dues cromàtides germanes se separen i en resulten dos jocs de cromosomes idèntics.
- **Telofase:** el fus mitòtic es dissol i l'embolcall nuclear es forma de nou al voltant dels dos jocs de cromosomes, un per a cada cèl·lula filla.

En canvi, les mutacions produïdes en la meiosi afecten a la descendència (i no a l'individu). Aquest procés de divisió es fa en dues etapes: primera divisió meiòtica i segona divisió meiòtica.

---

<sup>10</sup>**FUS MITÒTIC:** *Aparell microtubular en forma de fus, format durant la divisió cel·lular, la funció és possibilitar la migració i la correcta separació dels cromosomes en la meiosi o de les cromàtides en la mitosi. Està format per microtúbuls polars, que s'estenen d'un costat a un altre de la cèl·lula, en els quals queden fixats els cromosomes o les cromàtides. A la metafase, aquests queden a la zona intermèdia del fus, també anomenada placa equatorial. En l'anafase, els microtúbuls afavoreixen el desplaçament dels cromosomes, o de les cromàtides, cap als pols de la cèl·lula.* (Wikbio)



La **primera divisió meiótica** segueix les següents fases:

- **Profase I:** comença un cop s'ha duplicat el DNA i es comença a condensar i empaquetar. Els cromosomes homòlegs (22) s'ajunten formant una parella anomenada bivalent o tètrada i es produeix un intercanvi de DNA. Té 5 subfases:
  1. Leptotè: en aquesta fase es produeix la condensació de cromosomes individuals.
  2. Zigotè: els cromosomes homòlegs s'ajunten molt estretament en un procés anomenat sinapsi. S'aparellen fent coincidir cada gen amb el seu homòleg.
  3. Paquitè: es produeix la condensació de cromosomes fins que són més gruixuts i curts. Apareixen els quiasmes (punts d'entrecruament de cromàtides) i té lloc l'intercanvi a l'atzar de material genètic entre cromosomes homòlegs (recombinació genètica<sup>11</sup>).
  4. Diplotè: aquí, continua la condensació, tot i que arriba un punt en què se separen les cromàtides, tot mostrant els quiasmes (23).
  5. Diacinesi: és la condensació màxima de cromosomes. Desapareix el nuclèol i l'embolcall nuclear i s'alliberen els cromosomes al citoplasma.
- **Metafase I:** hi ha una alineació de parells de cromosomes (2n) homòlegs a la placa equatorial del fus meiótic. Les fibres del fus s'uneixen als cinetocors<sup>12</sup> dels cromosomes.
- **Anafase I:** els cromosomes migren cap a cada pol. Cada cromosoma encara té dues cromàtides. Com que s'han produït entrecruaments, les cromàtides ja no són idèntiques entre elles.
- **Telofase I:** es formen els embolcalls nuclears i la citocinesi dona lloc a dues cèl·lules filles que tenen, cadascuna, 23 cromosomes. Cada cromosoma té dues cromàtides, per tant, hi ha un nombre haploide de cromosomes<sup>13</sup>.

---

<sup>11</sup>Aquest concepte és molt important, ja que és el que genera diversitat genètica en la reproducció sexual, fent que els germans tot i ser similars no siguin mai iguals.

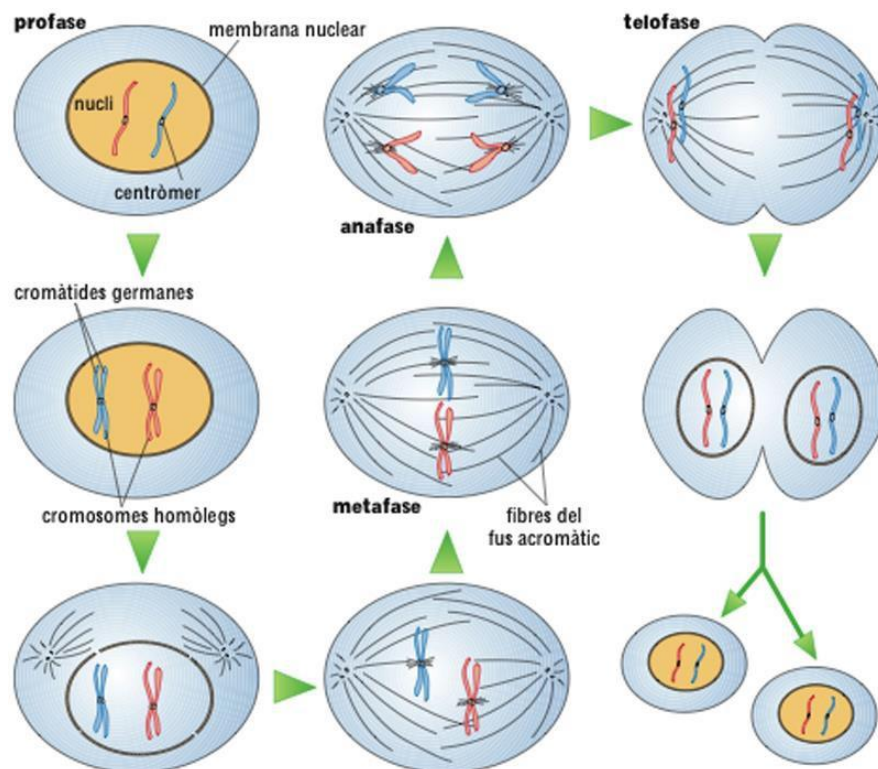
<sup>12</sup>**CINETOCOR:** *és una estructura proteica situada sobre els cromosomes. Sobre aquesta estructura s'ancoren els microtúbuls (MTs) del fus mitòtic durant els processos de divisió cel·lular (meiosi i mitosi).* (Diccionari.cat)

<sup>13</sup>**HAPLOIDE:** *Dit de l'organisme o de la cèl·lula que posseeix una dotació cromosòmica formada per una sola sèrie (n) de cromosomes.* (Diccionari.cat)

La **segona divisió meiótica** es divideix en les següents fases:

- **Profase II:** té lloc la disposició aleatòria dels cromosomes amb dues cromàtides.
- **Metafase II:** els cromosomes es disposen a l'equador de la cèl·lula (placa equatorial).
- **Anafase II:** les dues cromàtides de cada cromosoma se separen i els nous cromosomes fills migren cap als pols oposats.
- **Telofase II:** els cromosomes es desespiralitzen, s'envolten d'un embolcall nuclear, i sorgeixen dos nuclis; produint més tard la divisió del citoplasma.
- **Citocinesi II:** les cèl·lules se separen total i definitivament l'una de l'altra, ja que es produeix la divisió del citoplasma, en els animals mitjançant el procés d'estrangulació<sup>14</sup>.

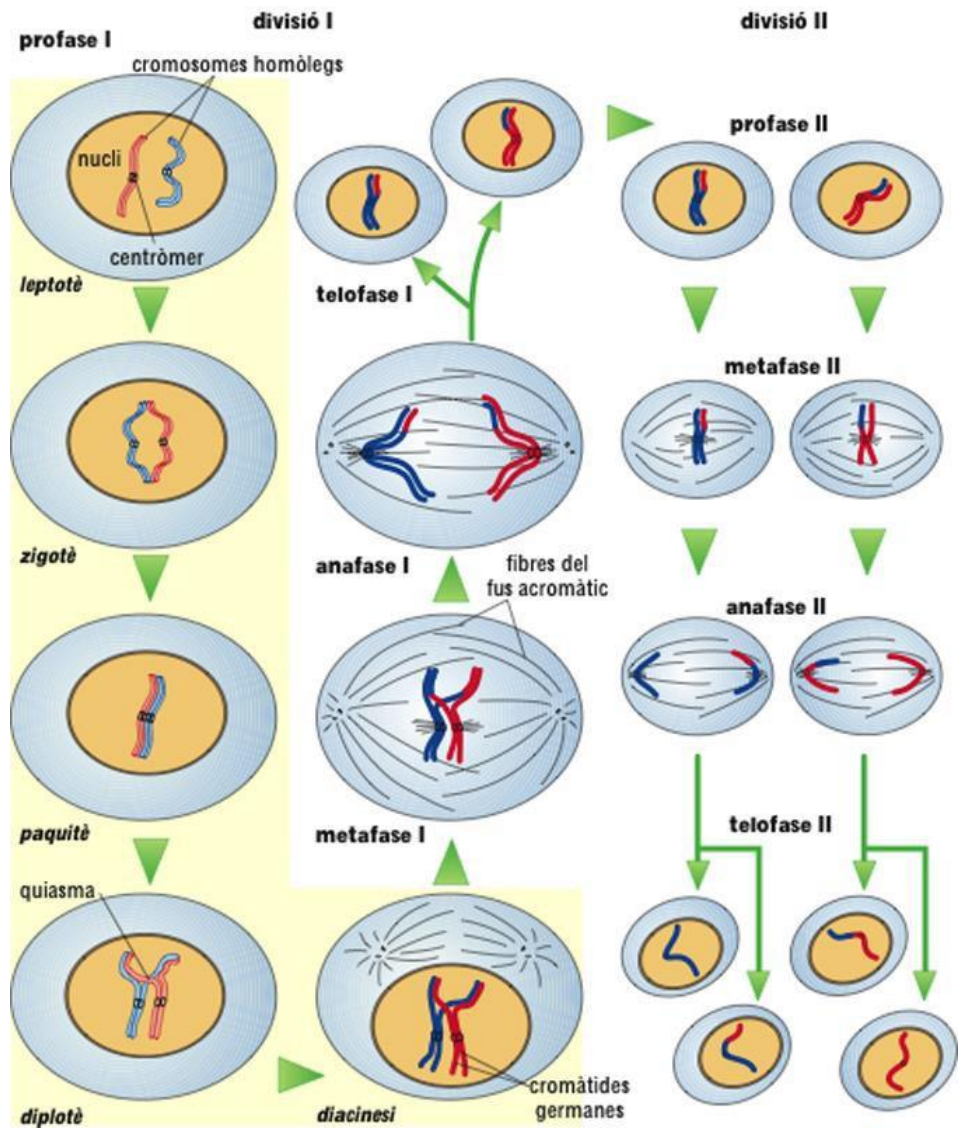
Tot seguit, es mostren els dos processos de forma esquemàtic: mitosi (**Figura 7**) i meiosi (**Figura 8**)



**Figura 7:** Esquema de la divisió cel·lular per mitosi  
**Font:** Fototeca.cat

<sup>14</sup> **PROCÉS D'ESTRANGULACIÓ:** En les cèl·lules animals es produeix una estrangulació que divideix la cèl·lula en dues.





**Figura 8:** Fases successives de la divisió cel·lular d'una meiosi  
**Font:** Fototeca.cat

### 2.3. ELS DESCOBRIDORS

La LFS va ser descoberta per dos científics americans: el Dr. Frederick Pei Li i el Dr. Joseph Fraumeni (**Figura 9**), en el 1969.



**Figura 9:** Frederick Li i Joseph Fraumeni, 1991

**Font:** <http://www.hsph.harvard.edu/> i <https://www.youtube.com/watch?v=RwhVRVKSjAs>

Frederick Pei Li va néixer el 7 maig de 1940 a Canton, Xina, encara que de petit ja va anar a viure als Estats Units. Es va criar a Nova York. Va morir el 12 juny de 2015. Pei Li es va interessar en tot allò relacionat amb el càncer, ja que ell creia que molts càncers que es produeixen venen donats per un factor genètic, com és el cas de la Síndrome de Li Fraumeni. Pei Li va ser guardonat: al 1995, amb el Premi Charles Mott S, per la Cancer Research Foundation Motors; al 1995, amb el Premi a l'Excel·lència de Recerca en Epidemiologia del Càncer i Prevenció; al 1998, amb el Harry i Elsa Jiler Càtedra d'Investigació Clínica, per la Societat Americana del Càncer; i al 1999, amb la Medalla d'Honor d'Investigació Clínica, també per la Societat Americana del Càncer.

Joseph F. Fraumeni va néixer l'1 d'abril de 1933 a Boston. Actualment és metge i investigador sobre el càncer. Fraumeni ha estat reconegut amb nombrosos honors i premis per les seves investigacions sobre els determinants genètics i ambientals del càncer com el Premi Abraham Lilienfeld del Col·legi Americà d'Epidemiologia (1993); el John Snow, Premi de l'Associació Americana de Salut Pública (1995); i el James D. Bruce, Premi del Col·legi Americà de Metges (1997), entre d'altres.

## 3. DESENVOLUPAMENT

### 3.1. HISTÒRIA

La síndrome de Li Fraumeni, com ja hem dit anteriorment, va ser descoberta per el Dr. Frederick Pei Li i el Dr. Joseph Fraumeni. Aquests dos científics, entre el 1960 i el 1964, van avaluar 280 històries clíniques i 418 certificats de defunció de nens diagnosticats amb sarcomes (24) als Estats Units. A diverses famílies se'ls va identificar que el seu segon fill també havia desenvolupat un sarcoma. A més, es va observar una alta freqüència de diversos tipus de càncer entre els familiars adults de primer i segon grau al llarg d'una línia familiar.

Totes aquestes famílies tenien més possibilitats de patir un càncer que la resta de la població. A més de sarcomes de teixits tous i de càncers de mama, també es van observar carcinomes de pulmó, pell, pàncrees o de l'escorça renal, leucèmies i diversos tumors cerebrals. Múltiples tumors primaris metacrònics<sup>15</sup> també van ser diagnosticats a diversos membres de la família.

Com a conseqüència de les conclusions extretes dels estudis clínics, el Dr. Li i el Dr. Fraumeni van investigar 24 famílies on totes les seves generacions anteriors havien patit aquests tipus de símptomes i de càncers. Els dos científics van fer un seguiment de més de vint anys fins que, finalment, al 1990 van poder determinar que aquestes famílies patien una síndrome de càncer familiar no descrita prèviament, produïda per un gen autosòmic dominant. Aquest gen mutant era el TP53, un gen encarregat de la supressió de càncers. Quan aquest gen deixava de fer la seva funció a causa d'una mutació, les persones tenien moltes més possibilitats de patir un càncer. Més concretament, el 79% dels membres de la família patirien un o més d'un càncer abans dels 45 anys.

---

<sup>15</sup>**TUMOR METACRÒNIC:** *es considera metacrònic si es presenta en un període superior a sis mesos.* Mur i Restoy, E, *Incidència i supervivència del càncer de cap i coll a la demarcació de Tarragona (1980-2005)*, urv, Tarragona, 2013, nota 11 de la pàgina 43.

Paral·lelament a tots aquells anys d'estudis, la publicació de diversos descobriments científics sobre la p53 contribuïren a que el Dr. Li i el Dr. Fraumeni tinguessin més informació sobre la proteïna que creava la malaltia (p53):

- La p53 va ser identificada en 1979 per Lionel Crawford, David P. Lane, Arnold Levine i Lloyd Old mentre treballaven per a la *Imperial Cancer Research Foundation* (UK), la Universitat de Princeton/UMDNJ (Institut de Càncer de New Jersey) i Sloan-Kettering Memorial Hospital, respectivament. S'havia plantejat la hipòtesi de la seva existència prèviament com la diana del virus SV40, una soca que induïa el desenvolupament de tumors.
- El gen TP53 del ratolí va ser clonat per primer cop per Peter Chumakov de l'Acadèmia Russa de les Ciències l'any 1982 i, independentment, en 1983 per Moshe Oren en col·laboració amb David Givol (*Weizmann Institute of Science*).
- El gen TP53 humà va ser clonat una mica més tard, en 1984, i la còpia de la seva longitud completa, en 1985. Inicialment, semblava ser un oncogen<sup>16</sup> degut a la utilització de DNAc (cromosòmic) mutat, seguint la purificació del RNAm de cèl·lules tumorals. El seu caràcter com a gen supressor tumoral va ser revelat finalment a l'any 1989 per Bert Vogelstein, treballant al *Johns Hopkins School of Medicine*. Per la seva banda, Warren Maltzman, del *Waksman Institute of Rutgers University* va demostrar que el TP53 era sensible a danys del DNA en forma de radiació ultraviolada. En un seguit de publicacions, entre 1991-1992, Michael Kastan (*Johns Hopkins University*) va indicar que el TP53 era una part fonamental de la via de transducció<sup>17</sup> de senyals que ajudaven a les cèl·lules a respondre danys al DNA. En 1992, Wafik El-Deiry quan treballava amb Bert Vogelstein a la Universitat Johns Hopkins van identificar la seqüència de consens de la p53. La seqüència de consens<sup>18</sup> és 5'-RRRCWWGYYY-N(0-13)-RRRCWWGYYY-3' i està localitzada a les regions regulatòries dels gens que són activats pel factor de transcripció p53.

---

<sup>16</sup>**ONCOGÈN:** Gen alterat per alguna causa o agent divers que pot induir un procés neoplàstic. (Diccionari.cat)

<sup>17</sup>**TRANSDUCCIÓ:** La Transducció o transformació vírica és el procediment pel qual l'ADN és transferit des d'un bacteri cap a un altre bacteri gràcies a un virus del tipus bacteriòfag. (Free definitions by Babylon)

<sup>18</sup>**SEQÜÈNCIA DE CONSENS:** Seqüència ideal que representen els nucleòtids o aminoàcids que es troben amb major freqüència en cada posició d'un fragment de DNA o d'una proteïna, respectivament. (Wikbio)

### 3.2. GEN TP53

El gen TP53 es troba en el braç curt del cromosoma 17, i és l'encarregat de produir la famosa p53. És un gen que atura el cicle cel·lular en cas de mutació. Si aquest gen és defectuós, pot provocar que les cèl·lules anormals es reproduïxin donant lloc a diferents tipus de càncers. Es creu que aquest gen i el seu producte proteic (la p53) provoquen una mica més del 50% dels càncers humans.

El gen TP53, en els mamífers, té la següent estructura:

- Un intró, situat entre els exons 1 i 2, de funció biològica desconeguda actualment.
- El exó 1 és sempre no codificant. S'ha demostrat que aquesta regió podria formar una estructura estable de llaç que uneix fermament l'al·lel p53 en estat normal, però no a l'al·lel p53 mutant. Aquesta unió inhibeix específicament la traducció del RNAm i podria proporcionar els mitjans per al control del nivell de la proteïna p53 en la cèl·lula.

El gen TP53 i el factor de transcripció de la seva proteïna p53 tenen varies funcions:

1. **Detenció del cicle cel·lular:** el gen TP53 frena el cicle cel·lular de la cèl·lula en el punt de control G1, S o G2 quan es reconeix algun tipus de dany en el DNA. Això ho fa per evitar la replicació d'aquest DNA mal codificat. Aquesta acció es pot considerar la resposta principal quan es produeix dany en el DNA. La detenció del cicle cel·lular en la transició G1/S es deu a la transcripció (gràcies a la p53) d'un inhibidor (25), el CDKs\*. Aquest inhibidor impedeix la progressió de la cèl·lula cap a la fase S (que fa la síntesi del DNA). Aquesta "pausa" en la progressió del cicle cel·lular dona temps a reparar els danys produïts en el DNA.
2. **Activació d'enzims de reparació (26) del DNA:** la p53 (**Figura 9 de la pàgina 21**) activa els enzims de reparació del DNA per corregir els danys detectats.
  - Reductasa<sup>19</sup>ribonucleòtica: responsable de la codificació del gen p53R2\*, juga un important paper en la replicació i reparació del DNA.
  - Endonucleasa<sup>20</sup>AP i DNA polimerasa (27): tenen una implicació directa en la reparació per escissió.

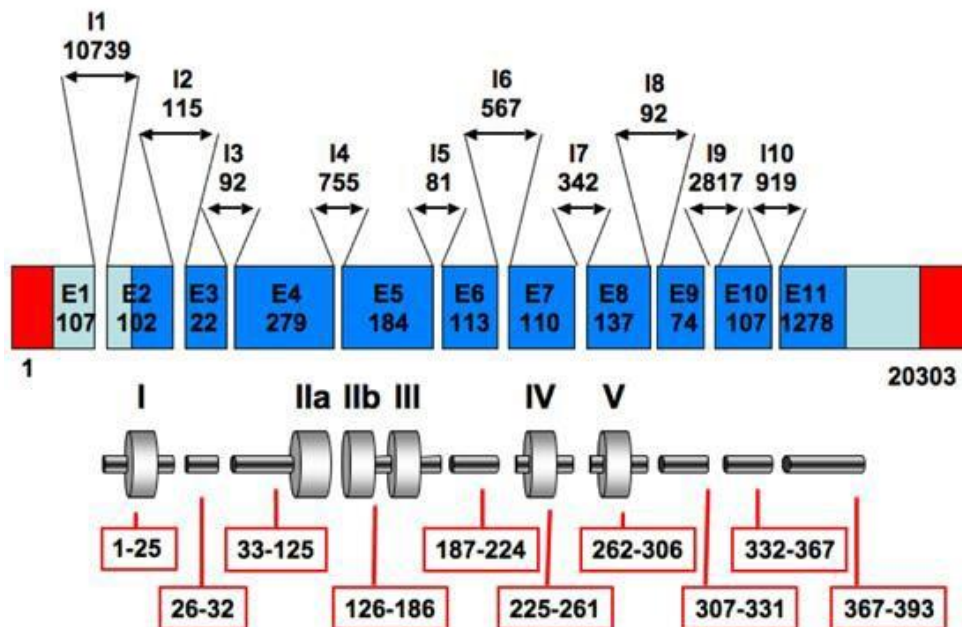
---

<sup>19</sup>**REDUCTASA:** Enzim reductor produït per la flora microbiana de la llet, la proporció del qual és un índex de l'estat sanitari de la llet. (Diccionari.cat)



D'altra banda, la p53 també induïx certes proteïnes, com la GADD45\* (que deté el cicle cel·lular), que col·laboren en la reparació del DNA. Si el dany es repara correctament, la p53 estimula la síntesi de Mdm2\*, activant la seva autodestrucció i la progressió en el cicle cel·lular. Si el dany no pot ser reparat, la cèl·lula pot entrar en apoptosi o en senescència, totes dues induïdes per la p53.

3. **Entrada en senescència (28):** el procés de senescència és una parada permanent en el cicle cel·lular, caracteritzada per canvis específics en la morfologia i en l'expressió gènica. L'entrada en senescència requereix l'activació de la p53 i l'expressió de mediadors, com inhibidors de CDK (enzim que regula el correcte funcionament del cicle cel·lular). Sol ser irreversible. Els canvis que es produeixen no es comprenen encara, però semblen implicar modificacions epigenètiques (29) de la cromatina, com la formació de blocs d'heterocromatina en diferents *loci*.
4. **Activació de l'apoptosi (30):** l'entrada en apoptosi és l'últim mecanisme protector, si el dany en el DNA ja és irreparable, per evitar la proliferació de les cèl·lules que contenen el DNA anormal. La proteïna p53 activa una sèrie de gens que destrueixen la cèl·lula. No obstant això, no està clar com decideix la cèl·lula si ha de reparar el seu DNA o entrar en apoptosi.



**Figura 10:** Organització estructural de la p53  
**Font:** [http://p53.free.fr/p53\\_info/p53\\_gene.html](http://p53.free.fr/p53_info/p53_gene.html)

<sup>20</sup> **ENDONUCLEASA:** IOQ/BIOTEC 1 Enzim que escindeix internament un àcid nucleic. (Diccionari.cat)

### 3.3. LA PROTEÏNA P53

La p53, coneguda com a proteïna 53 o proteïna tumor 53, és una proteïna supressora tumoral que en humans és codificada pel gen TP53. Aquesta proteïna és crucial en organismes pluricel·lulars, ja que regula el cicle cel·lular de les cèl·lules i, d'aquesta manera, funciona com a supressora tumoral. Per tant, està implicada en la prevenció del càncer. Per aquest motiu, la p53 ha estat descrita com a “la guardiana del genoma”, referint-se al seu rol com a conservadora de l'estabilitat, prevenint la mutació del genoma. El nom “p53” fa referència a la seva aparent massa molecular: mitjançant la tècnica de SDS-PAGE\* s'obté que és una proteïna de 53 quilo Daltons (kDa).

#### I. ESTRUCTURA

La proteïna p53 humana està composta de 393 aminoàcids i té set dominis proteics (31) (**Figura 10 de la pàgina 22**):

- Un domini N-terminal acídic d'activació de la transcripció (TAD), també conegut com a domini d'activació 1 (AD1), que activa els factors de transcripció: residus 1-42.
- Domini d'activació 2 (AD2), important per l'activitat apoptòtica: residus del 43 al 63.
- Domini ric en prolina, important per l'activitat apoptòtica de la p53: residus 64-92.
- Domini central DNA vinculant (DBD). Conté un àtom de zinc i diverses arginines: residus 100-300. Aquesta regió és responsable de reconèixer la seqüència específica del DNA.
- Domini de senyalització de la localització nuclear: residus 316-325.
- Domini de homo-oligomerització (OD): residus 307-355.
- Un domini carboxil terminal (C-) implicat en la disminució de la quantitat de DNA vinculant del domini central a la cèl·lula: residus 356-393.

En la seva forma activa, la proteïna p53 és un tetràmer, és a dir, està format per quatre còpies idèntiques de proteïnes unides entre sí, que té quatre dominis amb funcions diferenciades: activació de la transcripció, unió al DNA, tetramerització i regulació. El domini de tetramerització és el responsable d'estabilitzar la seva estructura tetramèrica.

En el càncer, les mutacions que desactiven la p53 normalment succeeixen en el DBD. La majoria de les mutacions destrueixen l'habilitat de la proteïna d'enllaçar-se amb la seqüència de DNA, que és el seu objectiu. Les mutacions en el DBD són recessives i sense funcionalitat.

Les molècules de p53 amb mutacions al OD dimeritzen<sup>21</sup> amb la p53 salvatge i les prevenen d'activar la transcripció. Per tant, les mutacions al OD tenen un efecte dominant negatiu sobre la funció de la p53. La p53 salvatge és una proteïna amb alta labilitat<sup>22</sup>, que consta de regions no estructurades i plegades que funcionen de manera sinèrgica.

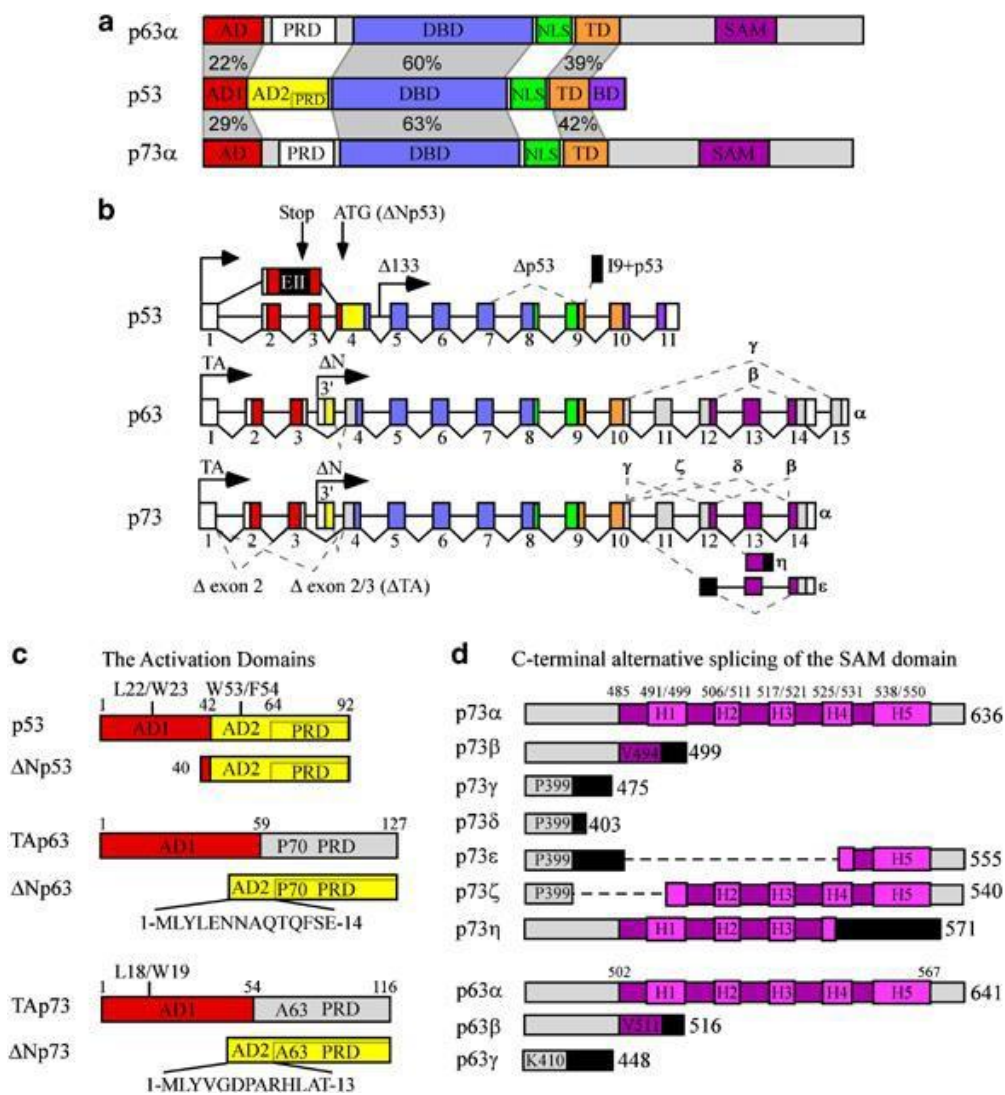


Figura 11: Domini funcional p53 Font:

[http://www.nature.com/cdd/journal/v13/n6/fig\\_tab/4401904f1.html](http://www.nature.com/cdd/journal/v13/n6/fig_tab/4401904f1.html)

<sup>21</sup>**DIMERITZAR:** Fer que (dues molècules d'un mateix compost químic) es combinin i en donin una de doble. (Diccionari.cat.)

<sup>22</sup>**ALTA LABILITAT:** Dit d'aquelles substàncies o composts químics que es descomponen amb facilitat. (Diccionari.cat.)



## II. FUNCIO

La p53 té molts mecanismes de funció contra el càncer i té un paper important en l'apoptosi, en l'estabilitat genòmica i en la inhibició d'angiogènesis<sup>23</sup>.

En el seu paper contra el càncer, la p53 treballa mitjançant diversos mecanismes (Figura 11):

- Pot activar proteïnes de reparació del DNA quan aquest ha patit danys.
- Pot induir l'aturada del creixement mantenint el cicle cel·lular al punt de regulació G<sub>1</sub>/S al reconèixer DNA danyat. (Si manté la cèl·lula en aquest punt durant molt de temps, les proteïnes reparadores del DNA tindran temps de reparar el dany i la cèl·lula podrà continuar el cicle cel·lular).
- Pot iniciar l'apoptosi, la mort programada de la cèl·lula, si el dany del DNA ha resultat ser irreparable.

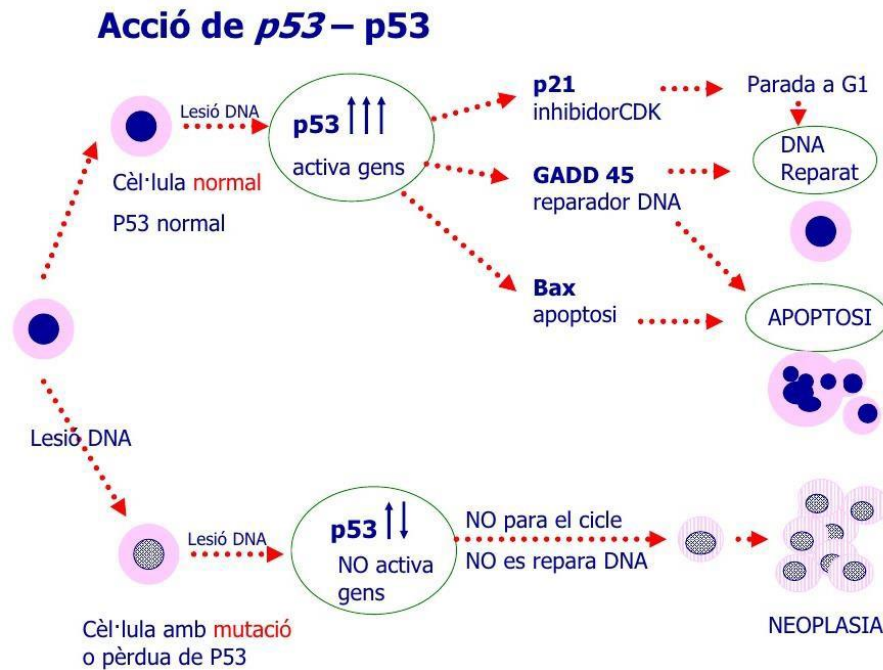
## III. FUNCIONAMENT

La p53 activada s'uneix al DNA (**Figura 11 de la pàgina 24**) i activa l'expressió d'un gen, com el WAF1\*o el C1P1\*. Aquests codifiquen la p21\*. La p21 s'uneix als complexos G<sub>1</sub>-S/CDK i S/CDK (molècules importants per la transició G<sub>1</sub>/S del cicle cel·lular) inhibint la seva activitat.

Quan la p21 (WAF1) forma un complex amb CDK2\*, la cèl·lula no pot continuar cap al següent pas de la divisió cel·lular. Una p53 mutant no s'unirà el DNA d'una forma efectiva i, com a conseqüència, la proteïna p21 no serà capaç d'actuar com a "senyal de stop" per a la divisió cel·lular. Així, la cèl·lula es dividirà incontrolablement i formarà tumors.

---

<sup>23</sup>**ANGIOGENESIS:** *Desenvolupament embrionari dels vasos sanguinis.* (Diccionari.cat.)



**Figura 12:**Funcionament p53 normal i p53 mutant **Font:**  
<http://www.slideshare.net/conchivillanueva/neoplasies-20910vv-4516369>

#### IV. REGULACIÓ

La p53 s'activa en resposta a una gran varietat de tipus d'estrès com, per exemple, danys en el DNA (induït per UV\*, IR\* o agents químics), l'estrès oxidatiu, el xoc osmòtic, l'esgotament del ribonucleòtid i la desregulació de l'expressió d'oncògens.

Aquesta activació està marcada per dos esdeveniments:

- En primer lloc, la vida mitjana de la proteïna p53 s'incrementa dràsticament, donant lloc a una ràpida acumulació de p53 en cèl·lules que han patit alguna agressió cel·lular (estrès).
- En segon lloc, un canvi obliga a la p53 a ser activada com un regulador de transcripció en aquestes cèl·lules. L'esdeveniment crític que porta a l'activació de la p53 és la fosforilació<sup>24</sup> del seu domini N-terminal. El domini d'activació transcripcional N-terminal conté un gran nombre de llocs de fosforilació i pot ser considerat com la principal diana per a les proteïnes cinases transductores<sup>25</sup> de senyals d'estrès.

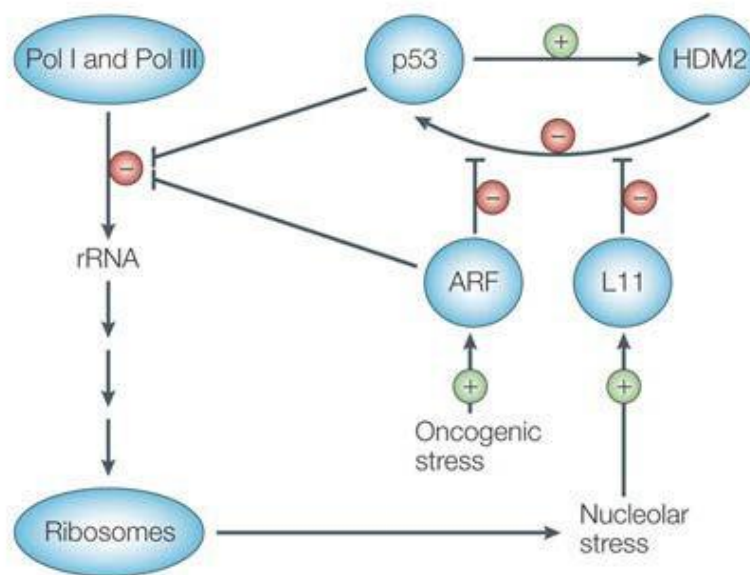
<sup>24</sup>**FOSFORILACIÓ:** Incorporació d'un grup fosfat a una molècula. (Diccionari.cat.)

<sup>25</sup> **PROTEÏNES TRANSDUCTORES:** són molècules que són activades i a la vegada elles activaran a unes altres proteïnes per transmetre el senyal.

Aquestes proteïnes són conegudes per marcar aquest domini d'activació de la transcripció de la p53. Poden ser dividides en dos grups:

- Un primer grup de proteïnes cinases pertany a la família MAPK\*, la qual és coneguda de respondre a diferents tipus d'estrès, tals com danys de la membrana, estrès oxidatiu, xoc osmòtic, xoc tèrmic, etc.
- Un segon grup de proteïna cinases (ATR\*, ATM\*, CHK1\* i CHK2\*, DNA-PK\*, CAK\*) està implicat en el lloc de control de la integritat del genoma, una cascada molecular que detecta i respon a les diverses formes de dany en el DNA causat per l'estrès genotòxic.

Els oncògens, al seu temps, també estimulen l'activació de la p53, regulada per la proteïna p14ARF\*(**Figura 13**). En cèl·lules no estressades, els nivells de p53 es mantenen baixos mitjançant una degradació d'aquesta proteïna. Una proteïna anomenada HDM2 (la qual és, al seu torn, un producte de la p53) s'uneix a la p53 evitant la seva acció i la transporta des del nucli cel·lular fins al citosol.



**Figura 13:** Interacció molecular

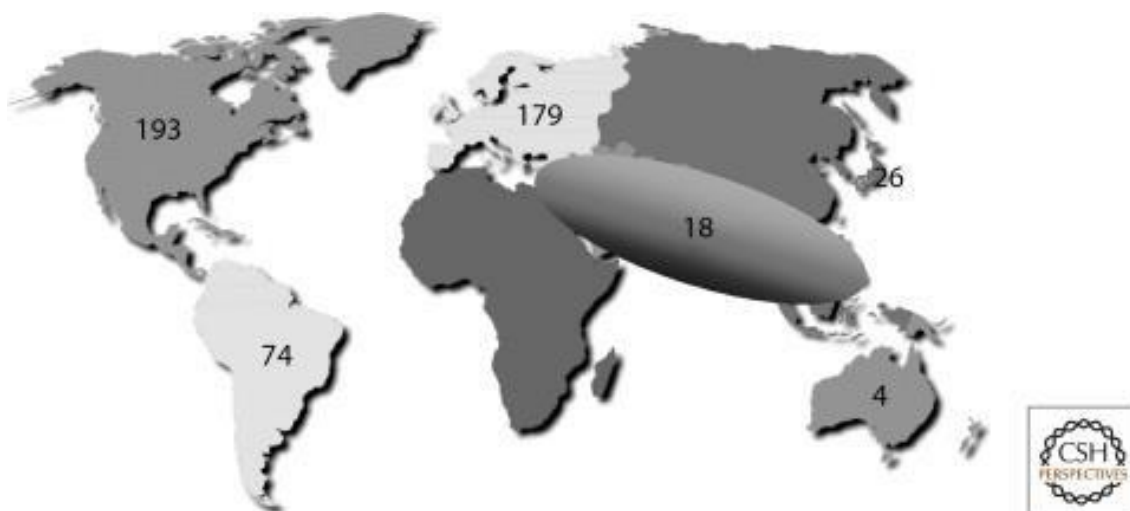
Font:[http://www.nature.com/nrm/journal/v6/n1/fig\\_tab/nrm1551\\_F3.html](http://www.nature.com/nrm/journal/v6/n1/fig_tab/nrm1551_F3.html)

### 3.4. POSSIBLES MUTACIONS TP53

Les mutacions germinals en el TP53 són la causa que dona lloc a la síndrome de Li Fraumeni, una malaltia hereditària que causa diferents tumors d'aparició primerenca incloent-hi: sarcomes, càncer de mama, tumors cerebrals i carcinomes de l'escorça suprarenal (32), entre d'altres. En els últims 20 anys, s'han detectat unes 500 famílies o individus amb mutacions en la línia germinal del TP53 (**Figura 14**).

La LFS ha estat considerada una síndrome poc freqüent. No obstant això, la detecció d'una mutació germinal del TP53 en pacients amb càncer de mama d'inici primerenc i que no han estat seleccionats per a la història familiar ha demostrat que hi ha mutacions del gen TP53 en el 2%-3% dels casos. En canvi, l'estudi de 525 pacients amb qualsevol tipus de càncer amb antecedents familiars ha identificat 91 mutacions (17,3%) en el gen TP53. Basant-se en aquests resultats, la mutació TP53 pot contribuir a un màxim de 17% de tots els casos de càncer familiar.

Els estudis<sup>26</sup> realitzats al sud del Brasil han identificat moltes famílies amb una mutació fundadora (33) (R337H) (informació ampliada en l'apartat de mutació posició 337). Per tant, les mutacions germinals en el TP53 poden ser més comunes del que prèviament es podia pensar, ja que tenen lloc en aproximadament 1 de cada 5.000 a 1 de cada 20.000 naixements.



**Figura 14:** Distribució geogràfica de les mutacions del TP53 en línia germinal. Número de famílies amb mutació germinal del TP53 en cada regió del món. **Font:** Les dades de la Base de Dades de la IARC TP53 (R13, novembre de 2008)

<sup>26</sup> L'article que he fet servir com fons documental: CURY, N.M; FERRAZ, Y.E; SILVA W.A. Jr. "TP53 p.R337H prevalence in a series of Brazilian hereditary breast cancer families", en *Hereditary Cancer in Clinical Practice*, 2014.

El gen TP53 pot mutar de diferents maneres i en formes molt diferents. Cada tipus de càncer té una mutació del gen TP53 i de la seva proteïna, la p53.

A continuació, s'indiquen algunes d'aquestes mutacions:

- **Càncer de mama:** els canvis hereditaris en el gen TP53 augmenten considerablement el risc de desenvolupar càncer de mama, així com diversos altres tipus de càncer. Aquestes mutacions es creu que representen només una petita fracció de tots els casos de càncer de mama. En canvi, en comparació amb els càncers de mama sense mutacions en el gen TP53, els tumors amb aquests canvis genètics tendeixen a tenir un pitjor pronòstic. Aquest tipus de càncers són més propensos a ser agressius, ser resistents al tractament amb certs medicaments contra el càncer i la radiació, i poden tornar a aparèixer (recurrència<sup>27</sup>) després del tractament.
- **Mutacions somàtiques:** les mutacions no hereditàries en el gen TP53 són molt més comunes que les mutacions heretades. Aquestes mutacions somàtiques s'adquireixen durant la vida d'una persona i són presents només en les cèl·lules que es converteixen en canceroses. Els càncers associats amb mutacions somàtiques no es produeixen com a part d'una síndrome de càncer. La majoria d'aquestes mutacions canvien els blocs de construcció de proteïnes individuals (aminoàcids) en la proteïna p53, que redueix o elimina la funció supressora de tumors de la proteïna. A causa que la proteïna alterada és menys capaç de regular el creixement i la divisió cel·lular, el dany del DNA es pot acumular. Aquest dany pot contribuir al desenvolupament d'un tumor cancerós, permetent que les cèl·lules creixin i es divideixin de manera descontrolada.
- **Càncer de bufeta:** la majoria de les mutacions somàtiques en aquest tipus de càncer que afecten al gen TP53 canvien els aminoàcids individuals en la p53. La proteïna alterada no pot unir-se al DNA, evitant que aquesta reguli eficaçment el creixement i la divisió cel·lular. Com a resultat, el dany del DNA s'acumula en les cèl·lules, el que pot permetre que creixin i es divideixin de forma incontrolada per formar un tumor cancerós. Les mutacions en el gen TP53 poden ajudar a predir si el càncer de bufeta progressarà i s'estendrà als teixits propers, i si la malaltia reapareixerà després del tractament.

---

<sup>27</sup>**RECURRÈNCIA:** PAT. *Reaparició dels símptomes d'una malaltia aparentment guarida, sense cap nou contacte patogen.* (Diccionari.cat.)

- **Cap i coll, carcinoma de cèl·lules escamoses:** gairebé en la meitat de tots els carcinomes de cèl·lules escamoses de cap i coll (CECC) s'han trobat mutacions somàtiques del gen TP53. Aquest tipus de tumor cancerós es produeix en el revestiment humit de la boca, el nas i la gola. La majoria de les mutacions del gen TP53 implicats en HNSCC\* canvien els aminoàcids individuals en la p53 implicant l'alteració de la funció de la proteïna. Sense el funcionament de la p53, el dany en el DNA s'acumula en les cèl·lules, i aquestes poden continuar dividint-se sense control, donant lloc a la formació de tumors.
- **Síndrome de Li-Fraumeni:** tot i que les mutacions somàtiques en el gen TP53 es troben en molts tipus de càncer, la síndrome de Li-Fraumeni sembla ser l'únic síndrome de càncer associat amb mutacions heretades en aquest gen. Aquesta condició augmenta en gran mesura el risc de desenvolupar diversos tipus de càncer, especialment en nens i adults joves. Almenys 140 mutacions diferents en el gen TP53 s'han identificat en individus amb síndrome de Li-Fraumeni.

Moltes de les mutacions associades amb la síndrome de Li-Fraumeni es produeixen en el canvi d'aminoàcids individuals en el domini de la proteïna p53 que s'uneix al DNA. Altres mutacions són produïdes en eliminar petites quantitats de DNA a partir del gen TP53. Les mutacions en el gen TP53 deriven a una versió de la p53 que no pot regular el creixement i la divisió cel·lular de manera efectiva. La proteïna alterada no és capaç de desencadenar l'apoptosi en cèl·lules amb DNA mutat o danyat. Com a resultat, el dany del DNA pot acumular-se en les cèl·lules. Aquestes cèl·lules poden continuar dividint-se de forma incontrolada, el que condueix al creixement de tumors.

Podem concloure doncs, que tots els tumors derivats de mutacions somàtiques, deriven de canvis d'aminoàcids individuals en la proteïna p53, però únicament en la síndrome de Li-Fraumeni, aquests són hereditaris. Seguidament, es mostra en un annex una taula amb totes les mutacions de la p53 que provoquen la Síndrome de Li Fraumeni, extretes de:

<http://www.uniprot.org/uniprot/P04637><sup>28</sup>

---

<sup>28</sup> Veure annex 1 de les pàgines 87-90

- **Altres tipus de càncer associats amb el gen TP53:** les mutacions somàtiques en el gen TP53 són els canvis genètics més comuns que es troben en el càncer humà, ja que passen en aproximadament la meitat de tots els càncers. A més dels càncers descrits anteriorment, les mutacions somàtiques del gen TP53 han estat identificades en diversos tipus de tumors cerebrals, càncers colorectals, càncers de fetge, càncers de pulmó, un tipus de càncer d'os anomenat osteosarcoma, un càncer del teixit muscular anomenat rabdomioma, i un càncer anomenat carcinoma adrenocortical que afecta la capa exterior de les glàndules suprarenals<sup>29</sup>.

La majoria de les mutacions TP53 canvien els aminoàcids individuals en la proteïna p53, el que condueix a la producció d'una versió alterada de la proteïna que no poden controlar el creixement cel·lular i la divisió efectiva. Com a resultat, les cèl·lules poden créixer i dividir-se d'una manera no regulada, que pot conduir a tumors cancerosos.

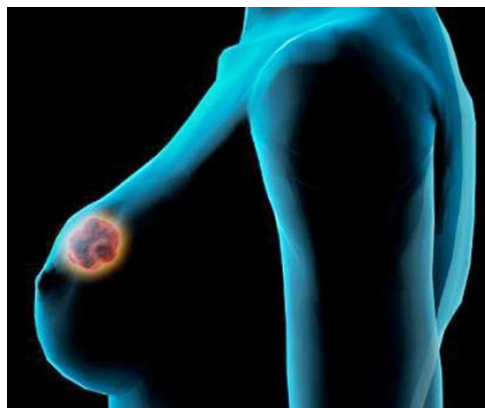
---

<sup>29</sup>**GLÀNDULES SUPRARENALS:** *Petites glàndules productores d'hormones a la part superior de cada ronyó.* (Diccionari.cat.)

### 3.5. TIPUS DE CÀNCERS EN LFS

Encara que molts tipus de tumors es poden observar en pacients amb LFS, hi ha quatre càncers principals o majoritaris: càncer de mama, sarcoma, càncer cerebral i el carcinoma de l'escorça suprarenal. Aquests càncers representen al voltant del 80% dels tumors que pot produir aquesta malaltia.

- **Càncer de mama (25%):** representa al voltant del 25-30% de tots els tumors associats la LFS. El càncer de mama (**Figura 15**), si és diagnosticat abans dels 30/35 anys d'edat en una dona amb antecedents familiars que hagin tingut el síndrome de Li Fraumeni, té una probabilitat molt alta que el càncer estarà produït per una mutació germinal del gen TP53, és a dir, que el malalt també patirà aquesta síndrome. A més a més, les dones amb càncer de mama associat a aquesta malaltia (LFS), en el moment del diagnòstic inicial, tendeixen a presentar tumors molt avançats, és a dir, majors de 5 cm, i ho pateixen en una edat més jove del normal (quan tenen entre 20 i 30 anys).



**Figura 15:** Càncer de mama **Font:** <http://vidaabuelo.com/blog/cancer-de-mama-parte-2/>

- **Sarcomes (26%):** representen un altre 25-30% de tots els tumors associats a la LFS. Múltiples tipus de sarcomes (**Figura 16**) de teixits tous i l'osteosarcoma s'associen amb aquesta malaltia. Ara bé, hi ha altres tipus de sarcomes, com el sarcoma d'Ewing, els tumors de cèl·lules de l'estroma gastrointestinal (GIST), els tumors desmoides o els angiosarcomes que no s'han donat en aquesta síndrome. Un estudi recent compara els sarcomes diagnosticats en els portadors de mutacions de TP53 respecte els sarcomes diagnosticats a la gent normal. Es va trobar que el 67% dels sarcomes en portadors de mutacions de TP53 es produeixen abans de l'edat dels 20 anys, en comparació amb els que pateixen les persones sense aquesta malaltia en aquesta edat, que representen el 11,9%. En canvi, en els portadors del TP53 mutant, només el

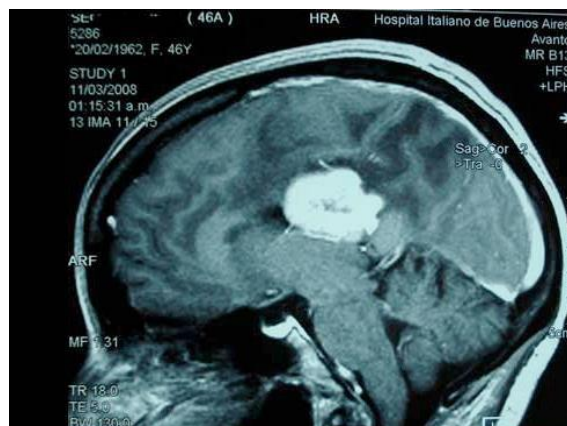


4,4% dels sarcomes es produeixen després dels 50 anys d'edat, mentre que a la gent normal, el 62,7% dels sarcomes van ser diagnosticats després dels 50 anys. La distribució per edats dels sarcomes en els portadors de mutacions de TP53 és bifàsica, amb un pic en la infància i un altre entre les edats de 20 i 40.



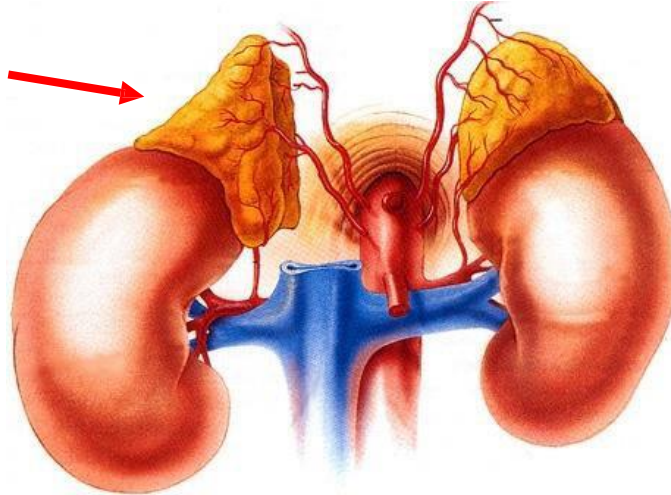
**Figura 16:** Sarcoma Font: <http://www.drugs.com/mcd/soft-tissue-sarcoma>

- **Tumors cerebrals (13%):** Es produeixen entre el 9% i el 16% dels individus amb mutacions de TP53. Els tumors glioblastomes i els astrocitomes són els més comuns, encara que també es poden produir tumors com els medul·loblastoma, tumors neuroectodèrmics, tumors primitius supratentorials i els tumors del plexe coroideu. Igual que amb els càncers de sarcoma, sembla que hi ha una distribució per edats bifàsica dels tumors cerebrals en els pacients amb mutacions de TP53. Els moments amb la taxa més alta de patir un tumor cerebral (**Figura 17**) és abans dels 10 anys i després dels 20 anys d'edat.



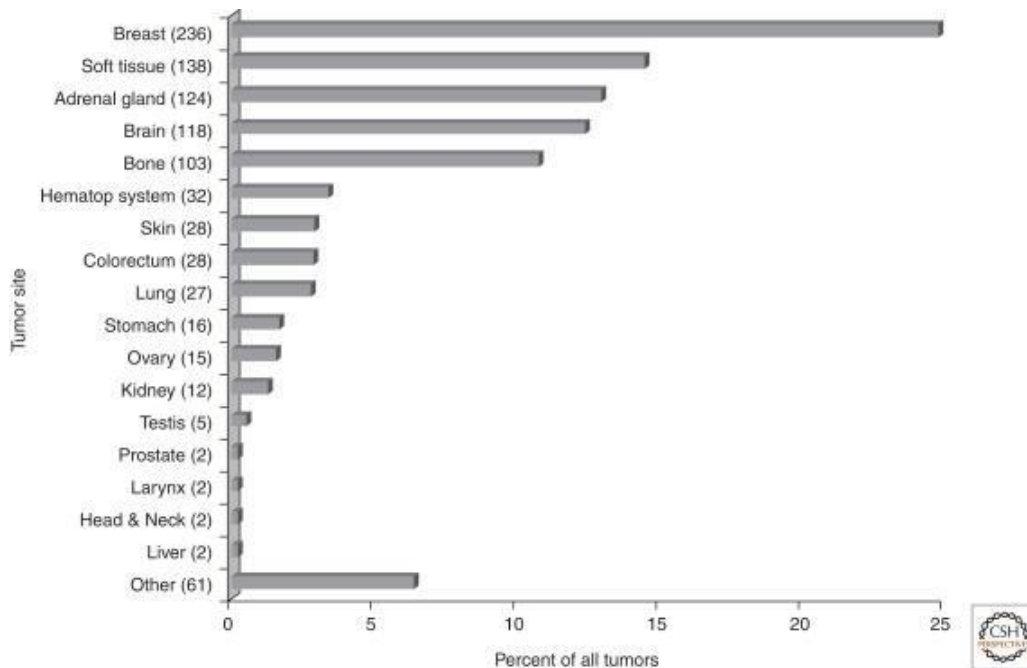
**Figura 17:** Tumor cerebral Font: <http://www.educacionyculturaaz.com/tag/tumor-cerebral>

- **Carcinoma de l'escorça suprarenal (ACC) (13,4%):** representa entre el 10% i el 14% dels càncers en els portadors de mutacions de TP53 que donen lloc al síndrome de Li Fraumeni. Mentre que en altres tipus de càncers provocats per aquesta malaltia s'han detectat pics d'edat on hi ha més possibilitats de generar-se aquell tipus de tumor, en el cas dels tumors en el carcinoma de l'escorça suprarenal (**Figura 18**) s'ha diagnosticat una àmplia gamma d'edats.



**Figura 18:** Carcinoma de l'escorça suprarenal **Font:**  
[http://codigosgrabovoi.blogspot.com.es/2015/08/blog-post\\_98.html](http://codigosgrabovoi.blogspot.com.es/2015/08/blog-post_98.html)

En el següent gràfic (**Figura 19**) es mostra el número de casos de càncers que produeix la malaltia:



**Figura19:** Espectre tumoral en individus amb una mutació germinal en el TP53. **Font:** Les dades de la base de dades IARC TP53 línia germinal (R13, novembre de 2008)

### 3.6. CÒM ES DIAGNOSTICA LA LFS

La LFS clàssica es diagnostica quan una persona reuneix les següents condicions:

- Un sarcoma diagnosticat abans dels 45 anys.
- Un parent de primer grau, és a dir, un pare, germà o fill, amb qualsevol tipus de càncer abans dels 45 anys.
- Un parent de primer grau o segon grau, és a dir, un avi/a, oncle, tieta, nebot/da o nét/a, amb qualsevol tipus de càncer abans dels 45 anys d'edat o un sarcoma a qualsevol edat.

Els **critèris Chompret**<sup>30</sup> per a la LFS són un conjunt recent de criteris que s'han proposat per identificar les famílies afectades més enllà dels criteris clàssics esmentats anteriorment, ajudant a realitzar un millor diagnòstic clínic.

A qualsevol persona amb una història personal i familiar que compleix un dels tres criteris següents se li aplicarà un diagnòstic de la LFS i se li realitzaran proves per saber si existeix alguna mutació al gen TP53.

- **Criteri 1:** el pacient ha de patir un tumor, que pertanyi a l'espectre de tumors de la LFS, abans de l'edat de 46 anys, com per exemple: sarcomes de teixits tous, osteosarcomes, càncers de mama abans de la menopausa, tumors cerebrals, carcinomes de l'escorça suprarenal, leucèmies o càncers de pulmó. A més a més almenys un familiar de primer grau o un familiar de segon grau hauria d'haver patit un tumor relacionat amb el LFS, abans de l'edat de 56.
- **Criteri 2:** una persona que pateixi o hagi patit múltiples tumors, dos dels quals pertanyin a l'espectre de tumors LFS i el primer dels quals hagi estat patit abans dels 46 anys.
- **Criteri 3:** una persona que és diagnosticada amb carcinoma de l'escorça suprarenal o un tumor al plexe coroiu (membrana que envolta el cervell) independentment dels antecedents familiars.

---

<sup>30</sup>**CRITERIS CHOMPRET:** rep aquest nom degut al cognom del primer dels investigadors que van publicar el següent article A Chompret, L Brugières, M Ronsin, M Gardes, F Dessarps-Freichy, A Abel, D Hua, L Ligot, M-G Dondon, B Bressac-de Paillerets, T Frébourg, J Lemerle, C Bonaïti-Pellié, J Feunteun: "P53 germline mutations in childhood cancers and cancer risk for carrier individuals", en *Br J Cancer*. 2000 June; 82(12): 1932–1937. Published online 2000 May 18. doi: 10.1054/bjoc.2000.1167.

### 3.7. POSSIBLES TRACTAMENTS

Actualment no existeix cap tractament específic per a la síndrome de Li-Fraumeni. L'únic que de moment es fa és tractar els càncers que van apareixent un per un. En el cas de les persones que desenvolupen càncer de mama, es recomana realitzar la remoció dels pits (mastectomia). També es recomana que les persones amb aquest tipus de mutacions intentin evitar, en la mesura del possible, teràpies de radiació, per disminuir el risc de lesions malignes secundàries a la radioteràpia (34).

Ara bé, estudis recents fets al Institut d'Oncologia de la Vall d'Hebron (VHIO) per l'equip de modelització de teràpies antitumorals en rates, liderat per la Dra. Laura Soucek revelen que, per primera vegada, s'ha pogut trobar una connexió entre els múltiples tumors d'una pacient amb la síndrome de Li-Fraumeni gràcies a la caracterització completa del genoma en els cinc tumors que se li van desenvolupar en un període de deu anys. A més, aquesta troballa, ha permès per primer cop dissenyar una estratègia terapèutica innovadora, exemple màxim de personalització del tractament.

Fins ara es pensava que tots els tumors que desenvolupava un pacient amb càncer hereditari eren diferents i, per tant, es creia que els tractaments podrien funcionar en alguns dels tumors del mateix pacient, però no en tots. Ara, amb aquest estudi, s'ha observat que encara que ho fan amb mecanismes diferents, els tumors adquireixen una característica molecular molt semblant (la hiperactivació de les vies HER2\* i EGFR\*), vies que es poden inhibir amb els tractaments actuals.

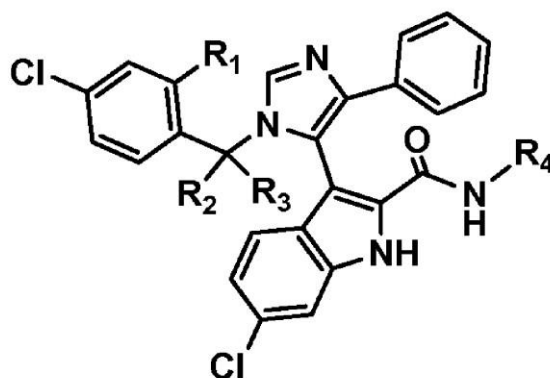
Aquest descobriment ajuda a pensar que s'ha trobat el punt de partida per poder començar a fer un tractament personalitzat i efectiu en tots els tumors, malgrat la seva diversitat. El descobriment té, a més, un gran valor científic, perquè incorpora una nova idea que, si es confirmés en altres pacients, podria canviar l'enfocament terapèutic en aquest tipus de malaltia.

Com ja s'ha dit, no existeix un tractament efectiu per combatre/reparar la malaltia. L'actual principal objectiu és eliminar únicament les cèl·lules canceroses amb més eficiència i reduir els efectes secundaris.

S'han destinat molts esforços per corregir de forma individual les mutacions de la p53. Molècules amb baixos pesos moleculars i petits pèptids han estat dissenyades amb l'objectiu de restaurar l'activitat de la proteïna, desplaçant l'equilibri cap a la conformació salvatge de la p53. Ara bé, cap dels compostos sintetitzats ha estat aprovat per usos clínics.

L'ús d'interferons per combatre les cèl·lules canceroses ha suposat una reducció dels nivells de toxicitat, centrant-se en la prevenció de la formació de tumors en pacients portadors de p53 amb mutacions germinals, com són els afectats de la síndrome de Li-Fraumeni.

Un altra alternativa és la que proposa la farmacèutica Novartis. Han patentat l'ús de imidiazolyl-indols (**Figura 20**) com a possible principi actiu. Aquests mostren certa efectivitat combatent la proliferació<sup>31</sup> de les cèl·lules canceroses i són capaços d'inhibir la interacció de la p53 amb MDM2 i/o MDM4.



**Figura 20:** Estructura Imidiazolyl-indols

Font: Marta Serrano

<sup>31</sup> **PROLIFERACIÓ:** Producció ràpida i repetida d'alguna cosa. (Diccionari.cat)

## 4. INVESTIGACIÓ

### 4.1. QUÈ SÓN LES MALALTIES MINORITÀRIES

Una malaltia minoritària, rara o poc freqüent és una malaltia que amenaça la vida o d'invalidesa crònica<sup>32</sup>. Són de tan baixa prevalença que es requereixen esforços combinats especials per fer-hi front.

La majoria de les malalties minoritàries tenen un origen genètic i, per això, són presents durant tota la vida de la persona, encara que els símptomes no apareguin immediatament després del naixement. De totes maneres, moltes malalties d'aquest tipus apareixen ben aviat, i aproximadament un 30% dels infants amb malalties minoritàries moren abans de fer cinc anys. Un 50% d'aquestes afeccions acaben en invalidesa dels que les pateixen.

Encara no hi ha un criteri de consens a partir del qual una malaltia és considerada minoritària. Una malaltia podria ser considerada minoritària en una part del món o en un grup humà concret, però ser comuna en altres llocs.

Per exemple, als Estats Units, la *Rare Disease Act of 2002* defineix malaltia minoritària només en referència a la seva prevalença com "qualsevol malaltia o condició que afecta menys de 200.000 persones als Estats Units," o aproximadament 1 de cada 1.500 persones. D'altre banda, al Japó, la definició legal de malaltia minoritària és aquella que afecta menys de 50.000 pacients al Japó, o aproximadament 1 de cada 2.500 persones.

En canvi, la Comissió Europea de Salut Pública defineix aquestes malalties com a "malalties cròniques o que amenacen la vida o que debiliten o que tenen tan baixa prevalença que requereixen esforços combinats per al seu tractament". La baixa prevalença és posteriorment definida com a menor d'1 en 2.000 persones; encara que, les malalties que són estadísticament rares, però que no fan perillar la vida, no debiliten crònicament o tenen un tractament adequat, són excloses de la definició.

---

<sup>32</sup>**CRÒNICA:** *adj De llarga durada; inveterat.* (Diccionari.cat.)

## I. PREVALENÇA

Més que la incidència (nombre de nous diagnòstics en un any determinat), la prevalença (nombre de persones que viuen amb una determinada malaltia en un moment donat) és l'eina més usada per descriure l'impacte de les malalties minoritàries.

L'Organització Europea de les malalties minoritàries (EURORDIS) estima que existeixen entre 5.000 i 7.000 malalties minoritàries diferents. Encara que cada malaltia individual és rara, el nombre sumat de persones que pateixen una d'aquestes malalties es troba entre el 6% i el 8% de la població de la Unió Europea.

La prevalença de les malalties minoritàries pot variar entre poblacions, ja que una malaltia que és minoritària en algunes poblacions pot ser comuna en d'altres. Això és així, sobretot en els casos de malalties genètiques i de malalties infeccioses. Un exemple és la fibrosi quística, una malaltia minoritària: és rara a la major part d'Àsia, però és relativament comuna a Europa i en poblacions descendents d'uropeus. En comunitats més petites, l'efecte fundador pot provocar que una malaltia que és molt rara en el món sigui molt prevalent dins aquesta comunitat. La majoria de les malalties infeccioses són prevalents en una àrea geogràfica determinada, però minoritàries a la resta del món. Altres malalties, com formes rares de càncer no tenen un patró aparent de distribució i són simplement rares.

## II. CARACTERÍSTIQUES

La classificació de la raresa d'una malaltia també depèn de la població estudiada. Totes les formes de càncer són rares entre infants, però algunes són comunes entre els adults. Els símptomes d'algunes malalties minoritàries poden aparèixer en el moment del naixement o en la infantesa, mentre que d'altres només apareixen en l'etapa adulta.

Els estudis científics es centren en malalties minoritàries que són cròniques o incurables, encara que, algunes condicions mèdiques de curta durada també són considerades malalties minoritàries.



## 4.2. LA SÍNDROME DE LI-FRAUMENI DINS L'ENTORN DE LES MALALTIES MINORITÀRIES (MM)

Les malalties minoritàries<sup>33</sup> són un grup molt nombrós que, segons l'OMS, estan integrades per més de 7000 condicions clíniques de baixa prevalença (MM). Com ja s'ha comentat, des d'una visió epidemiològica, aquestes malalties són aquelles que, com a conseqüència del seu caràcter crònic i discapacitant, presenten una prevalença tan baixa que requereixen esforços especials i combinats, dirigits a prevenir la morbiditat, la mortalitat primerenca o la reducció de la qualitat de vida i potencial socioeconòmic de les persones que les pateixen. De fet, més de 4000 condicions rares (80%) són d'origen genètic i afecten prioritàriament a la població pediàtrica. En quant al nombre de pacients afectats, segons les dades estimatives (WHO) de la Comissió Europea, aquestes malalties afecten al 5% població mundial. En el cas d'Espanya, 3 milions; i, en el cas de Catalunya, 300.000 afectats.

Les característiques comunes de les anomenades malalties minoritàries (MM) són:

- Entitats clíniques molt heterogènies amb afectació de tots els òrgans i sistemes de l'organisme en tots els grups d'edat.
- Totes són malalties greus, amenaçants per la vida, crònicament debilitants i invalidants i causen molt patiment als pacients i llur entorn familiar.
- Requereixen abordatges multidisciplinaris, sanitaris, i també socio-sanitaris (rehabilitació, logopèdia, recolzament psicosocial), socials, educatius i de reinserció laboral.
- Prioritat creixent en Salut Pública i demanda creixent de recursos sanitaris.

El paradigma de la raresa de les malalties minoritàries es caracteritza per:

- La invisibilitat, aïllament i exclusió social dels seus pacients.
- El desconeixement, epidemiològic, biomèdic i clínic de moltes MM (2000/7000).
- L'alta complexitat diagnòstica (genètica i clínica).
- La manca de tractaments autoritzats i farmacològics adients.
- La manca d'experts i de centres de referència.
- La prioritat en la Salut Pública.

---

<sup>33</sup> Les dades de referència d'aquest apartat estan preses de TORRENT FARNELL, J. "Les polítiques de la Unió Europea en Malalties Minoritàries", en Presentació de les malalties minoritàries i experiències des de l'àmbit local. Dia Mundial de les Malalties Minoritàries, Diputació de Barcelona– Fundació Doctor Robert, Barcelona, 25 febrer 2010.



No obstant això, s'ha de saber diferenciar entre les anomenades malalties minoritàries (MM) i les malalties prevalents (les comunes o convencionals) a través d'un valor numèric de prevalença: malalties minoritàries (MM) (prevalença  $<5/10.000$ ) / malalties comunes o convencionals (prevalença  $>5/10.000$ ).

No només això. També hi ha diferències dins de les mateixes malalties minoritàries, ja que es poden classificar en dos grups per la seva freqüència:

- Malalties minoritàries (MM) més conegudes i amb una proporció numèrica una mica més alta: Alltypesof Leukemias / Múltiple Mieloma/ Sarcoïdosis, etc.
- Malalties minoritàries (MM) "ultra-rares", amb una proporció numèrica de  $>1000$  casos, CHILDS syndrome / Tuberous Sclerosis, i la malaltia d'aquest estudi, la **Li-Fraumeni Syndrome**, totes elles malalties que formen part d'un grup minoritari.

De fet, des de 1999, la Comissió Europea reconeix aquestes malalties com una prioritat d'intervenció en salut pública. Des de llavors, s'han produït canvis legislatius i han emergit nous plantejaments d'actuació sobre les malalties minoritàries (MM). L'Estat espanyol ha participat activament en aquests canvis.

A Catalunya, el mes de novembre de 2008, el Parlament de Catalunya va aprovar la Resolució 336 / VIII sobre l'adopció de mesures relatives a les necessitats de les persones afectades per aquest tipus de malalties i, el mes de maig de 2009, es va crear, per resolució del Departament de Salut, la Comissió Assessora en Malalties Minoritàries (CAMM), que impulsa entre altres coses, la definició i implantació d'un model d'atenció a les malalties minoritàries (MM).

### 4.3. DADES DE CASOS REALS

En l'estudi<sup>34</sup> fet conjuntament per l'Institut d'Investigació del Càncer de la Universitat de Malaya, la unitat pediàtrica d'Hematologia-Oncologia de la Universitat de Malàsia en el Centre Mèdic de Kuala, per l'Institut internacional de Recerca de Prevenció de Lió, l'Institut Albert Bonniot-Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale de Grenoble, el departament d'Oncogenètica de l'Institut del Càncer eRutgers de New Jersey, el Centre de Càncer AC Camargo de l'Institut Nacional d'Oncogenòmica de Sao Paulo, l'Institut d'Estudis Avançats de la Universitat de Princeton, i el Departament de Medicina de la Rutgers Robert Wood Johnson Medical School de New Brunswick, s'han utilitzat les dades de la base de dades de la mutació TP53 recopilades a l'Agència Internacional per a la Investigació sobre el Càncer (IARC) per avaluar l'anticipació en les genealogies amb la línia germinal mutacional del TP53.

A continuació, s'ha investigat la base genètica d'heterogeneïtat fenotípica (35) mitjançant la seqüenciació de tot el genoma de 13 membres amb LFS, mostrant evidències d'acceleració en l'edat d'inici del càncer i l'augment de la severitat de la síndrome sobre dues generacions.

#### **Patrons d'anticipació dels portadors de la mutació en la línia germinal del TP53.**

**La taula 1** compara l'edat mitjana de la primera aparició del càncer en diferents generacions per a tot el conjunt de les dades de les famílies amb mutacions a la línia germinal del TP53 documentades en la versió R16 de la IARC\*.

Per a qualsevol de les generacions successives, i de forma independent al nombre de generacions de les famílies, la mitjana d'edat de la primera aparició del càncer tendeix a ser menor en la generació descendent que en la generació dels pares. Aquesta observació recapitula, sobretot, el conjunt de dades de 269 famílies i de les observacions que s'hi van realitzar, que mostren la disminució en l'edat d'inici i l'augment de la gravetat dels símptomes en generacions successives.

---

<sup>34</sup> Article utilitzat com fons documental: ARIFFIN, H; [et al.]. "Whole-genome sequencing analysis of phenotypic heterogeneity and anticipation in Li-Fraumeni cancer predisposition syndrome", en *PNAS* 2014: vol. 111: no. 43: 15497-15501

L'anàlisi estadística va mostrar que l'acceleració a l'inici de la malaltia va ser significatiu durant tres generacions en les famílies amb quatre generacions (generacions 1-3, de  $51,8 \pm 15,4$  anys, en la generació de 1  $33,5 \pm 12,5$  anys, en la generació 3,  $P < 0,001$ ) i en les famílies amb tres generacions (de  $45,7 \pm 16,2$  anys en la generació a 1-2,  $20,1 \pm 15,1$  anys en la generació 3,  $P < 0,032$ ). La mateixa tendència es va observar entre la generació 1 i 2 en les famílies amb dues generacions, però aquesta diferència no va ser estadísticament significativa.

Cal assenyalar que les dades agrupades per a la generació 4 en les famílies amb quatre generacions mostren una edat molt baixa d'aparició del càncer ( $10,0 \pm 8,0$  anys). No obstant això, aquestes dades van ser excloses de l'anàlisi a causa de la mitjana d'edat que es donava en aquesta generació 11.5 anys (mitjana de  $10,8 \pm 7,8$ ), el que impedeix l'avaluació de l'edat del diagnòstic en les formes adultes de la LFS, que representen més del 25% de tots els diagnòstics en LFS.

D'altra banda, la **Taula 1** no mostra cap diferència significativa en l'edat d'aparició del càncer en comparar les generacions equivalents entre les famílies amb una, dues, tres i quatre generacions.

Per tant, l'edat d'aparició del càncer en les famílies amb una sola generació documentada és similar a la de la segona generació de famílies amb dues generacions, i a la de la tercera generació de famílies amb tres generacions. El mateix fenomen s'observa per qualsevol generació, independentment de l'estructura familiar.

Per exemple, l'edat de la primera aparició del càncer és de  $33,5 \pm 12,5$  anys; a la tercera generació de les famílies amb quatre generacions documentades, és de  $36,9 \pm 16,8$  anys; a la segona generació de famílies amb tres generacions documentades, és de  $35,9 \pm 14,5$  anys; i a la primera generació de famílies amb dues generacions documentades les diferències no són significatives.

Aquesta observació suggereix que l'aparent anticipació és causada per l'aparició tardana de càncer en les primeres generacions amb tres o quatre generacions documentades, i no per l'acceleració de l'aparició del càncer en les generacions successives.

Registres de les famílies amb N generacions amb dades disponibles					
Generació	431, n = 4	797, n = 3	570, n = 2	169, n = 1	P (t test)
1	51.8 ± 15.4	-----	-----	-----	-----
2	45.6 ± 15.3	45.7 ± 16.2	-----	-----	P(4-3) = n.s
3	33.5 ± 12.5	36.9 ± 16.8	35.9 ± 14.5	-----	P(4-2) = n.s
4	(10.0 ± 8.0)	20.1 ± 15.1	22.5 ± 18.9	21.2 ± 23.9	P(3-1) = n.s
<b>P (t test)</b>	P(1-3) < 0.001	P(1-3) < 0.032	P(1-2) = n.s	-----	-----

**Taula 1:** El valor de P significa la diferència en l'edat mitjana d'aparició de càncer entre la primera i l'última generació en les famílies multi generacionals, que s'enumeren a la fila inferior. Les generacions comparables entre diferents famílies amb diferents generacions s'enumeren a la columna més a la dreta. L'edat mitjana a la generació 4 està en parèntesi perquè l'edat mitjana d'aquesta generació és de 11,5 anys, de manera que s'exclou de l'anàlisi. (n.s., no significativa)

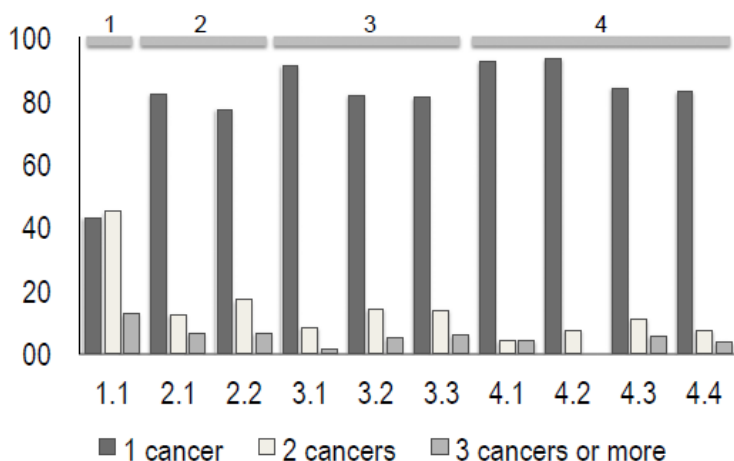
La mateixa observació es recolza en la **Taula 2**, que compara la proporció de càncers infantils, dels anomenats càncers tríada (rabdomyosarcoma, carcinoma de l'escorça suprarenal, i la corioide carcinoma del plexe) en cada generació i en les famílies que tenen d'una a quatre generacions documentades.

Aquests càncers primerencs poden considerar-se com la manifestació més greu de la síndrome. Mentre que hi ha una tendència cap a una major proporció d'aquests càncers en les generacions més recents de les famílies amb dues, tres, i quatre generacions documentades, la proporció d'aquests càncers és similar en les generacions equivalents, independentment de l'estructura familiar.

Per tant, aquests càncers infantils representen el 2,9%, 2,8%, i el 4,9% del total dels diagnòstics, respectivament, en la tercera generació de les famílies amb quatre generacions, de la segona generació de famílies amb tres generacions, i de la primera generació de les famílies amb dues generacions. En la generació més recent documentada, la proporció de càncers "tríada" és del 24,0%, 17,4%, 8%, i el 17,0% a les famílies amb quatre generacions, tres generacions, dues generacions, o una generació documentada, respectivament.

Altres anàlisis, segons el sexe, no van revelar diferents patrons entre homes i dones, pel que fa a l'edat en l'aparició del càncer o el tipus de càncer. Les mateixes anàlisis es van repetir independentment per subconjunts de dades d'Amèrica del Nord i d'Europa occidental, sense diferències entre els dos conjunts de dades.

A més, la proporció de pacients amb dos o més diagnòstics de càncer, una altra possible característica de gravetat de la malaltia, era més baixa en les últimes generacions de famílies multigeneracionals que en famílies d'una única generació (**Figura 21**). Aquesta proporció va ser del 57,1% en famílies d'una única generació, el 23% en la segona generació de famílies amb dues generacions, el 19% en la tercera generació de les famílies amb tres generacions, i el 10,3% en la quarta generació de les famílies amb quatre generacions.



**Figura 21:** Famílies agrupades segons el nombre de generacions documentades **Font:** ARIFFIN, H; [et al.]. "Whole-genome sequencing analysis..

Finalment, es va examinar si l'edat (fins els 20 anys) en que pateixes un càncer s'accelera a l'última generació d'una família multi generacional en comparació amb les famílies d'una única generació. En general, aquesta anàlisi suggereix que, en les famílies multi generacionals, l'aparició del càncer es retarda en les generacions més grans en comparació amb les famílies d'una única generació i que no hi ha cap efecte d'anticipació estrictament definit associat amb la línia germinal portadora de la mutació TP53.

Registres de les famílies amb N generacions amb dades disponibles				
Generació	22, n = 4	59, n = 3	27, n = 2	24, n = 1
1	0	-----	-----	-----
2	0	0	-----	-----
3	2,9	2,8	4,9	-----
4	24,0	17,4	8,0	17,0

**Taula 2:** Freqüència de càncer infantil (rabdomyosarcoma, carcinoma de l'escorça suprarenal, carcinoma del plexe coroides) en cada generació de les famílies amb LFS. 1-4 generacions documentades.

## 4.4. LA BIOINFORMÀTICA

### I. QUÈ ÉS LA BIOINFORMÀTICA?

Tradicionalment, la recerca en biologia molecular s'ha realitzat al laboratori experimental, però la immensa quantitat de dades generades en els últims anys requereix el desenvolupament d'eines computacionals que permetin extreure tota la informació continguda en aquestes dades per generar nou coneixement. Per això, avui dia és difícil entendre la recerca en aquestes àrees sense la bioinformàtica.

La bioinformàtica és la disciplina científica que combina biologia, computació i tecnologies de la informació. L'objectiu d'aquesta disciplina és facilitar noves percepcions biològiques i crear una perspectiva global que permeti identificar els principis unificadors de la biologia.

Inicialment, la bioinformàtica s'ocupava, sobretot, de la creació de bases de dades d'informació biològica, especialment seqüències, i del desenvolupament d'eines per a la utilització i anàlisi de les dades contingudes en aquestes bases de dades. Al final, serà necessari unificar tota aquesta informació, si volem arribar a un quadre complet de la biologia de la cèl·lula, de manera que els investigadors puguin comprendre com s'alteren aquests processos en les diferents malalties.

Per això, la bioinformàtica ha anat evolucionant per ocupar cada vegada amb més profunditat l'anàlisi d'interpretació dels diferents tipus de dades (seqüències de genomes, proteomes<sup>35</sup>, dominis i estructures de proteïnes, etc). Aquestes formes d'anàlisi i interpretació de dades es solen denominar biologia computacional.

Les principals àrees de la bioinformàtica i de la biologia computacional són, per tant:

1. El desenvolupament d'eines que permetin l'accés, l'ús i l'actualització de diferents tipus d'informació biològica.
2. El desenvolupament de nous algoritmes<sup>36</sup> i solucions estadístiques per analitzar grans conjunts de dades i resoldre problemes biològics complexos, com ara predir l'estructura d'un gen en una seqüència genòmica, predir

<sup>35</sup>**PROTEOMES:** BIOL MOL/BIOTEC Conjunt de les proteïnes codificades per un genoma que s'expressen en una cèl·lula o un òrgan determinat, en un moment concret i sota unes condicions específiques. (Diccionari.cat.)

<sup>36</sup>**ALGORITME:** LÒG/MAT Procediment de càlcul que consisteix a acomplir un seguit ordenat i finit d'instruccions que condueix, un cop especificades les dades, a la solució que el problema genèric en qüestió té per a les dades considerades. (Diccionari.cat.)

l'estructura de proteïnes, identificar famílies de proteïnes per la seva similitud de seqüència, etc.

## II. RELACIÓ ENTRE GENÈTICA I BIOINFORMÀTICA

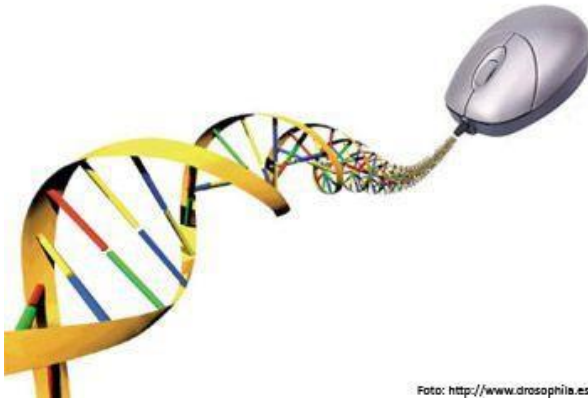


Foto: <http://www.drosophila.es>

**Figura 22:** A través de la bioinformàtica és possible manipular la gran quantitat de dades que proporciona qualsevol estudi genètic.

**Font:** <http://www.drosophila.es>

L'àcid desoxiribonucleic (DNA) és la molècula que conté el codi de la vida, ja que controla directament la biologia fonamental de la vida i determina les particularitats de cada organisme; per això, en el cas particular de l'humà, les variacions i les mutacions presents en el DNA genòmic predisposen o condicionen el desenvolupament de moltes malalties que afecten els humans.

Un exercici d'imaginació: un tècnic en computació vol reparar la unitat principal d'un ordinador. Primer de tot, ha de consultar el diagrama o els circuits d'aquest ordinador. El tècnic necessita aquesta informació per entendre com funciona aquesta unitat i així poder reparar-la. Doncs bé, una cosa semblant passa amb els éssers vius. Per entendre com funciona i com es pot modificar un ésser viu, cal conèixer els seus plànols mestres, és a dir, el seu genoma, el qual està constituït per tota la informació present en les seves molècules de DNA (**Figura 22**).

Es pot afirmar que "si no hi ha codificació, no hi ha informació". Això vol dir que la informació implica l'ús d'un codi. Un ésser viu, vist d'una manera molt sintètica, està conformat per dos grans sistemes interdependents: un, el genètic, que conté i perpetua la informació; un altre, el metabòlic estructural, que s'ocupa de capturar la matèria i l'energia del medi ambient. De fet, així mateix opera també el sistema genètic d'informació.

En general, quan millor es coneix un sistema, es pot modificar d'una forma més ràpida i, també, treballar d'una manera més eficient. De fet, la bioinformàtica s'ocupa d'emmagatzemar, analitzar i interpretar l'enorme quantitat de resultats que s'obtenen en forma de seqüències de DNA.

La bioinformàtica representa una nova disciplina dins de la investigació científica. De fet, d'una manera molt ràpida i emergent, ha esdevingut imprescindible pel millor coneixement del funcionament dels éssers vius. No s'ha d'oblidar que té unes grans potencialitats, ja que es pot fer servir per millorar els tractaments de moltes malalties. En el futur més proper, el seu estudi estarà emmarcat dins de la "medicina genètica".

### III. QUE SÓN LES BASES DE DADES BIOINFORMÀTIQUES?

Una base de dades és el conjunt de referències emmagatzemades sota una estructura lògica. Tan important són les dades, com l'estructura conceptual i la interrelació que hi ha entre elles. Si no es tenen els dos factors units, no es pot parlar d'una base de dades, ja que ambdós combinats donen la coherència necessària per poder treballar amb les dades d'una manera sistemàtica. Per exemple, en una base de dades moleculars, és més útil poder relacionar la seqüència de nucleòtids amb la proteïna que codifica, la seva estructura 3D\* i la seva funció i l'organisme o organismes on s'han trobat, que conèixer únicament la seqüència del gen X .

La forma física de la manera com estiguin emmagatzemades les dades és independent del concepte que es tinguin d'elles. De fet, serà el conjunt dels programes el que sabrà com unir i mostrar les dades, atorgant coherència al concepte de base de les diferents referències que s'acabaran quantificant de forma numèrica. És important conceptualitzar aquest primer pas, perquè del disseny de l'estructura lògica depèn tota la funcionalitat del sistema. Emmagatzemar dades en una base de dígits, aprofitant únicament l'estructura física, no mostra cap avantatge. En canvi, un bon disseny, utilitzant correctament totes les bases de dades, fa possible un millor estudi.

Les bases de dades bibliogràfiques a Internet constitueixen un punt clau en la cerca d'informació sobre els múltiples temes vinculats a la biologia i a qualsevol altra àrea d'estudi. Les principals bases de dades són:

- *International Society for Computational Biology*<sup>37</sup>
- *PubMed*<sup>38</sup>
- *National Library of Medicine*<sup>39</sup>

<sup>37</sup> L'enllaç d'aquesta plana és: <http://www.iscb.org/>

<sup>38</sup> L'enllaç d'aquesta plana és: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>



A més, existeixen nombroses revistes digitals especialitzades. La majoria es poden trobar al *Consorti de Biblioteques Universitàries de Catalunya (CBUC)*<sup>40</sup>.

L'origen de les bases de dades moleculars es va començar recollint i organitzant les seqüències de DNA a *Los Alamos Laboratory (LANL)*, New Mèxic, per Walter Goad i els seus companys del *GenBank*, i també en el *European Molecular Biology Laboratory (EMBL)* d'Alemanya. De la mateixa forma, seqüències traduïdes de DNA es van incloure en la base de dades *Protein Information Resource (PIR)*, del *National Biomedical Research Foundation (NBRF)* de Washington.

Degut a l'aparició massiva d'informació, la EMBL (del que forma part el *European Bioinformatics Institute, EBI*), el *GenBank* i el *DDBJ\** van formar el *International Nucleotide Sequence Database Collaboration*, que té la finalitat d'ajudar a l'intercanvi diari de seqüències. De la mateixa forma, des de 1988, existeix un consorci que inclou el *PIR*, el *Japan International Protein Information Database (JIPID)* i el *Martins ried Institute for Protein Sequences (MIPS)*.

No inclosa en el consorci, però no menys important, la *SWISS-PROT* és una base de dades de proteïnes que actualment està lligada al *Swiss Institute of Bioinformatics (SIB)* i el *EBI/EMBL*. El *GenBank*, actualment, està sota el control del *National Center for Biotechnology Information (NCBI)*.

---

<sup>39</sup> L'enllaç d'aquesta plana és: <https://www.nlm.nih.gov/>

<sup>40</sup> El seu enllaç de referència, dins del *Catàleg col·lectiu de les Universitats de Catalunya (CCIC)*, és el següent: [http://ccuc.cbuc.cat/\\*spi](http://ccuc.cbuc.cat/*spi)

#### IV. EL GEN DINS DE LES BASES DE DADES BIOINFORMÀTIQUES

Després de conèixer una mica més les bases de dades i saber com són, en aquest estudi, s'han fet servir només dues: *UniProt* (Figura 23) i *PDB* (Figura 24 de la pàgina 51 i Figura 25 de la pàgina 52). A continuació, amb aquestes dues eines, s'ha buscat la p53. Les dues bases utilitzades a l'estudi estan escrites en llengua anglesa.

##### UniProt:

Entry	Entry name	Protein names	Gene names	Organism	Length
P04637	P53_HUMAN	Cellular tumor antigen p53	TP53 P53	Homo sapiens (Human)	393
P02340	P53_MOUSE	Cellular tumor antigen p53	Tp53 P53, Trp53	Mus musculus (Mouse)	387
P10361	P53_RAT	Cellular tumor antigen p53	Tp53 P53	Rattus norvegicus (Rat)	391
Q42578	PERS3_ARATH	Peroxidase S3	PERS53 P53, At5g06720, MPH15.8	Arabidopsis thaliana (Mouse-ear cress)	335
P25035	P53_ONCMY	Cellular tumor antigen p53	tp53 p53	Oncorhynchus mykiss (Rainbow trout) (Salmo gairdneri)	396
P79820	P53_ORYLA	Cellular tumor antigen p53	tp53 p53	Oryzias latipes (Japanese rice fish) (Japanese killifish)	352
Q92143	P53_XIPMA	Cellular tumor antigen p53	tp53 p53	Xiphophorus maculatus (Southern platyfish) (Platypoecilus maculatus)	342
Q29537	P53_CANLF	Cellular tumor antigen p53	TP53 P53	Canis lupus familiaris (Dog) (Canis familiaris)	381
O09185	P53_CRIGR	Cellular tumor antigen p53	TP53 P53	Cricetulus griseus (Chinese hamster) (Cricetulus barabensis griseus)	393
Q8SP23	P53_DELLE	Cellular tumor antigen p53	TP53 P53	Delphinapterus leucas (Beluga whale)	387
P56423	P53_MACFA	Cellular tumor antigen p53	TP53 P53	Macaca fascicularis (Crab-eating macaque) (Cynomolgus monkey)	393
P61260	P53_MACFU	Cellular tumor antigen p53	TP53 P53	Macaca fuscata fuscata (Japanese macaque)	393
Q9TUB2	P53_PIG	Cellular tumor antigen p53	TP53 P53	Sus scrofa (Pig)	386

Figura 23: Base de dades UniProt Font: <http://www.uniprot.org/>

- Function
- Names & Taxonomy
- Subcellular location
- Pathology & Biotech
- PTM / Processing
- Expression
- Interaction
- Structure
- Family & Domains
- Sequences (9)
- Cross-references
- Publications
- Entry information
- Miscellaneous
- Similar proteins

La base de dades *UniProt*<sup>41</sup> s'utilitza per trobar tot tipus de seqüències dels aminoàcids que conformen una proteïna. Al buscar la p53, no només es visualitza la p53 humana, sinó també les seqüències de p53 de diferents classes d'animals. Concretament, a la primera recerca, surten més de vint-i-quatre mil resultats diferents. Un cop s'entra a una p53 específica, en aquest estudi la p53 humana, la base de dades dona molta informació: des de les seves funcions, passant per les seves mutacions, la seva estructura, les diferents seqüències, fins a tot tipus de publicacions relacionades amb la proteïna buscada. A la imatge de l'esquerra es pot apreciar (en anglès) tot el que podem trobar en aquesta base de dades.

<sup>41</sup>La missió de l'organització *UniProt* ([www.uniprot.org](http://www.uniprot.org)) és proporcionar a la comunitat científica recursos de lliure accés de la seqüència de la proteïna.

## Protein Data Bank (PDB)

The screenshot shows the PDB website interface. At the top, there is a search bar with the text "Search by PDB ID, author, macromolecule, sequence, or ligands" and a "Go" button. Below the search bar, there are navigation links: "Advanced Search | Browse by Annotations | Search History (1) | Previous Results (12459)".

The main content area displays search results for the query "p53". It includes a "Query Parameters:" section with "Text Search for: p53" and "Query Details | Save Query to MyPDB" links. Below this, there are several tabs: "12459 Structure Hits", "32 Unreleased Structures", "6127 Citations", "3653 Ligand Hits", and "722 Web Page Hits".

The search results are organized into several categories:

- Ligand ID:** P53
- UniProt Molecule Name:** Cellular... p53 (149), Tumor suppressor p53 (142), Phosphoprotein p53 (136), p53-binding protein Mdm2 (78), p53... (29), p53... (27). More - Find all
- Gene View:** CDIP1... p53..., HERC1 - HECT and RLD domain cont ... (2), JMY ... p53..., KLLN ... p53..., MDM4 ... p53... (16), PDRG1... p53... More
- Structural Domains:** p53... (14), p53... (7), Tumor... p53... (3), p53... (14), Tumor... p53... (3), p53... (7). More
- PDB Text:** P53 TETRAMERIZATION Find all
- Pfam Description:** P53 DNA-binding domain (104), PA26 p53... (1), Nup53... (4), Drosophila ACP53EA..., p53... (33), Nop53... More
- BIRD Molecules:** SAH-p53... (1) Find all
- Chemical Formula:** Search for chemical formula p53
- Ontology Terms:** DNA damage... transduction ... (364), p53... (60), DR : MDM4... P53... (2), D12.776... Suppressor Prote... (273), intrinsic... p53... (53), HS : MDM4... P53... (15). More
- Protein Feature View:** p53 - Cricetulus griseus, p53 - Platichthys flesus, p53..., p53...

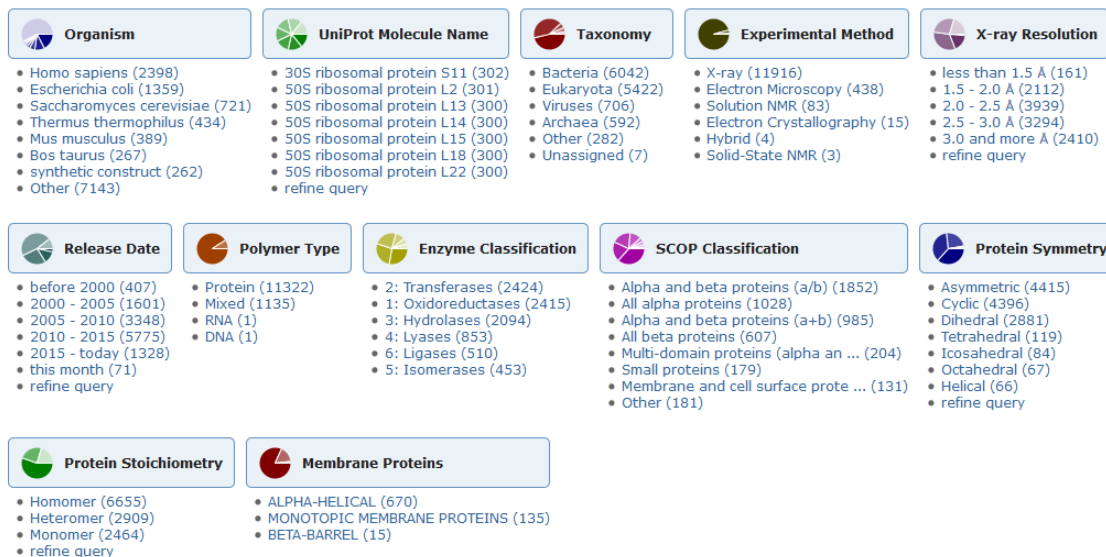
Figura 24: Base de dades PDB Font: <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>

El *protein data bank* (PDB)<sup>42</sup> (Banc de Dades de Proteïnes) és una base de dades de l'estructura tridimensional, en 3D, de les proteïnes i àcids nucleics. Aquestes dades, generalment obtingudes mitjançant cristal·lografia de raigs X o ressonància magnètica nuclear, són enviades per biòlegs i bioquímics de tot el món. Estan sota el domini públic i poden ser utilitzades lliurement.

Va ser fundat el 1971 pels doctors Edgar Meyer i Walter Hamilton del Brookhaven National Laboratory. La seva gestió va ser transferida, el 1988, al Research Collaboratory for Structural Bioinformatics (RCSB). La Universitat Rutgers és la seu principal i aquesta organització, actualment, està dirigida per Helen M. Berman.

<sup>42</sup>L'Organització *Protein Data Bank* presenta aquest enllaç: <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>

En el cas de la p53 i com es pot apreciar a les imatges, hi ha gairebé 4.000 representacions de la p53 dels humans. Però, a banda dels humans, també accepta veure representacions de moltes p53 d'altres éssers vius. No només això, ja que admet visualitzar representacions de la p53 enllaçada amb el DNA.



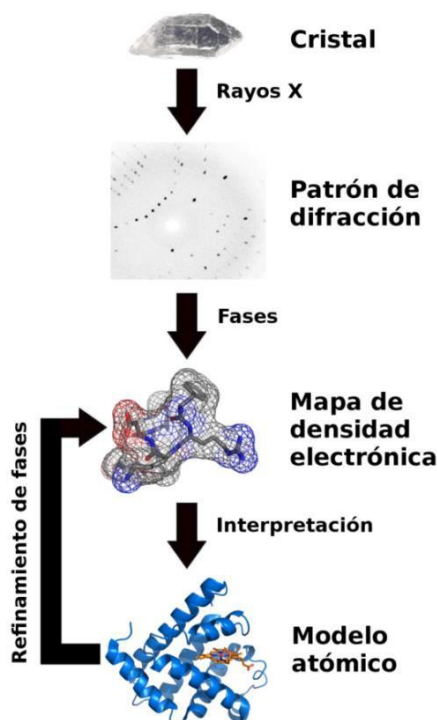
**Figura 25:** Base de dades PDB 2  
**Font:** <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>

## 4.5. REPRESENTACIÓ 3D DE LA PROTEÏNA

### I. QUÈ ÉS UN VISOR DE PROTEÏNES?

Un visor de proteïnes és una pantalla de gràfics que permet visualitzar l'estructura de les diferents proteïnes. En aquest treball, s'ha utilitzat el programa *RasMol*, ja que és un programa compatible amb els arxius on estaven guardades les seqüències de les diverses proteïnes. Per tant, abans de continuar, s'explicarà què és i com funciona un visor de proteïnes en la seva fase de funcionament.

### VISOR DE PROTEÏNES RASMOL



**Figura 26:** Resolució cristal·logràfica  
Font: Marta Serrano

*RasMol*<sup>43</sup> és una aplicació que és capaç de llegir arxius de coordenades moleculars i mostrar, interactivament, la molècula en una sèrie de esquemes de colors i representacions moleculars. Els arxius que es poden fer servir en aquest programa inclouen els formats que es poden extreure de: *Brookhaven Protein Databank (PDB)*, *Tripos Associates' Alchemy* y *Sybyl Mol2*, *Molecular Design Limited's (MDL) Mol*, *Minnesota Supercomputer Centre's (MSC) XYZ (XMol)*, *CHARMm*, format CIF i arxius mmCIF. Tots aquest conjunts de dades/formats són extrets de la resolució cristal·logràfica (**Figura 26**) (XRD, X-Ray Diffraction). En funció de la grandària de la proteïna, els cristalls d'aquesta són resolts amb un difractor de raig X o bé amb sincrotró, que permet l'amplificació dels raigs X.

<sup>43</sup>Exemples de manuals sobre l'ús del Visor de proteïnes RasMol són: BERSTEIN, H.J. *Manual RasMol 2.7.1.1 Molecular Graphics Visualisation Tool 21 Version 2.7.0, 2.7.1, 2.7.1.1* Bernstein + Sons, P.O. Box 177, Bellport, NY, USA, January 2001. / SAYLE, R. *Manual de RasMol Version 2.6-beta-2 Programa de Visualización Molecular*. Traducció al castellano de Isabel Serván Martínez y José Miguel Fernández Fernández, *RasMol Home Page* / RIERA, M.A.; [et al.]. "Utilización del programa de visualización molecular RasMol como estrategia didáctica para la integración del contenido curricular "proteínas", en *Educación médica*. v.13 n.3 Barcelona sep. 2010.

Actualment, el programa està dotat de diferents models de visualització d'estructures de filferro amb profunditat (*wireframe*), bastons, esferes d'espai farcides (CPK), boles i bastons, cintes biomoleculars, etiquetes d'àtoms i superfícies de punts. Els àtoms poden ser, també, etiquetats amb qualsevol text.

A més a més, diferents parts de la molècula poden representar-se independentment de la resta de la molècula o visualitzar-les simultàniament en diferents formes. La molècula exhibida pot ser girada, desplaçada, ampliada o tallada en trossos interactivament, fent servir el ratolí o la barra de desplaçament de Windows.

Si l'estructura que es visualitza no prové d'un estudi cristal·logràfic, sinó que es tracta d'una simulació, el programa permet fixar la disposició dels àtoms, conformacions moleculars, geometries, tipus d'enllaços i angles. Totes aquestes dades, que permetran dibuixar i visualitzar la proteïna, venen donades per càlculs teòrics que determinen quina és l'estructura teòrica més favorable energèticament.

A part de tot això, RasMol pot llegir una successió d'ordres prèviament preparades en un arxiu de *script* (guió) que permet carregar una imatge o un punt de vista concrets de forma ràpida. Finalment, la imatge generada pot ser exportada a tota una sèrie de formats, incloent GIF, PPM, BMP, PICT, arxius de sortida Sun o com un script MolScript o Kinemage.

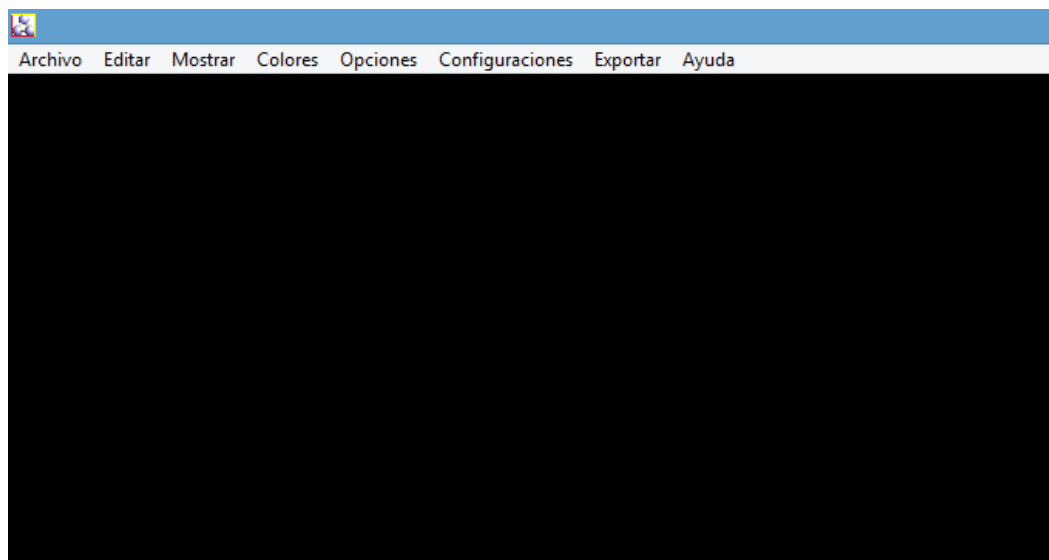
Per últim, si hi ha algun tipus de problema a l'hora de fer servir el programa, l'eina d'ajuda de RasMol es pot activar teclejant: "help<tema>" o "help<tema><subtema>".

## II. FUNCIONAMENT DEL VISOR

El programa RasMol és compatible amb els següents sistemes operatius: Microsoft Windows, Apple Macintosh, sistemes UNIX i VMS. En aquest treball s'ha utilitzat el Microsoft Windows: per tant, s'explicarà com funciona i com s'executa aquest programa des d'aquest sistema operatiu.

### EXECUTANT RASMOL AMB MICROSOFT WINDOWS<sup>44</sup>

Per iniciar *RasMol* des de Microsoft Windows, s'ha de fer doble clic a la icona RasMol en el gestor de programes. Quan el programa s'inicia per primer cop, mostra una única finestra principal amb un fons negre i, a més a més, proveeix una barra d'eines o funcions (**Figura 27**).



**Figura 27:** Imatge que es veu quan s'obre el programa RasMol **Font:** Pròpia

Amb la barra d'eines que es pot veure sobre la imatge (**Figura 27**), es pot controlar tot el programa. Des de la pestanya *archivo* (arxiu) es pot obrir o guardar un fitxer d'una proteïna representada al visor.

Des de la pestanya *editar*, es pot modificar l'arxiu, és a dir, permet copiar-lo, enganxar-lo o retallar-lo. A més, des de la pestanya *mostrar*, es pot canviar, com s'ha comentat anteriorment, la visualització de l'estructura de la proteïna. De fet, ofereix la possibilitat de fer representacions en diferents formats.

---

<sup>44</sup> A continuació, col·loca un enllaç d'un vídeo on s'explica el funcionament del programa: <https://www.youtube.com/watch?v=ILLIShrGhc>

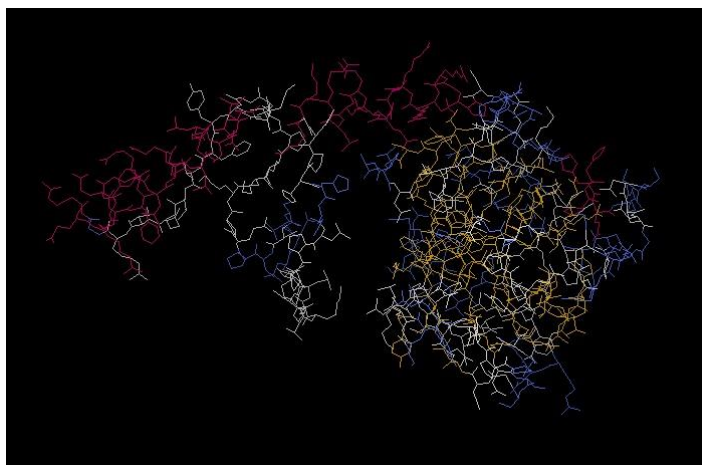


Amb l'ajut de la *barra d'eines*, també es pot canviar el color de la molècula representada, en aquest cas una proteïna, depenent de la seva temperatura, de la seva estructura, etc.

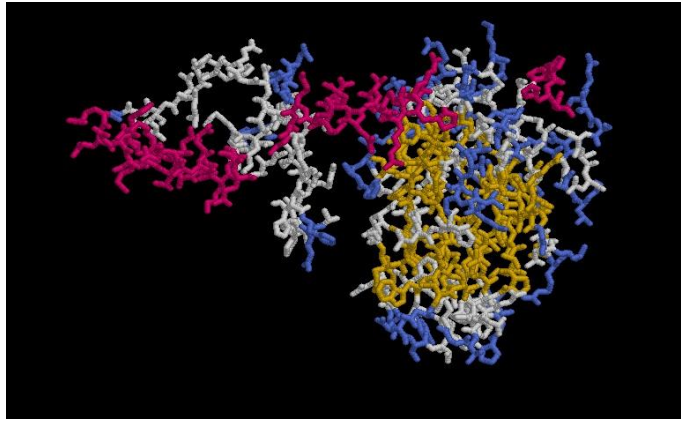
*RasMol* també deixa seleccionar un component de la molècula, en el cas d'una proteïna, un aminoàcid. Això es pot fer des de la pestanya *configuraciones* (*configuracions*). Amb aquesta aplicació es pot trobar des de la manera de fer canviar l'angle de gir de la proteïna, a la forma d'escollir el centre o, fins i tot, la manera de representar la seva torsió, etc.

Finalment, des de la pestanya *Exportar* es pot fer una foto de la molècula que s'està representant en aquell instant, i exportar-la a una llarga sèrie de formats.

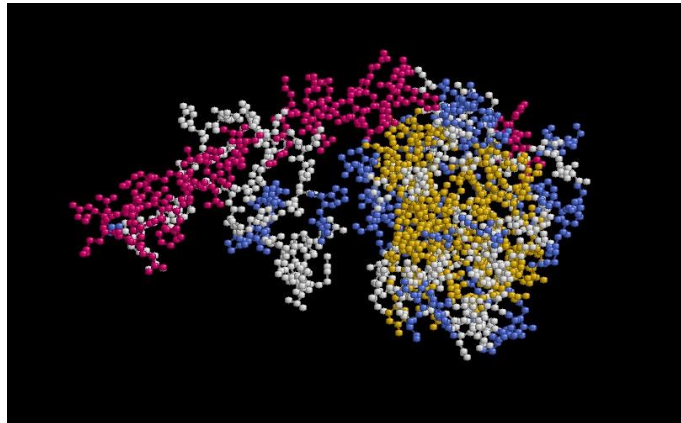
A continuació es mostren alguns dels diferents tipus de representacions que ofereix aquest programa (**Figures: 28, estructures de filferro amb profunditat; 29, bastons; 30, boles i bastons; i 31, cintes biomoleculares**).



**Figura 28:** Representació filferro amb profunditat  
**Font:** pròpia



**Figura 29:** Representació Bastonets  
**Font:** Pròpia



**Figura 30:** Representació Boles amb bastonets  
**Font:** Pròpia



**Figura 31:** Representació cintes. Es la que s'ha fet servir en aquest treball  
**Font:** Pròpia

## 4.6. ESTUDI DE LA PROTEÏNA

La LFS és causada per tota una sèrie de mutacions en la proteïna p53. Com que hi ha moltes mutacions, en aquesta part del treball, s'analitzaran dues d'elles: una, en la posició 175 i l'altre, en la posició 337. En aquestes dues mutacions concretes, l'aminoàcid mutat és el mateix. Es passa d'una arginina (R) a una histidina (H) (aquests conceptes s'expliquen posteriorment).

Per mitjà d'estudis que s'han consultat<sup>45</sup>, s'intentarà analitzar si aquest tipus de mutacions, depenent de la posició en que es troben, provoquen un tipus de càncer o un altra. Tot seguit, es compararan amb la proteïna no mutada.

Els aminoàcids són molècules que contenen els grups funcionals amino (-NH<sub>2</sub>) i carboxil (-COOH), a més a més d'una cadena lateral que varia entre els diferents aminoàcids. Els elements bàsics d'un aminoàcid són el carboni, l'hidrogen, l'oxigen i el nitrogen; tot i així, a les cadenes laterals de certs aminoàcids es poden trobar altres elements.

Hi ha 22 aminoàcids que són incorporats de manera natural a polipèptids<sup>46</sup> i són anomenats proteïnògens o aminoàcids estàndards. D'aquests, 20 són codificats pel codi genètic universal. Dintre aquests 20, es troben l'arginina i la histidina. Hi ha nou aminoàcids que s'anomenen "essencials" per als humans, ja que no poden ser sintetitzats a partir d'altres compostos pel cos humà i, per tant, s'han d'incorporar a partir de la ingesta.

En les figures següents, es relacionen amb les seves diferents formes de representació els diferents aminoàcids que són codificats en el codi genètic universal **(Figura 32 i 33 de la pàgina 59)**.

---

<sup>45</sup>Els estudis consultats es troben indicats a la part final del treball. A tall d'exemple, en l'apartat de la Bibliografia: BAD Id Said; MALKIN, D. "A functional variant in miR-605 modifies the age of onset in Li-Fraumeni syndrome" en *Cancer Genetics* 2015: Vol.208: 47-51, i a la Webgrafia: OLIVIER, M; [et al.]. "TP53 Mutations in Human Cancers: Origins, Consequences, and Clinical Use" [En línia] NCBI <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2827900/> (Consulta: 28 desembre 2015, 13:18)

<sup>46</sup> **POLIPÈPTID**: BIOQ Polímer format per cadenes llargues d'aminoàcids unides mitjançant enllaços peptídics. Diccionari.cat

Aminoàcid	Codi 3 lletres	Codi 1 lletra	Aminoàcid	Codi 3 lletres	Codi 1 lletra
Alanina	Ala	A	Leucina	Leu	L
Arginina	Arg	R	Lisina	Lys	K
Asparagina	Asn	N	Metionina	Met	M
Aspàrtico	Asp	D	Fenilalanina	Phe	F
Cisteïna	Cys	C	Prolina	Pro	P
Glutàmic	Glu	E	Serina	Ser	S
Glutamina	Gln	Q	Treonina	Thr	T
Glicina	Gly	G	Triptòfano	Trp	W
Histidina	His	H	Tirosina	Tyr	Y
Isoleucina	Ile	I	Valina	Val	V
Selenocisteïna	Sec	U	Pirrolisina	Pyl	O

Figura 32: Codi d'aminoàcids

Font: <http://es.slideshare.net/pblanco61/aminoacidues-1213>

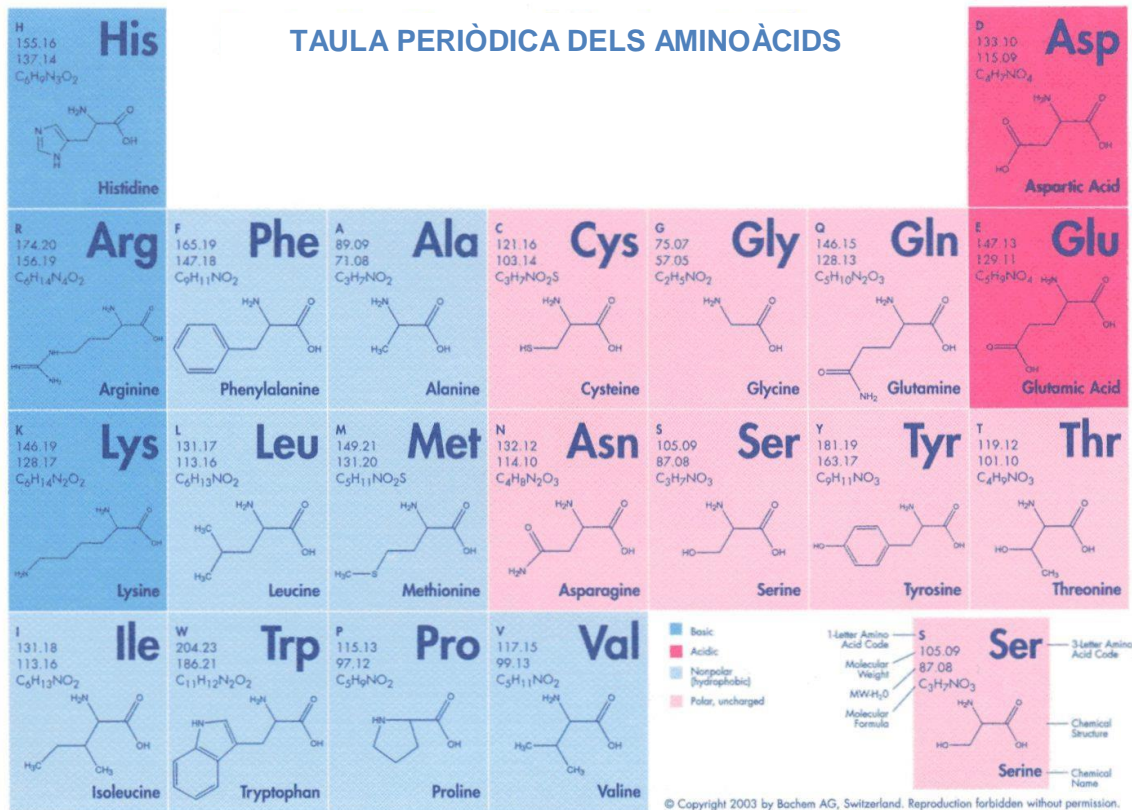


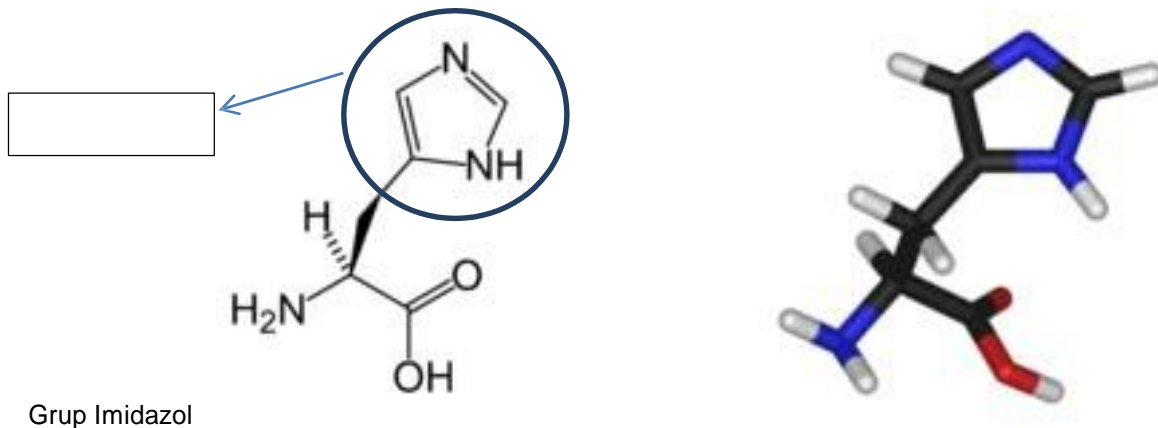
Figura 33: Taula periòdica dels aminoàcids

Font: [http://bioinformatica.uab.es/genetica/pr7/codi%20aa\\_sp.htm](http://bioinformatica.uab.es/genetica/pr7/codi%20aa_sp.htm)

A les dues mutacions estudiades, canvien els mateixos aminoàcids. A continuació, s'expliquen d'una manera més detallada.

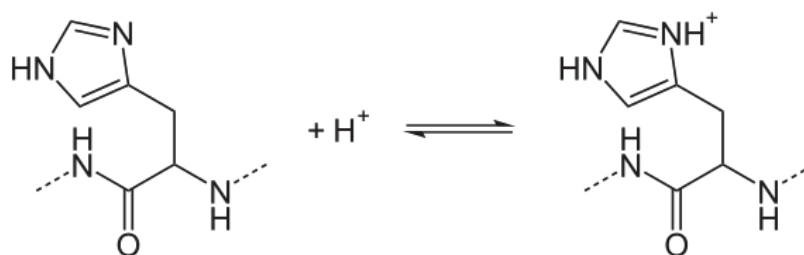
## I. HISTIDINA

La cadena lateral d'imidazol<sup>47</sup> de la histidina (**Figura 34**) i el seu pKa\*,<sup>48</sup> relativament neutre, porten a què petits canvis en el pH (36) cel·lular facin variar la seva càrrega. Per aquesta raó, la cadena lateral d'aquest aminoàcid és, amb freqüència, un lligand coordinador<sup>49</sup> en les metal·loproteïnes, i també un lloc catalític<sup>50</sup> en certs enzims(37). És un precursor de la biosíntesi d'histamina<sup>51</sup>. A l'ARNm, codifica com a CAU o CAC.



**Figura 34:** Histidina Font: <https://ca.wikipedia.org/wiki/Histidina>

Aquest equilibri químic és molt sensible. Entorn a pH lleugerament inferiors a 7 és habitual trobar la cadena lateral protonada, tal com es recull en la següent reacció (**Figura 35**):



**Figura 35:** Reacció de l'Histidina

<sup>47</sup> **IMIDAZOL:** L'imidazol és un intermediari de biosíntesi de la histidina que es forma des de l'imidazol glicerol fosfat amb la pèrdua d'aigua.

<sup>48</sup> **pKa:** És el logaritme negatiu de la constant de dissociació d'un àcid dèbil. (Diccionari.cat)

<sup>49</sup> **LLIGANT COORDINADOR:** En química de coordinació un lligand és una espècie rica en electrons (una base de Lewis) que forma part de l'esfera de coordinació d'un metall, generalment de transició.

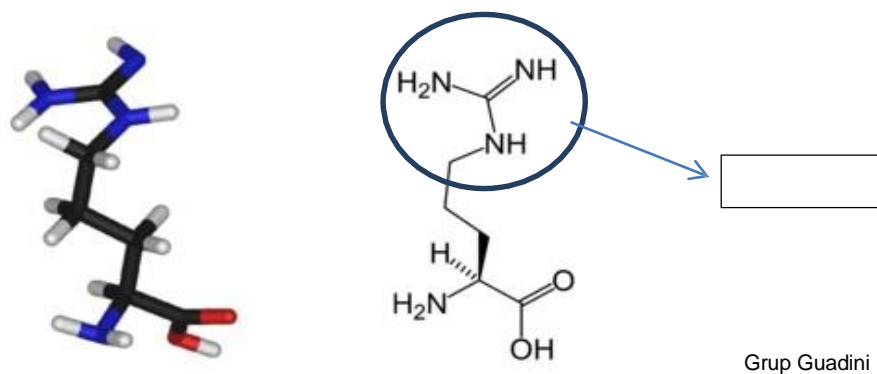
<sup>50</sup> **LLOC CATALÍTIC:** Lloc on es produeix la catàlisi.

<sup>51</sup> **HISTAMINA:** BIOQ [C<sub>5</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>] Hormona tissular produïda per descarboxilació de la histidina, que actua com a potent dilatador dels vasos sanguinis i dels capil·lars i provoca la contracció de la musculatura llisa. (Diccionari.cat)



## II. ARGININA

L'arginina (**Figura 36**) pot ser considerada un aminoàcid amfipàtic (38), ja que la part de la cadena lateral pròxima a l'esquelet és llarga, conté carboni i és hidrofòbica; mentre que l'extrem de la cadena lateral és un complex grup guanini. Amb un  $pK_a^* > 12$  (**Figura 37**), el grup guanini està carregat positivament en ambients àcids i neutres. Com a conseqüència de la ressonància del sistema conjugat, la càrrega positiva està deslocalitzada. Aquest grup pot formar diversos ponts d'hidrogen. Així, normalment, se'l considera un aminoàcid polar i no hidrofòbic.



**Figura 36:** Arginina **Font:** <https://ca.wikipedia.org/wiki/Arginina>

Aminoàcid	valores de $pK_a$ (25°C)		
	grupo $\alpha$ -COOH	grupo $\alpha$ -NH <sub>3</sub> <sup>+</sup>	Cadena lateral
Alanina	2,3	9,9	
Glicina	2,4	9,8	
Fenilalanina	1,8	9,1	
Serina	2,1	9,2	
Valina	2,3	9,6	
Ácido aspártico	2,0	10,0	3,9
Ácido glutámico	2,2	9,7	4,3
Histidina	1,8	9,2	6,0
Cisteïna	1,8	10,8	8,3
Tirosina	2,2	9,1	10,9
Lisina	2,2	9,2	10,8
Arginina	1,8	9,0	12,5

Tomado de J. T. Edsall y J. Wyman, *Biophysical Chemistry* (Academic Press, 1958), Capítulo 8.

**Figura 37:** Valors de  $pK_a$  d'alguns aminoàcids **Font:** [www3.uah.es](http://www3.uah.es)





## B. ESTUDIS MOLECULARS

Inicialment, no es va identificar cap membre viu de la família que estigués afectat, per tant, el material genètic (39) es va obtenir de tres subjectes que havien mort (III2, III-6, i IV-2), permetent l'anàlisi de DNA de subjectes afectats.

Més recentment, es va aconseguir una mostra de sang d'un subjecte afectat viu (III3), a més de material tumoral de III-8 i de la sang dels subjectes no afectats (III1, III-5, III11, III-15 i IV-1), tot donat només amb fins d'investigació. A banda d'això, es va obtenir material tumoral de IV-14.

Per tant, es va disposar de mostres de DNA de 11 membres de la família, cinc afectats i quatre amb el 50% de risc. Després, utilitzant el tumor de IV-2, es va fer servir estudis de detecció mutacional en el gen TP53 mitjançant la tècnica HOT\*, que no va poder detectar una mutació. Tot seguit, es va utilitzar un microsatèl·lit dinucleòtid<sup>53</sup> per analitzar la segregació dels al·lels de TP53, i es van estudiar mostres de III-2, III-5, III6, III-11, III13, III15, IV 1 i IV-2. Es va identificar una possible mutació al gen TP53 en III-2, III-6, III-13 i IV-2, amb excepció de IV-1. Quan més mostres de DNA procedents de subjectes afectats i no afectats van estar disponibles, es va seqüenciar la regió de codificació completa en dos subjectes (III-8, III-13), usant un model de seqüenciador ABI 373. Anteriorment, seqüències d'encebadors<sup>54</sup> s'havien utilitzat per analitzar tot el gen, exó per exó. Una mutació de sentit erroni idèntica es va trobar a l'exó 5 en el DNA de la sang de III-13 i en el tumor de III-8. Aquesta mutació estava dins del codó 175.

L'amplificació de l'exó 5 va permetre analitzar ràpidament totes les mostres de DNA disponibles de la família. La seqüenciació directa de l'exó 5 es va utilitzar per confirmar la presència o l'absència de la mutació. De les mostres disponibles, 6 van mostrar una mutació (III-2, III-6, III-8, III-13, IV-1, IV-2), que confirmava les dades anteriors. Cinc persones no tenien la mutació (III-1, III-5, III-11, III-15 i IV-14). En canvi, III-5, III-11, i III-15, que prèviament havien estat avaluats en risc del 50%, eren portadors no afectats. El DNA de quatre tumors estava disponible, 3 d'ells van mostrar la pèrdua de l'al·lel de tipus salvatge<sup>55</sup> (III2, III-8, i IV-2).

---

<sup>53</sup> **MICROSATÈL·LIT:** *Estan composts per seqüències bàsiques de 2-4 nucleòtids, la repetició dels quals en tàndem origina freqüentment seqüències de menys de 150 nucleòtids. Alguns exemples importants són el dinucleòtid CA i el trinucleòtid CAG*

<sup>54</sup> **ENCEBADOR:** *BIOQ Segment de DNA o de RNA que és reconegut pel DNA polimerasa per a engegar la duplicació del DNA. (Diccionari.cat)*

<sup>55</sup> **AL·LEL TIPUS SALVATGE:** *Al·lel normal.*

A la taula següent s'indiquen els tumors que han patit cada membre de la família:

Subjecte	Càncer diagnosticat	Edat
1·1	Tumor cerebral ( no confirmat)	42
11-1	Adenocarcinoma gàstric	35
11-2	Càncer de pit (esquerre)	37
IH	Carcinoma de laringe <sup>56</sup> (no confirmat)	21
III-2	Glioma <sup>57</sup> de grau alt	34
III-4	Sarcoma <sup>58</sup> de pelvis	16
III-6	Sarcoma de pell	31
	Adenocarcinoma gàstric <sup>59</sup>	35
III-8	Tumor cerebral	29
	Càncer de pit (dret)	32
	"Upoma"	32
III-13	Tumor cerebral	31
IV-2	Adenoma <sup>60</sup>	2
IV-6	Sarcoma ossi	11
IV-12	Leucèmia	13

**Taula 3:** Tumors diagnosticats en els membres de la família amb la mutació a la posició 175

<sup>56</sup> **CARCINOMA DE LARINGE:** PAT Tumor epitelial maligne amb tendència a infiltrar els teixits veïns i a donar metàstasis per via limfàtica o sanguínia que afecta la laringe. (Diccionari.cat)

<sup>57</sup> **GLIOMA:** PAT Tumor dels centres nerviosos de la retina. (Diccionari.cat)

<sup>58</sup> **SARCOMA:** PAT Nom genèric dels tumors malignes del teixit conjuntiu i de sosteniment. (Diccionari.cat)

<sup>59</sup> **ADENOCARCINOMA GÀSTRIC:** PAT Tumor maligne de l'epiteli glandular o dels seus conductes excretors. (Diccionari.cat)

<sup>60</sup> **ADENOMA:** PAT Tumor benigne degut a la proliferació d'un epiteli glandular normal. (Diccionari.cat)

### C. DISCUSSIÓ

La família estudiada té tumors d'aparició primerenca en quatre generacions, dels quals els de còlon i càncer d'endometri estan absents. Els tumors malignes han estat particularment severes. Dues persones van desenvolupar un sarcoma durant la infància, clàssic en malalts que pateixen la LFS. També és clàssica la presència de tumors cerebrals en els quatre subjectes. S'ha aconseguit trobar un augment en el risc de càncer de mama en mares de nens amb osteosarcoma. La presència d'un adenoma de l'escorça suprarenal és també característic en les famílies que pateixen la síndrome, tot i que la majoria dels informes especifiquen carcinoma de l'escorça suprarenal. El desenvolupament de dos tumors gàstric i càncer de laringe en edats més joves en aquesta família és inusual per a LFS.

S'ha demostrat la presència de la mutació del codó 175 en la família, incloent el DNA d'un pacient amb una clara cèl·lula gàstrica afectada per un adenocarcinoma (III-6). Tres dels quatre tumors aquí presentats han demostrat la pèrdua de l'al·lel de tipus salvatge, el que suggereix que el mutant TP53 està funcionant com un gen supressor de tumors en aquesta família.

Entre les famílies amb la síndrome de Li-Fraumeni, la presència d'un carcinoma de l'escorça suprarenal en un nen petit sembla confirmar que hi ha una alta probabilitat de que porti una mutació de la TP53 en la línia germinal. La troballa de la mutació del codó 175 en aquesta família, que inclou a un nadó amb un adenoma de l'escorça suprarenal, afegeix pes a aquesta observació.

#### IV. MUTACIÓ POSICIÓ 337

Al Brasil, s'ha trobat una mutació específica en el codó R337H, concretament a l'exó 10, el qual codifica el domini d'oligomerització<sup>61</sup> de la p53. Aquesta mutació va ser identificada per primera vegada en els nens amb carcinoma de l'escorça suprarenal (ADC) en famílies sense una història de càncer familiar reportada. Per aquesta causa i basant-se en l'anàlisi del loci 4 hipervariable en el braç curt del cromosoma 17, s'havia arribat a la conclusió que la mutació podria haver sorgit independentment en diferents pacients, potser a causa d'un mutagen ambiental<sup>62</sup>.

No obstant això, analitzant un grup més gran de casos i controls, es va suggerir que un efecte fundador era estadísticament probable. La freqüència dels al·lels de R337H en la població del sud-est i sud del Brasil és prop de 15 vegades més alta que en la mitjana mundial associada amb la LFS.

Amb el pH en estat normal (fins a 7,5), la proteïna mutant forma oligòmers i reté la seva funció supressora. No obstant això, quan hi ha un pH fisiològic alt, la histidina substitueix una arginina en el codó 337, i la p53 és incapaç de donar un enllaç d'hidrogen crític per a la dimerització de la proteïna.

Això evita que es produeixi un factor de transcripció funcional en la p53. Aquesta característica bioquímica única podria contribuir a les característiques particulars de les famílies R337H, que sovint mostren una penetrància incompleta i pateixen tumors heterogenis.

Les anàlisis de patrons de tumors en portadors i de les seves famílies en R337H van revelar totes les característiques comunes de la LFS, establint clarament que aquesta mutació predisposa a un ampli espectre de múltiples tipus de càncer. En portadors de R337H, la penetrància<sup>63</sup> als 30 anys és inferior al 20% (enfrent d'un 50% en el "clàssic" LFS). No obstant això, la penetrància durant tota la vida és d'aproximadament el 90%, similar a la LFS clàssica.

---

<sup>61</sup> **DOMINI D'OLIGOMERITZACIÓ:** *Les cèl·lules animals tenen, a més dels TLRs, una altra classe diferent de molècules que actuen com a receptors intracel·lulars de PGN. Aquestes molècules denominades dominis d'oligomerització d'unió a nucleòtids (NOD) es localitzen al citoplasma de les cèl·lules presentadores d'antigen (APC), com ara macròfags i cèl·lules dendrítiques (DC) i cèl·lules epitelials.*

<sup>62</sup> **MUTAGEN AMBIENTAL:** *GEN Dit de l'agent ambiental físic o químic capaç d'augmentar la taxa de mutació d'un organisme.*

<sup>63</sup> **PENETRÀNCIA:** *GEN Freqüència, expressada en tant per cent, amb què un gen present en un conjunt d'individus es manifesta fenotípicament. (Diccionari.cat)*

## V. COMPARACIÓ PROTEÏNA SENSE MUTACIONS AMB PROTEÏNES AMB MUTACIONS

Com procediment inicial d'aquest treball, es compararan les diverses mutacions amb la proteïna normal, també anomenada salvatge, per veure si la substitució d'un aminoàcid per un altre provoca un gran canvi a l'estructura de la proteïna. També s'analitzarà el mateix canvi d'un aminoàcid a un altre, depenent de la posició que es produeixi, perquè les dues proteïnes mutades que s'han estudiat pateixen el mateix reemplaçament, però a diferents posicions de la proteïna.

Per fer-ho, s'han obtingut les seqüències de la base de dades *Uniprot*. En primer lloc, s'han representat les seqüències amb el programa *swiss-model* i s'han obtingut les proteïnes, representades en un fitxer. Després, s'ha utilitzat el visor de proteïnes *Ras win* per poder obrir el fitxer, poder observar-les i poder treure conclusions.

### A. MUTACIÓ POSICIÓ 175/PROTEÏNA NORMAL

Com a primer pas d'aquest treball, es compararà l'estructura de les dues proteïnes. Visualment, les proteïnes són totalment diferents, ja que el programa que ha simbolitzat les seqüències, en la proteïna mutant, només ha representat un tros i l'estructura queda tallada. Així que, en aquesta aproximació, només s'estudiarà la zona al voltant de la mutació, marcada amb un cercle blanc a les **Figures 38 i 39**.



**Figura 38:** proteïna mutant posició 175  
**Font:** Pròpia



**Figura 39:** Proteïna normal  
**Font:** Pròpia

Tot seguit, s'ampliaran les dues fotografies per la zona encerclada, amb la intenció de poder centrar l'anàlisi a la zona mutada i poder observar quins canvis es produeixen. Al ser una mutació que només afecta un aminoàcid, l'estructura de les dues proteïnes hauria de ser semblant, encara que hauria de permetre que la proteïna mutant no pogués interaccionar amb el DNA.



**Figura 40:** p53 salvatge zona 175 ampliada  
Font: Pròpia

Un cop ampliada la imatge, es pot observar que l'estructura al voltant de la mutació varia una mica.

A la proteïna salvatge (**Figura 40**), és a dir, la p53 normal, és pot apreciar que hi ha una alfa hèlix 3-10 que dóna lloc a un llaç amb una forma concreta. A la banda esquerra de la mutació, es poden apreciar molts pocs llaços.

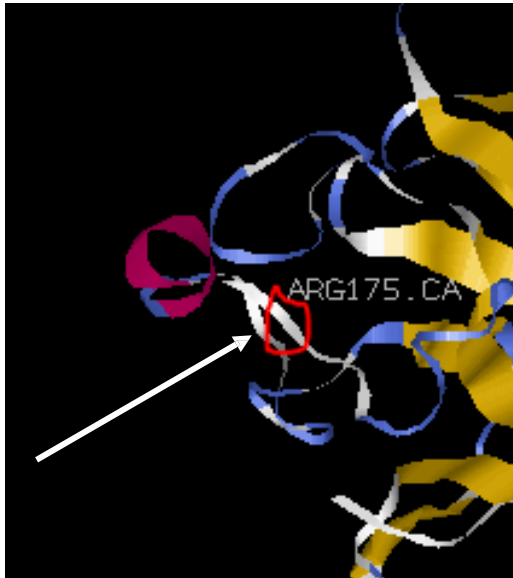


**Figura 41:** p53 mutant posició 175 ampliada  
Font: Pròpia

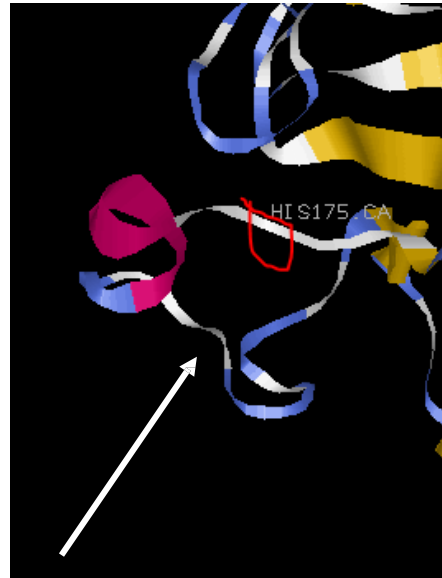
En canvi, a la proteïna p53 mutant (**Figura 41**), es pot indicar que, encara que hi hagi el mateix alfa hèlix 3-10, el llaç, que ve a continuació i que queda a la dreta de la mutació, està disposat de manera diferent a l'espai.

A part d'això, també es pot verificar un increment al nombre de llaços, a la part esquerra de la zona mutada.

A continuació, s'observarà la mutació des d'una altra òptica:



**Figura 42:** p53 salvatge zona 175 ampliada 2  
**Font:** Pròpia



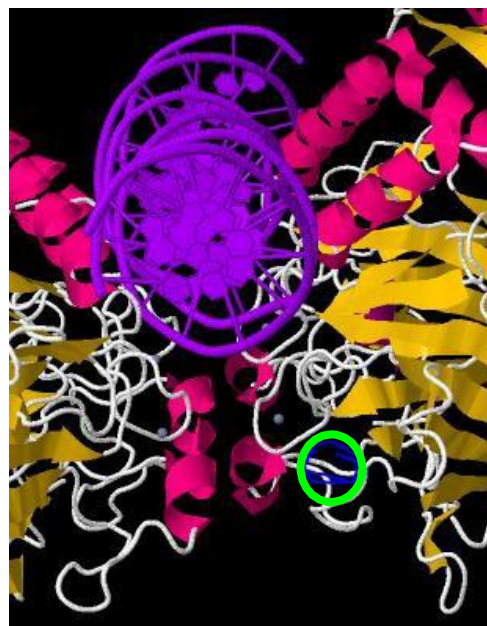
**Figura 43:** p53 mutant 175 zona ampliada 2  
**Font:** Pròpia

Des d'aquesta perspectiva, el que es pot comprovar és que el canvi que es produeix de l'arginina a l'histidina provoca una separació entre els llaços, és a dir, a la proteïna salvatge (**Figura 42**), estan molt més a prop a l'espai que a la proteïna mutant (**Figura 43**).

Tots aquests canvis no poden semblar molt significatius; però, la zona 175 és una de les demarcacions on la proteïna s'enganxa al DNA. Si aquesta zona pateix una variació, la proteïna podrà no enganxar-se al DNA. Tot seguit, s'han agafat les dades de la proteïna i s'han cercat al *PDB* (proteïna data bank). Allà, s'ha buscat una imatge (**Figures 44 i 45**) on s'indiqués les zones per on la proteïna s'enganxa al DNA.



**Figura 44:** p53 amb la cadena de DNA  
**Font:** Pròpia



**Figura 45:** p53 amb la cadena de DNA 2  
**Font:** Pròpia



Observant aquestes imatges (**Figures 44 i 45**), es pot afirmar que la zona 175 no està tocant el DNA, però està molt propera. D'altra banda, en la mutació, es produeix el canvi d'una arginina per una histidina. Com ja s'ha comentat abans (mirar secció aminoàcids, pàgines 58-60), la histidina és un aminoàcid que, depenent del seu pH, pot passar a ser base o àcid.

Per tant, les conclusions que podem treure d'aquesta mutació són:

- El gran cúmulo de làmines beta (40) queda, més o menys, amb la mateixa estructura, encara que pateix alguns canvis.
- Queda modificada la distribució a l'espai dels llaços que estan situats a prop de la mutació. En la mutació, els llaços queden més separats els uns dels altres que a la proteïna normal.
- La zona mutada canvia la seva disposició a l'espai.
- El canvi de l'arginina, que en pH fisiològic està carregada molt positivament (+2), per la histidina, que en pH fisiològic és neutre (una mica carregada positivament, +0'4), pot provocar que la proteïna no s'enganxi amb el DNA, ja que el DNA està carregat molt negativament, i si es produeix el canvi d'aquests aminoàcids, la histidina pot no tenir la suficient càrrega com per atreure la cadena de DNA. A més, la zona afectada està a prop dels punts d'unió de la proteïna amb el DNA, per tant es reafirma aquesta teoria.
- Tots aquests canvis generaran que la p53 mutada deixi de fer la seva funció i que, per tant, es produeixi la malaltia.

## B. MUTACIÓ POSICIÓ 337/PROTEÏNA NORMAL

Tot seguit, es compararà el mateix aminoàcid mutant, és a dir, una arginina que passa a ser una histidina, però en una diferent posició, concretament a la 337.

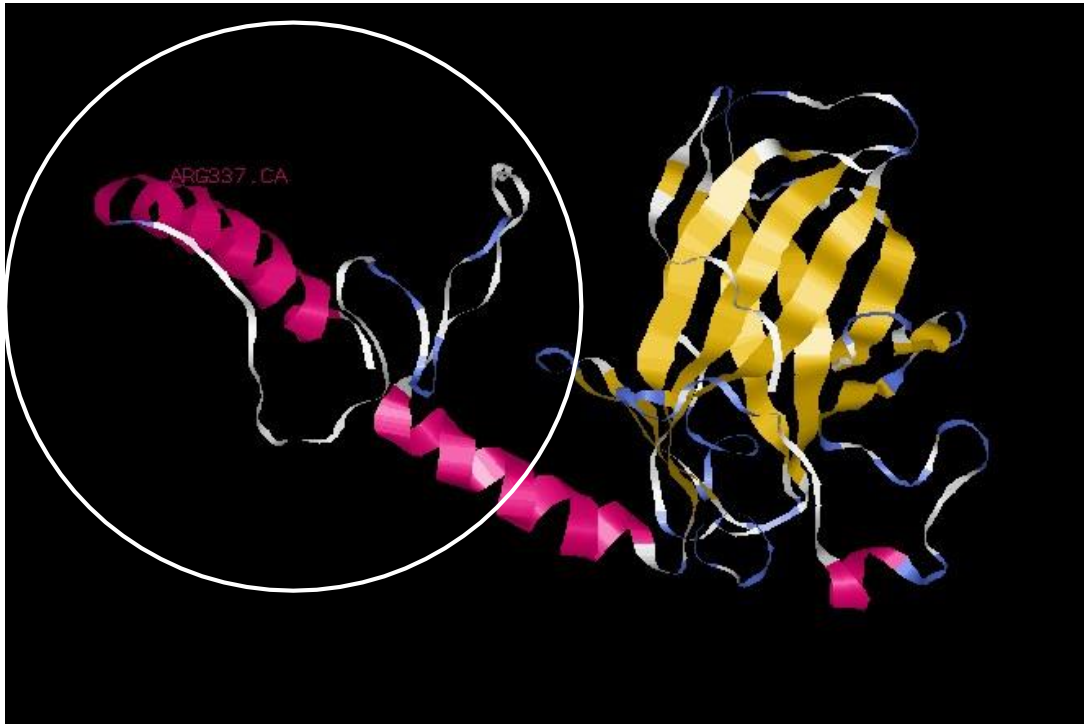


Figura 46: p53 salvatge Font: Pròpia

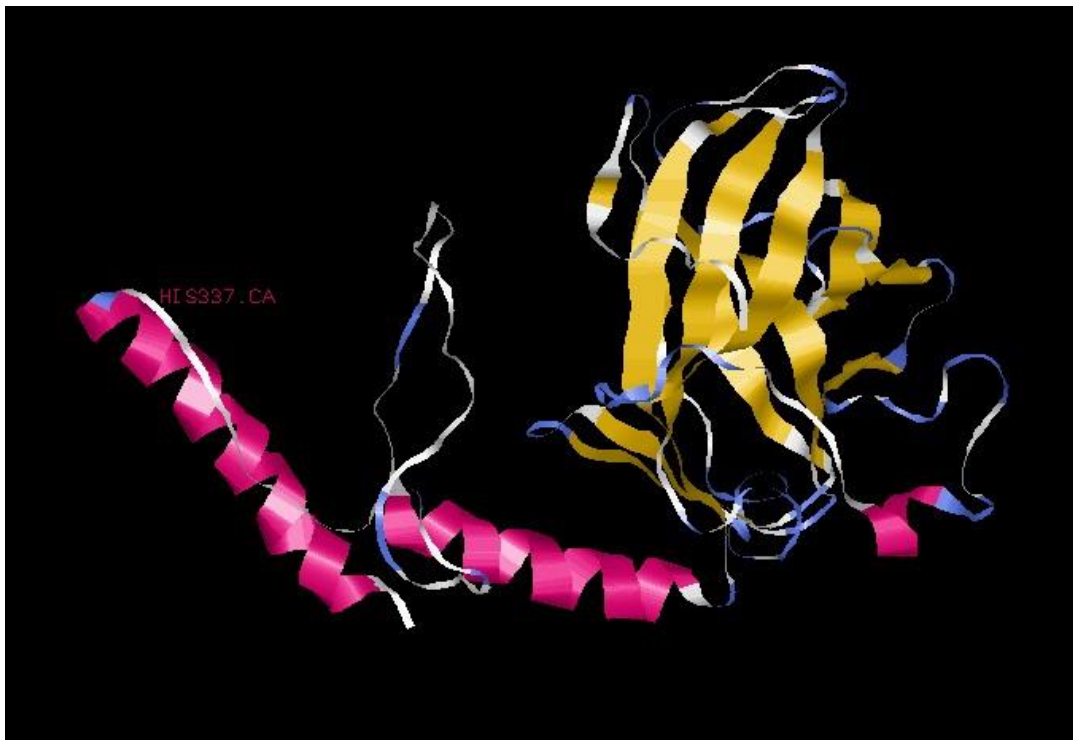
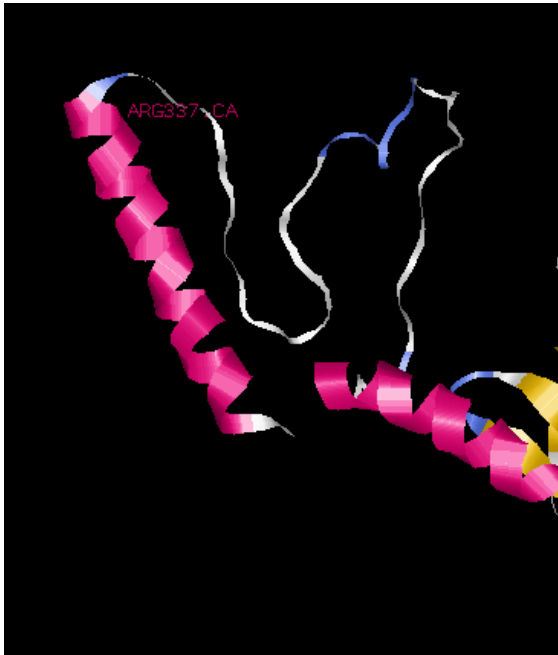
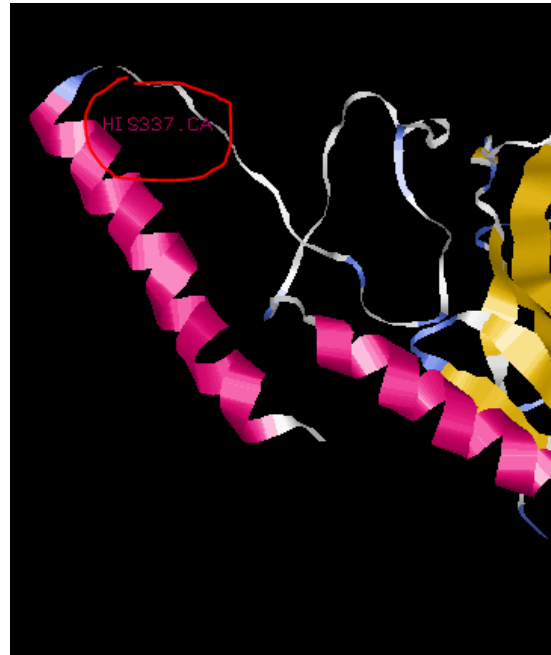


Figura 47: p53 mutant posició 337 Font: Pròpia

A simple vista, la proteïna salvatge (**Figura 46**) i la proteïna mutant (**Figura 47**) són bastant semblants, per no dir gairebé idèntiques. Però, si s'analitza amb deteniment, al lloc 337, que està col·locat a l'extrem d'una de les dues grans alfa hèlix (41), es percep que la mutació provoca canvis en els llaços que uneixen aquestes estructures. A continuació, s'ampliaran les fotografies per poder comprovar millor el procés descrit que es produeix a la zona marcada amb una fletxa.



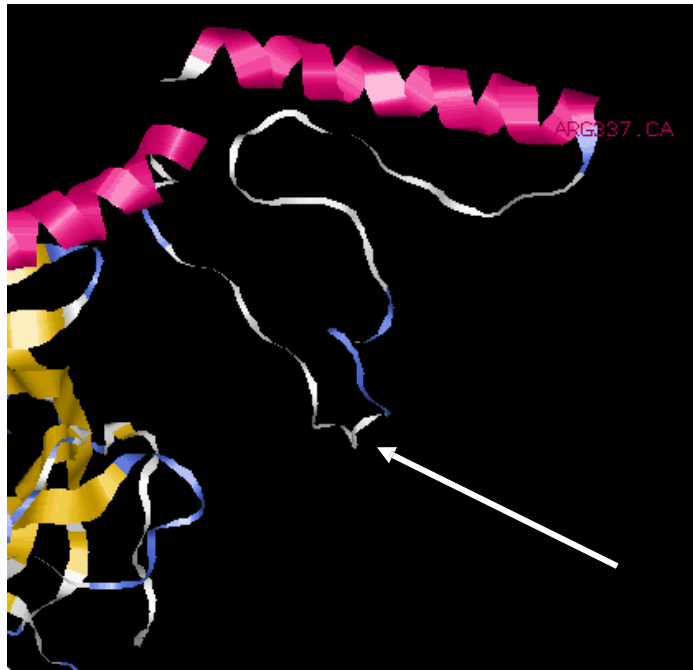
**Figura 48:** p53 salvatge posició 337 ampliada  
Font: Pròpia



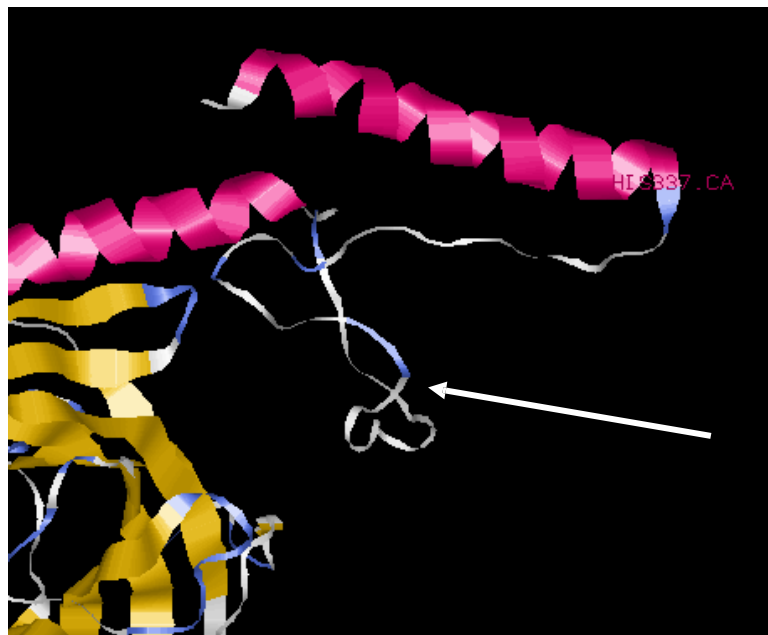
**Figura 49:** p53 mutant posició 337 ampliada  
Font: Pròpia

En aquestes imatges més detallades, s'observa que l'estructura a l'espai dels llaços, que uneixen les dues grans alfa hèlix, queda totalment canviada. A la proteïna normal (**Figura 48**), els llaços que envolten les dues proteïnes queden units de manera lineal, però amb corbes. En canvi, els llaços de la proteïna mutant (**Figura 49**) fan un plegament; de fet realitzen com una volta a ells mateixos, abans de lligar les dues alfa hèlix. Això també provoca que les dues estructures quedin una mica més a prop l'una de l'altre.

Ara, com s'ha fet amb anterioritat, s'observarà des d'un altre punt de visió.



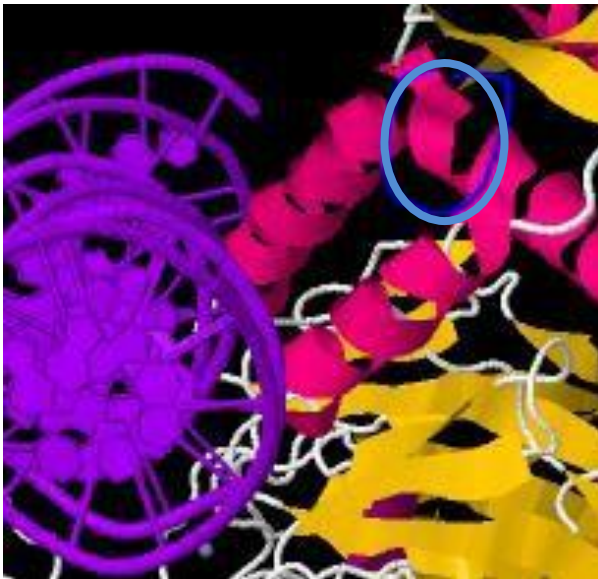
**Figura 48:** p53 salvatge posició 337 ampliada 2  
**Font:** Pròpia



**Figura 49:** p53 mutant posició 337 ampliada 2  
**Font:** Pròpia

Amb aquestes imatges (**Figures 50 i 51**), es pot confirmar que els llaços que uneixen les dues alfa hèlix queden canviats i que, per tant, l'estructura de la proteïna mutant varia una mica.

Per acabar, s'observarà si la zona 337 està a prop de la cadena de DNA.



**Figura 51:** p53 salvatge amb cadena de DNA 2  
Font: Pròpia



**Figura 50:** p53 amb cadena de DNA  
Font: Pròpia

En aquestes imatges (**Figures 52 i 53**), es pot apreciar que la zona 337 està a prop de la cadena de DNA. Però, si s'observa atentament, el que està més a prop del DNA és l'altre alfa hèlix, la que està unida a la zona de la mutació (**Figura 53**). Per tant, es pot afirmar que, si la zona 337 canvia, els llaços que uneixen les dues alfa hèlix també ho faran i això pot comportar que, a l'estar tant a prop de la cadena de DNA, la cadena no s'enganxi suficientment bé.

Ara bé, un altre factor que pot ajudar a que aquesta mutació no s'enganxi a la cadena de DNA és el canvi d'aminoàcids que s'ha produït. Com ha passat en la mutació anterior, s'ha produït un canvi d'una arginina (+2 positiu) a una histidina (+0'4 positiu).

En definitiva, les conclusions que podem treure d'aquesta mutació són:

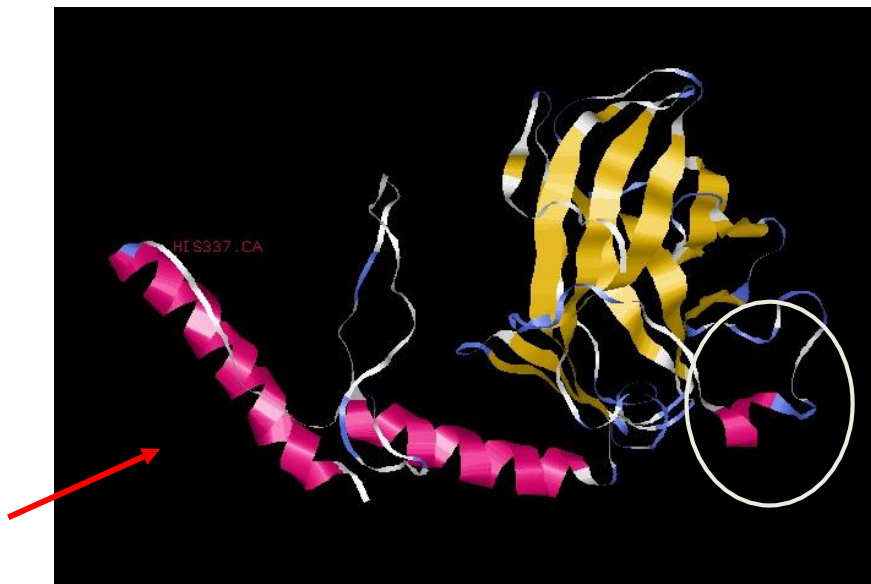
- El gran cúmulo de làmines beta queda, més o menys, amb la mateixa estructura.
- Les dues alfa hèlix queden disposades de manera semblant a l'espai.
- Els llaços que connecten les dues grans estructures (on es troba la posició mutada) queden modificats.

- El canvi de l'arginina, que en pH fisiològic està carregada molt positivament (+2), per la histidina, que en pH fisiològic és neutre (una mica carregada positivament, +0'4), pot provocar que la proteïna no s'enganxi amb el DNA, ja que el DNA està carregat molt negativament, i si es produeix el canvi d'aquests aminoàcids, la histidina pot no tenir la suficient càrrega com per atreure la cadena de DNA. A més, la zona afectada està a prop dels punts d'unió de la proteïna amb el DNA.
- Per tant, es reafirma aquesta teoria: tots aquests canvis generaran que la p53 mutada deixi de fer la seva funció i que, degut a això, es produeixi la malaltia.

### C. MUTACIÓ POSICIÓ 175 / MUTACIÓ POSICIÓ 337

Per finalitzar, es compararan les dues mutacions. Aquestes mutacions, com ja s'ha comentat amb anterioritat, canvien el mateix aminoàcid, una arginina per una histidina, però ho fan en posicions diferents.

Les dues proteïnes no acaben de tenir la mateixa estructura perquè una part de la proteïna mutant a la posició 175 no ha estat modelada per el SWIIS MODEL. Tot i així, s'analitzarà la zona 175, on les dues comparteixen la mateixa estructura (zona marcada amb una rodona blanca a les imatges) (**Figures 54 i 55**).



**Figura 52:** p53 mutant posició 337  
**Font:** Pròpia



**Figura 53:** p53 mutant posició 175  
**Font:** Pròpia

Observant aquestes dues imatges es pot afirmar que:

- L'estructura de la proteïna mutant 175 (**Figura 55**) està tallada i li falten les alfa hèlix (marcada amb una fletxa vermella a les imatges). Per tant, no es poden comparar les dues posicions 337 (**Figura 54**). A part d'això, es pot indicar que les proteïnes mutants tenen una estructura semblant, menys a la zona 175, on a les dues proteïnes serà diferent, ja que la posició 175 de la p53 (**Figura 55**) estarà mutada; en canvi, en la **Figura 54**, la proteïna tindrà la zona 175 idèntica a la de la p53 salvatge.
- Les làmines beta estan disposades a l'espai de manera semblant a les dues proteïnes.



## 5. CONCLUSIÓ

En aquest estudi, he après que la LFS és una malaltia hereditària que es transmet segons un patró autosòmic dominant. El seu gen, el TP53, i la seva proteïna, la p53, són les encarregades de corregir la duplicació errònia d'una cèl·lula, fent-la entrar en senescència o en apoptosi. Quan aquest gen i aquesta proteïna estan malament a causa d'un factor hereditari i no són capaces d'aturar aquesta cèl·lula, erròniament duplicada, aleshores es produeix la LFS. Això comporta que el nostre cos pateixi tot tipus de càncers.

A l'estudiar aquesta malaltia, també he analitzat la proteïna p53. Aquesta proteïna, anomenada "*guardiana del genoma humà*", és l'encarregada, com ja he comentat abans, de rectificar la mala duplicació d'una cèl·lula. No totes les mutacions d'aquesta proteïna provoquen els mateixos càncers, i tampoc totes aquestes mutacions provoquen la malaltia que he estudiat, ja que, si la mutació no depèn d'un factor hereditari, no podrà provocar la LFS.

En el cas d'aquesta síndrome, els càncers que provoca són molt més agressius que un càncer normal i no es poden tractar amb els mètodes convencionals de quimioteràpia i radioteràpia. Per això, s'estan investigant possibles tractaments per analitzar si tots aquests càncers tenen un mateix patró, amb la intenció de poder trobar una solució. Entre aquests treballs, destaca l'estudi de l'Hospital de la Vall d'Hebron dirigit per l'equip de modelització de teràpies antitumorals en rates, liderat per la Dra. Laura Soucek.

La LFS presenta una sèrie de càncers característics que constitueixen el 80% dels tumors que provoca aquesta malaltia: càncer de mama, sarcoma, càncer cerebral i el carcinoma de l'escorça suprarenal. Però, aquesta malaltia també provoca altres tipus de càncers, que cada vegada són més freqüents, com la leucèmia.

A més, al ser una malaltia minoritària, és bastant difícil de diagnosticar i, sovint, es confon amb un tipus de càncer normal. Per això, s'han establert els criteris de diagnòstic *Chompret*. Aquest criteris són molt útils perquè analitzen la història familiar del pacient, (si els familiars propers han patit una sèrie de càncers, pot ser que pateixi aquesta síndrome), i perquè també es fixen en l'edat en què ha aparegut el càncer.

Els càncers i tumors produïts per aquesta malaltia tendeixen a ser molt primerencs, és a dir, que apareixen en edats molt joves. Aquesta última dada l'he pogut comprovar mitjançant l'estudi fet a l'apartat de *Dades de casos reals*. A aquest treball, es pot constatar l'edat d'aparició del càncer a les diferents generacions i com, a mesura que van passant els anys, apareixen més càncers infantils.

Després d'analitzar aquesta investigació de dades de casos reals, m'he centrat en estudiar les mutacions. He estudiat dues mutacions de la p53 que es donen en la LFS. Per fer-ho, he utilitzat eines bioinformàtiques. Abans d'analitzar pròpiament les mutacions, he descrit què són les bases de dades i què és un visor de proteïnes. Això m'ha servit per entendre i aplicar les diferents observacions a les p53 mutants.

Per poder fer un estudi rigorós, les he estudiat per separat. Aquestes mutacions tenen la peculiaritat de que és el mateix aminoàcid el que canvia, però ho fa en diferent posició: el primer, canvia a la posició 175; el segon, a la posició 337. No obstant això, el canvi que es produeix és el mateix: el d'una arginina per una histidina.

Primer, he analitzat la p53 mutant a la posició 175. Per això, he estudiat un estudi familiar provocat per la mutació 175. En aquesta família es van trobar dos carcinomes gàstrics, càncers poc freqüents en la LFS. També es van trobar 12 familiars amb un o més d'un tipus de càncers.

Després, he analitzat la p53 mutant a la posició 337. Aquesta mutació és freqüent a Brasil i produeix un tipus de càncer concret: carcinoma de l'escorça suprarenal. A Brasil, aquest tipus de càncer és 15 vegades més freqüent que a la mitjana mundial. Aquesta mutació, encara que, al principi, no es van trobar casos familiars que la patissin, no deixa de ser una variació que, al Brasil, provoca la LFS. A més, a part d'aquest, també causa molts altres tipus de càncers, encara que aquest sigui el més destacat.

Més tard, per analitzar les proteïnes mutants, he extret les seqüències d'aminoàcids de la base de dades *UniProt* per, després, poder-les modelar amb el programa *swiss-model*. Un cop he obtingut els fitxers, els he obert al visor de proteïnes *RasMol* per observar-los.

Les posicions de les proteïnes mutants estan a prop de la cadena de DNA. Això ho he pogut comprovar mitjançant la base de dades PDB (*protein data bank*). Això implica que un petit canvi a l'estructura d'aquesta proteïna en aquestes posicions pot ajudar a que la proteïna mutant no s'enganxi a la cadena de DNA. A més, el canvi d'un aminoàcid amb càrrega molt positiva per un altre amb càrrega poc positiva, pràcticament neutre, ajuda a que la proteïna no aconseguixi atreure la cadena de DNA i la proteïna deixi de fer la seva funció.

En definitiva, la LFS és una malaltia minoritària, per la qual encara no s'ha trobat cura i que té moltes possibles mutacions que la poden propiciar (mirar taula annex, pàgines 87-90). Però, degut a què aquesta malaltia és molt agressiva amb les persones que la pateixen, s'estan destinant molts recursos i molts estudis per trobar una possible cura o un possible tractament, no només per la LFS, sinó per a tots els càncers produïts per la mutació del gen TP53 i la seva proteïna p53, ja que, com he comentat abans, la p53 és l'encarregada de protegir el nostre genoma de possibles duplicacions errònies del nostre DNA.

## 6. VOCABULARI/GLOSSARI

Ordenats per ordre alfabètic i numerats per ordre d'aparició al text:

**Alfa Hèlix(41)** :És una estructura enrotllada en una espiral dextrogira, en què cada grup N-H d'un aminoàcid n pot establir un enllaç pont d'hidrogen amb el grup C=O de l'aminoàcid n+4 de la mateixa cadena peptídica.

**Amfipàtic(38)**: Una molècula amfipàtica o anfifílica és aquella molècula que en la seva estructura molecular té un extrem hidrofílic -que és soluble en aigua- i un altre d'hidrofòb -que rebutja l'aigua.

**Aminoàcid(12)**: m QUÍM ORG/BIOQ/BIOL MOL 1 Substància orgànica que té almenys una funció àcid carboxílic i una funció amina.

**Apoptosi(30)**: S'entén per apoptosi el mecanisme de mort cel·lular programada genèticament que permet l'eliminació de cèl·lules envellides, malmeses o sobreres.

**Càncer(19)**: PAT Creixement tumoral dels teixits incoordinat amb les necessitats de l'organisme, de caràcter maligne i pertorbador de les funcions biològiques normals.

**Carcinomes de l'escorça suprarenal(32)**: Tipus de càncer on es formen cèl·lules canceroses en la capa exterior de la glàndula suprarenal.

**Cèl·lules eucariotes(10)**: Dit de la cèl·lula que posseeix el nucli diferenciat.

**Cicle cel·lular(20)**: El cicle cel·lular és el procés que segueix tota cèl·lula especialment en relació als seus processos de divisió i proliferació, així com els punts de control de pas a cada fase del cicle.

**Codi genètic(13)**: El codi genètic és un conjunt de normes, que permeten la conversió de seqüències d'àcids nucleics (ADN o ARN) en proteïnes dins les cèl·lules dels éssers vius, en el procés de síntesi de proteïnes.

**Cromosomes homòlegs(22)**: Un cromosoma homòleg és cadascun del parell de cromosomes que té un organisme eucariota diploide, i que aparella entre si durant la meiosi.

**DNA polimerasa(27):** És una proteïna enzimàtica encarregada de duplicar les cadenes de DNA durant la replicació.

**Dominis proteics(31):** Els dominis proteics són agrupacions globulars o clusters de cadenes polipeptídiques que estan constituïdes per més de 200 residus (aminoàcids).

**Enzim(37):** BIOQ 1 Cadascun dels biocatalitzadors de natura proteica que intervenen en el metabolisme dels éssers vius modificant, i sovint accelerant, la velocitat de les reaccions químiques cel·lulars que a les condicions normals de pH i temperatura s'esdevindrien amb molta lentitud.

**Enzims de reparació(26):** Són els enzims que s'encarreguen de reparar el DNA.

**Epigenètiques(29):** L'epigenètica, estudia com l'ambient i la història de l'individu influeixen sobre l'expressió dels gens i més exactament el conjunt de la transmissió dels caràcters adquirits d'una generació a l'altra i reversibles de l'expressió gènica sense alteració de la seqüència de nucleòtids.

**Exó(5):** Un exó és cada un dels segments de DNA codificant d'un gen que contenen informació i no són eliminats en la maduració de l'ARN missatger (ARNm).

**Gen(3):** m GEN Cadascuna de les unitats hereditàries elementals de funció fisiològica.

**Genoma(21):** GEN Contingut total de DNA propi del conjunt de cromosomes d'una espècie.

**Heterogeneïtat fenotípica(35):** Diferents conjunts de caràcters visibles que un organisme presenta com a resultat de la interacció entre el seu genotip i el medi ambient (gènic, físic, hormonal, etc.)

**Inhibidor(25):** BIOL Repressor.

**Intró(6):** Un intró és una regió del DNA compresa en la regió codificant d'un gen però que no s'arriba a expressar, és a dir, la seva seqüència no s'utilitza quan se sintetitza la corresponent proteïna.

**Làmines beta(40):** Les làmines beta consisteixen en cadenes beta connectades lateralment com a mínim amb dues o tres enllaços d'hidrogen, formant, així, una làmina plegada.

**Malaltia hereditària(2):** És una malaltia genètica caracteritzada per transmetre's de generació en generació, és a dir de pares a fills i que es pot o no manifestar en algun moment de les seves vides.

**Material genètic(39):** El material genètic serveix per a emmagatzemar la informació genètica d'una forma de vida orgànica.

**Meiosi(9):** Procés de divisió cel·lular consistent en dues divisions nuclears successives per tal de formar gàmetes o espores sexuals que tenen la meitat de material genètic que la cèl·lula original.

**Mitosi(8):** Procés de divisió de les cèl·lules somàtiques dels eucariotes, que consisteix, fonamentalment, en una divisió longitudinal dels cromosomes i en una divisió del citoplasma, i que origina dues cèl·lules filles genèticament iguals.

**Mutació fundadora(33):** És una mutació que apareix en el DNA de un o més individus que són fundadors de una població diferent.

**Nucleòtids(4):** m BIOQ Cadascun dels èsters de l'àcid fosfòric amb un nucleòsid, en els quals l'àcid fosfòric és esterificat amb un dels grups hidroxil (OH) lliures de la pentosa.

**Patró autosòmic dominant(1):** Només cal que una de les còpies del gen (en un cromosoma autosòmic) estigui mutada per a què es manifesti la malaltia. El 50% de la descendència és afectada.

**pH(36):** QUÍM FÍS Logaritme decimal canviat de signe de la concentració d'ions d'hidrogen que dóna una mesura quantitativa de l'acidesa o basicitat d'una dissolució.

**Procés de maduració(7):** Procés consistent en un conjunt de modificacions que fan que les cèl·lules germinatives diploides passin a l'estat de gàmetes haploides després de les dues divisions de la meiosi.

**Proteïnes(11):** BIOQ/FISIOLOGIA ANIMAL 1 Nom genèric de diferents polímers naturals formats per la unió d'aminoàcids mitjançant un enllaç peptídic.

**Quiasmes(23):** Els quiasmes són els punts d'unió entre les cromàtides de dos cromosomes homòlegs; és a dir, la zona on es creuen els filaments de cromàtides no germanes (sinó de dos cromosomes diferents, però homòlegs) que s'observen en el diplotè de la primera divisió meiótica.

**Radioteràpia(34):** TERAP Aplicació terapèutica de les radiacions ionitzants.

**RNA de transferència(16):** L'ARN de transferència (RNAt o tRNA) és un tipus de RNA que transporta un aminoàcid concret cap als ribosomes a la síntesi de proteïnes durant la traducció.

**RNA missatger(15):** L'àcid ribonucleic missatger (RNAm o mRNA) és una molècula d'ARN que serveix de model químic per a crear un producte proteic. L'RNAm és transcrit a partir d'una plantilla d'ADN i porta informació codificada fins a les regions on se sintetitzen les proteïnes: els ribosomes.

**RNA nuclear(18):** RNA que es troba dins el nucli.

**RNA polimerases(14):** Les RNA polimerases o RNA pol són un conjunt de proteïnes amb caràcter enzimàtic capaces de polimeritzar els ribonucleòtids per a sintetitzar RNA.

**RNA ribosòmic(17):** L'RNA ribosòmic (rRNA o RNAr) és un tipus de RNA sintetitzat als nuclèols pel RNA polimerasa I, i és a més la part central dels ribosomes, l'òrganul fabricant de les proteïnes a totes les cèl·lules vives. La funció del RNAr és proporcionar un mecanisme per a descodificar el RNA missatger en aminoàcids i interaccionar amb el RNA de transferència durant el procés de traducció proporcionant l'activitat peptidil transferasa.

**Sarcomes(24):** PAT Nom genèric dels tumors malignes del teixit conjuntiu i de sosteniment.

**Senescència(28):** BIOL/PSIC Envel·liment.



## 7. TAULA D'IMATGES

Figura 1: Localització del gen TP53 dins el cromosoma 17	9
Figura 2: Nivells superiors d'empaquetament: els bucles encara s'enrotllen més i formen el cromosoma (1400 nm) Font: <a href="http://webfacil.tinet.cat/adn/82829">http://webfacil.tinet.cat/adn/82829</a>	9
Figura 3: Estructura d'un gen	10
Figura 4: Procés de maduració del RNAm	11
Figura 5: Mecanisme d'acció d'un gen	12
Figura 6: Cicle cel·lular	13
Figura 7: Esquema de la divisió cel·lular per mitosi	16
Figura 8: Fases successives de la divisió cel·lular d'una meiosi	17
Figura 9: Frederick Li i Joseph Fraumeni, 1991	18
Figura 10: Organització estructural de la p53	22
Figura 11: Dominis funcionals p53	
Font: <a href="http://www.nature.com/cdd/journal/v13/n6/fig_tab/4401904f1.html">http://www.nature.com/cdd/journal/v13/n6/fig_tab/4401904f1.html</a>	24
Figura 12: Funcionament p53 normal i p53 mutant Font: <a href="http://www.slideshare.net/conchivillanueva/neoplasies-20910vv-4516369">http://www.slideshare.net/conchivillanueva/neoplasies-20910vv-4516369</a>	26
Figura 13: Interacció molecular	27
Figura 14: Distribució geogràfica de les mutacions del TP53 en línia germinal. Número de famílies amb mutació germinal del TP53 en cada regió del món. Font: Les dades de la Base de Dades de la IARC TP53 (R13, novembre de 2008)	28
Figura 15: Càncer de mama Font: <a href="http://vidaabuelo.com/blog/cancer-de-mama-parte-2/">http://vidaabuelo.com/blog/cancer-de-mama-parte-2/</a>	32
Figura 16: Sarcoma Font: <a href="http://www.drugs.com/mcd/soft-tissue-sarcoma">http://www.drugs.com/mcd/soft-tissue-sarcoma</a>	33
Figura 17: Tumor cerebral Font: <a href="http://www.educacionyculturaaz.com/tag/tumor-cerebral">http://www.educacionyculturaaz.com/tag/tumor-cerebral</a>	33
Figura 18: Carcinoma de l'escorça suprarenal Font: <a href="http://codigosgrabovoi.blogspot.com.es/2015/08/blog-post_98.html">http://codigosgrabovoi.blogspot.com.es/2015/08/blog-post_98.html</a>	34
Figura 19: Espectre tumoral en individus amb una mutació germinal en el TP53. Font: Les dades de la base de dades IARC TP53 línia germinal (R13, novembre de 2008)	34
Figura 20: Estructura Imidiazolyl-indols	37
Figura 21: Famílies agrupades segons el nombre de generacions documentades Font: ARIFFIN, H; [et al.]. "Whole-genome sequencing analysis..	45
Figura 22: A través de la bioinformàtica és possible manipular la gran quantitat de dades que proporciona qualsevol estudi genètic.	47

Figura 23: Base de dades Uniprot Font: <a href="http://www.uniprot.org/">http://www.uniprot.org/</a>	50
Figura 24: Base de dades PDB Font: <a href="http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do">http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do</a>	51
Figura 25: Base de dades PDB 2	52
Figura 26: Resolució cristal·logràfica	53
Figura 27: Imatge que es veu quan s'obre el programa RasMol Font: Pròpia	55
Figura 28: Representació filferro amb profunditat	56
Figura 29: Representació Bastonets	57
Figura 30: Representació Boles amb bastonets	57
Figura 31: Representació cintes. Es la que s'ha fet servir en aquest treball	57
Figura 32: Codi d'aminoàcids	59
Figura 33: Taula periòdica dels aminoàcids	59
Figura 34: Histidina Font: <a href="https://ca.wikipedia.org/wiki/Histidina">https://ca.wikipedia.org/wiki/Histidina</a>	60
Figura 35: Reacció de l'Histidina	60
Figura 36: Arginina Font: <a href="https://ca.wikipedia.org/wiki/Arginina">https://ca.wikipedia.org/wiki/Arginina</a>	61
Figura 37: Valors de $pK_a$ d'alguns aminoàcids Font: <a href="http://www3.uah.es">www3.uah.es</a>	61
Figura 38: proteïna mutant posició 175	67
Figura 39: Proteïna normal	67
Figura 40: p53 salvatge zona 175 ampliada	68
Figura 41: p53 mutant posició 175 ampliada	68
Figura 42: p53 salvatge zona 175 ampliada 2 Font: Pròpia	69
Figura 43: p53 mutant 175 zona ampliada 2 Font: Pròpia	69
Figura 44: p53 amb la cadena de DNA Font: Pròpia	69
Figura 45: p53 amb la cadena de DNA 2 Font: Pròpia	69
Figura 46: p53 salvatge Font: Pròpia	71
Figura 47: p53 mutant posició 337 Font: Pròpia	71
Figura 48: p53 salvatge posició 337 ampliada Font: Pròpia	72
Figura 49: p53 mutant posició 337 ampliada Font: Pròpia	72
Figura 50: p53 salvatge posició 337 ampliada 2	73
Figura 51: p53 mutant posició 337 ampliada 2	73
Figura 52: p53 amb cadena de DNA	74
Figura 53: p53 salvatge amb cadena de DNA 2 Font: Pròpia	74
Figura 54: p53 mutant posició 337	75
Figura 55: p53 mutant posició 175	76

## 8. RELACIÓ DE TAULES

*Taula 1: El valor de P significa la diferència en l'edat mitjana d'aparició de càncer entre la primera i l'última generació en les famílies multi generacionals, que s'enumeren a la fila inferior. Les generacions comparables entre diferents famílies amb diferents generacions s'enumeren a la columna més a la dreta. L'edat mitjana a la generació 4 està en parèntesi perquè l'edat mitjana d'aquesta generació és de 11,5 anys, de manera que s'exclou de l'anàlisi. (n.s., no significativa) \_\_\_\_\_ 44*

*Taula 2: Freqüència de càncer infantil (rabdomiosarcoma, carcinoma de l'escorça suprarenal , carcinoma del plexe coroide) en cada generació de les famílies amb LFS. 1-4 generacions documentades. \_\_\_\_\_ 45*

*Taula 3: Tumors diagnosticats en els membres de la família amb la mutació a la posició 175 \_\_\_\_\_ 64*

## 9. ANNEX I

Featurekey	Position(s)	Length	Description	Featureidentifier
Natural variant <sup>t</sup>	82 – 82	1	P → L in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation.	VAR_044621
Natural variant <sup>t</sup>	105 – 105	1	G → C in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation.	VAR_044661
Natural variant <sup>t</sup>	132 – 132	1	K → E in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation.	VAR_044740
Natural variant <sup>t</sup>	133 – 133	1	M → R in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation.	VAR_044747
Natural variant <sup>t</sup>	133 – 133	1	M → T in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation. <sup>1</sup> <b>Publication</b> Corresponds to variant rs28934873 [ <a href="#">dbSNP</a>   <a href="#">Ensembl</a> ].	VAR_005875
Natural variant <sup>t</sup>	138 – 138	1	A → P in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation. Corresponds to variant rs28934875 [ <a href="#">dbSNP</a>   <a href="#">Ensembl</a> ].	VAR_005881
Natural variant <sup>t</sup>	138 – 138	1	A → S in LFS; germlinemutation.	VAR_044764
Natural variant <sup>t</sup>	141 – 141	1	C → Y in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation.	VAR_005886
Natural variant <sup>t</sup>	144 – 144	1	Q → L in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation.	VAR_044790
Natural variant <sup>t</sup>	151 – 151	1	P → S in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation. <sup>1</sup> <b>Publication</b> Corresponds to variant rs28934874 [ <a href="#">dbSNP</a>   <a href="#">Ensembl</a> ].	VAR_005895
Natural variant <sup>t</sup>	151 – 151	1	P → T in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation.	VAR_005896
Natural variant <sup>t</sup>	152 – 152	1	P → L in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation. <sup>1</sup> <b>Publication</b>	VAR_005897
Natural variant <sup>t</sup>	155 – 155	1	T → N in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation.	VAR_044836
Natural variant <sup>t</sup>	156 – 156	1	R → H in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation.	VAR_044841
Natural variant <sup>t</sup>	158 – 158	1	R → G in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation.	VAR_005906
Natural variant <sup>t</sup>	158 – 158	1	R → H in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation.	VAR_005907
Natural variant <sup>t</sup>	163 – 163	1	Y → C in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation. <sup>2</sup> <b>Publications</b>	VAR_033035
Natural variant <sup>t</sup>	167 – 167	1	Q → K in LFS; germlinemutationand in a sporadiccancer; somaticmutation.	VAR_044885
Natural variant <sup>t</sup>	172 – 172	1	V → F in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation.	VAR_044906
Natural variant <sup>t</sup>	173 – 173	1	V → M in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation.	VAR_005926
Natural variant <sup>t</sup>	174 – 174	1	R → G in LFS; germlinemutationand in a sporadiccancer; somaticmutation.	VAR_044911
Natural variant <sup>t</sup>	175 – 175	1	R → G in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation.	VAR_005929
Natural variant <sup>t</sup>	175 – 175	1	R → H in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation; doesnotinduce SNAI1 degradation; reducesinteractionwith ZNF385A. <sup>6</sup> <b>Publications</b>	VAR_005932

			Corresponds to variant rs28934578 [ <a href="#">dbSNP</a>   <a href="#">Ensembl</a> ].	
Natural variant <sup>i</sup>	175 – 175	1	R → L in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation.	VAR_005930
Natural variant <sup>i</sup>	179 – 179	1	H → Y in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation.	VAR_044939
Natural variant <sup>i</sup>	180 – 180	1	E → K in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation.	VAR_044943
Natural variant <sup>i</sup>	181 – 181	1	R → C in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation.	VAR_044946
Natural variant <sup>i</sup>	181 – 181	1	R → H in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation.	VAR_044948
Natural variant <sup>i</sup>	193 – 193	1	H → R in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation. 2 <a href="#">Publications</a>	VAR_005948
Natural variant <sup>i</sup>	196 – 196	1	R → P in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation.	VAR_045007
Natural variant <sup>i</sup>	197 – 197	1	V → M in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation.	VAR_045013
Natural variant <sup>i</sup>	213 – 213	1	R → P in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation. 1 <a href="#">Publication</a>	VAR_036506
Natural variant <sup>i</sup>	213 – 213	1	R → Q in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation.	VAR_005955
Natural variant <sup>i</sup>	220 – 220	1	Y → C in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation. 2 <a href="#">Publications</a>	VAR_005957
Natural variant <sup>i</sup>	227 – 227	1	S → T in LFS; germlinemutationand in a sporadiccancer; somaticmutation.	VAR_045151
Natural variant <sup>i</sup>	233 – 233	1	H → D in LFS; germlinemutationand in a sporadiccancer; somaticmutation.	VAR_045175
Natural variant <sup>i</sup>	234 – 234	1	Y → C in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation.	VAR_005963
Natural variant <sup>i</sup>	235 – 235	1	N → S in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation.	VAR_045186
Natural variant <sup>i</sup>	236 – 236	1	Y → C in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation.	VAR_045189
Natural variant <sup>i</sup>	237 – 237	1	M → I in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation.	VAR_005965
Natural variant <sup>i</sup>	238 – 238	1	C → G in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation.	VAR_045200
Natural variant <sup>i</sup>	238 – 238	1	C → S in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation.	VAR_045202
Natural variant <sup>i</sup>	241 – 241	1	S → F in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation. 2 <a href="#">Publications</a> Corresponds to variant rs28934573 [ <a href="#">dbSNP</a>   <a href="#">Ensembl</a> ].	VAR_005969
Natural variant <sup>i</sup>	241 – 241	1	S → T in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation.	VAR_047183
Natural variant <sup>i</sup>	244 – 244	1	G → D in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation. Corresponds to variant rs28934572 [ <a href="#">dbSNP</a>   <a href="#">Ensembl</a> ].	VAR_045232
Natural variant <sup>i</sup>	244 – 244	1	G → V in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation.	VAR_045236
Natural variant <sup>i</sup>	245 – 245	1	G → C in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation. 2 <a href="#">Publications</a>	VAR_005972
Natural variant <sup>i</sup>	245 – 245	1	G → D in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation. 1 <a href="#">Publication</a>	VAR_005973
Natural variant <sup>i</sup>	245 – 245	1	G → S in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation. 1	VAR_005974

			Publication Corresponds to variant rs28934575 [ <a href="#">dbSNP</a>   <a href="#">Ensembl</a> ].	
Natural variant <sup>i</sup>	245 – 245	1	G → V in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation. 1 Publication	VAR_005975
Natural variant <sup>i</sup>	246 – 246	1	M → V in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation.	VAR_005978
Natural variant <sup>i</sup>	248 – 248	1	R → Q in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation. 4 Publications Corresponds to variant rs11540652 [ <a href="#">dbSNP</a>   <a href="#">Ensembl</a> ].	VAR_005983
Natural variant <sup>i</sup>	248 – 248	1	R → W in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation. 3 Publications	VAR_005984
Natural variant <sup>i</sup>	251 – 251	1	I → M in LFS; germlinemutation.	VAR_045258
Natural variant <sup>i</sup>	252 – 252	1	L → P in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation. 1 Publication	VAR_005988
Natural variant <sup>i</sup>	257 – 257	1	L → Q in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation. Corresponds to variant rs28934577 [ <a href="#">dbSNP</a>   <a href="#">Ensembl</a> ].	VAR_045284
Natural variant <sup>i</sup>	258 – 258	1	E → K in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation. 1 Publication	VAR_005991
Natural variant <sup>i</sup>	265 – 265	1	L → P in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation.	VAR_045321
Natural variant <sup>i</sup>	267 – 267	1	R → Q in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation.	VAR_045330
Natural variant <sup>i</sup>	272 – 272	1	V → L in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation. 1 Publication	VAR_005992
Natural variant <sup>i</sup>	273 – 273	1	R → C in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation. 4 Publications	VAR_005993
Natural variant <sup>i</sup>	273 – 273	1	R → G in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation.	VAR_005994
Natural variant <sup>i</sup>	273 – 273	1	R → H in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation; abolishessequence-specificDNAbinding; doesnotinduce SNAI1 degradation. 9 Publications Corresponds to variant rs28934576 [ <a href="#">dbSNP</a>   <a href="#">Ensembl</a> ].	VAR_005995
Natural variant <sup>i</sup>	273 – 273	1	R → L in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation. 1 Publication	VAR_036509
Natural variant <sup>i</sup>	275 – 275	1	C → Y in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation. 1 Publication	VAR_005998
Natural variant <sup>i</sup>	278 – 278	1	P → L in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation. 1 Publication	VAR_006003
Natural variant <sup>i</sup>	278 – 278	1	P → S in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation. 3 Publications	VAR_006004
Natural variant <sup>i</sup>	278 – 278	1	P → T in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation.	VAR_006005
Natural variant <sup>i</sup>	281 – 281	1	D → N in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation.	VAR_047202

Natural variant <sup>i</sup>	282 – 282	1	R → G in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation.	VAR_045384
Natural variant <sup>i</sup>	282 – 282	1	R → W in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation; doesnotinduce SNAI1 degradation. 2 Publications Corresponds to variant rs28934574 [ dbSNP  Ensembl ].	VAR_006016
Natural variant <sup>i</sup>	283 – 283	1	R → C in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation.	VAR_006017
Natural variant <sup>i</sup>	285 – 285	1	E → Q in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation.	VAR_006024
Natural variant <sup>i</sup>	286 – 286	1	E → A in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation.	VAR_006026
Natural variant <sup>i</sup>	290 – 290	1	R → H in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation. Corresponds to variant rs55819519 [ dbSNP  Ensembl ].	VAR_045411
Natural variant <sup>i</sup>	290 – 290	1	R → L in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation.	VAR_045412
Natural variant <sup>i</sup>	292 – 292	1	K → I in LFS; germlinemutationand in a sporadiccancer; somaticmutation. 1 Publication	VAR_015819
Natural variant <sup>i</sup>	306 – 306	1	R → P in LFS; germlinemutationand in a sporadiccancer; somaticmutation.	VAR_045475
Natural variant <sup>i</sup>	309 – 309	1	P → S in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation. 1 Publication	VAR_006038
Natural variant <sup>i</sup>	325 – 325	1	G → V in LFS; germlinemutation. 1 Publication Corresponds to variant rs28934271 [ dbSNP  Ensembl ].	VAR_006039
Natural variant <sup>i</sup>	337 – 337	1	R → C in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation. 1 Publication	VAR_006041
Natural variant <sup>i</sup>	337 – 337	1	R → H in LFS; germlinemutationand in sporadiccancers; somaticmutation. 1 Publication	VAR_035016
Natural variant <sup>i</sup>	344 – 344	1	L → P in LFS; germlinemutationand in a sporadiccancer; somaticmutation.	VAR_045546



## 10. BIBLIOGRAFIA

AGELL, N; ALIGUÉ, R; BACHS, O. "Cicle cel·lular i càncer", en *Càncer i nutrició*, (J. M. Argilés i ). J. López-Soriano, ed.) *Treballs de la SCB*. Vol. 52 (2001) 15-37

AGÚERO, F."Una introducción a la biología molecular. Para Computadores científicos interesadas en Bioinformática." en *Instituto de Investigaciones Biotecnológicas, UNSAM*

ARIFFIN, H; [et al.]. "Whole-genome sequencing analysis of phenotypic heterogeneity and anticipation in Li–Fraumeni cancer predisposition syndrome", en *PNAS* 2014: vol. 111: no. 43: 15497–15501

BAD Id Said; MALKIN, D. "A functional variant in miR-605 modifies the age of onset in Li-Fraumeni syndrome" en *Cancer Genetics* 2015: Vol.208: 47-51

BERNSTEIN Herbert J. *Manual RasMol 2.7.1.1 Molecular Graphics Visualisation Tool 21 Version 2.7.0, 2.7.1, 2.7.1.1* Bernstein + Sons, P.O. Box 177, Bellport, NY, USA, January 2001.

CHOMPRET, A; [et al.]. "P53 germline mutations in childhood cancers and cancer risk for carrier individuals" 2000 June; 82(12): 1932–1937. Published online 2000 May 18. doi: 10.1054/bjoc.2000.1167

CURY, N.M; FERRAZ, Y.E; SILVA W.A. Jr; "TP53 p.R337H prevalence in a series of Brazilian hereditary breast cancer families", en *Hereditary Cancer in Clinical Practice* 2014, 12:8

JIA, Y; [et al.]. "Successful treatment of a patient with Li–Fraumeni syndrome and metastatic lung adenocarcinoma harboring synchronous EGFR L858R and ERBB2 extracellular domain S310F mutations with the pan-HER inhibitor afatinib", en *Cancer Biology & Therapy* 2015: 1538-4047 (Print)/1555-8576 (Online)

KAPPEL, S; [et al.]. "TP53 germline mutation may affect response to anti cancer treatments: analysis of an intensively treated Li–Fraumeni family", en *Breast Cancer Res Treat* 2015: 151:671–678

KOHLI, J; HARTSUIKER, E., "Meiosis", en *Encyclopedia of life sciences I&* 2001 Nature Publishing Group

KROEMER, G; BRAVO SAN PEDRO, J.M; GALLUZZI, L. "Novel function of cytoplasmic p53 at the interface between mitochondria and the endoplasmic reticulum" en *Cell Death and Disease* 2015: Vol. 6: e1698: published online 19 March 2015

LISKER, R; ZENTELLA DEHESA, A; GREYER GONZÁLEZ, P. *Introducción a la genética humana*, Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Medicina, 2013, 3ª edición.

LEE, D.F; [et al.]. "Modeling Familial Cancer with Induced Pluripotent Stem Cells", en *Cell* 2015: 161: 240–254

MEDINA WALTEIRO, J; [et al.]. "Recopilación bioinformática", en *Universidad Distrital Francisco José de Caldas*, 2012

MENESES ESCOBAR, C.A; ROZO MURILLO, L.V; FRANCO SOTO, J. "Tecnologías bioinformáticas para el análisis de secuencias de ADN", en *Scientia et Technica*. Año XVI, 2011, nº 49, 116-121

MUR I RESTOY, E, *Incidència i supervivència del càncer de cap i coll a la demarcació de Tarragona (1980-2005)*, urv, Tarragona, 2013, nota 11 de la pàgina 43.

NAVAS MÉNDEZ, J. "Bioquímica estructural y metabólica, Tema 2: Aminoácidos", en *Open courseware*, Universidad de Cantabria

NAVAS MÉNCEZ, J. "Bioquímica estructural y metabólica, Tema 3: Proteínas: composición y estructura.", en *Open courseware*, Universidad de Cantabria

NAVAS MÉNDEZ, J; NORIEGA BORGE, M.J, "Fisiología general, replicación del ADN.", en *Open courseware*, Universidad de Cantabria

NAVAS MÉNDEZ, J; NORIEGA BORGE, M.J, "Fisiología general, traducción.", en *Open courseware*, Universidad de Cantabria

NAVAS MÉNDEZ, J; NORIEGA BORGE, M.J, "Fisiología general, transcripción.", en *Open courseware*, Universidad de Cantabria

RANGEL-LÓPEZ, A; PIÑA-SÁNCHEZ, P; SALCEDO, M; "Variaciones genéticas del gen supresor de tumores TP53: relevancia y estrategias de análisis" en *Revista investigación clínica* 2006: vol.58: no.3

RIBEIRO Raul C; [et al.]. "An inherited p53 mutation that contributes in a tissue-specific manner to pediatric adrenal cortical carcinoma", en *PNAS* 2001: Vol. 98: no. 16: 9330-9335

RICORDEL C; [et al.]. "EFGR-mutant lung adenocarcinoma and Li-Fraumeni syndrome: Report of two cases and review of the literature" en *Lung Cancer* 2015: 87: 80–84

RIERA, M.A; [et al.]. "Utilización del programa de visualización molecular RasMol como estrategia didáctica para la integración del contenido curricular "proteínas"", en *Educación médica*. v.13 n.3 Barcelona sep. 2010

SANCHO, J."Capítulo 2. Los aminoácidos, el enlace peptídico i la estructura secundaria", en *Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular & Instituto de Biocomputación y Física de Sistemas Complejos*. Universidad de Zaragoza

SAYLE, R.*Manual de RasMol Version 2.6-beta-2 Programa de Visualización Molecular*. Traducción al castellano de Isabel Serván Martínez y José Miguel Fernández Fernández, RasMol Home Page.

TORRENT FARNELL, J. "Les polítiques de la Unió Europea en Malalties Minoritàries", en Presentació de les malalties minoritàries i experiències des de l'àmbit local. Dia Mundial de les Malalties Minoritàries, Diputació de Barcelona– Fundació Doctor Robert, Barcelona, 25 febrer 2010.

VARLEY, J.M ; [et al.]. "An extended Li-Fraumeni kindred with gastric carcinoma and a codon 175 mutation in TP53", en *Med Genet* 1995:32:942-945

ZERDOUMI Y.[et al.]. "A new genotoxicity assay based on p53 target gene induction", en *Mutation Research* 2015: 28–35: 789-790

## 11. WEBGRAFIA

BERNSTEIN H. J. *Manual RasMol 2.7.2.1* [En línia] Actualització: 8 de abril de 2004 a les 13:19 <http://www.mx.iucr.org/iucr-top/cif/software/rasmol/doc/esrasmol27.html> (Consulta:28 desembre 2015, 13:37)

Cancer.net, Li-Fraumeni Syndrome. (2015) [En línia] Cancer.net <http://www.cancer.net/cancer-types/li-fraumeni-syndrome> (Consulta:28 desembre 2015, 12:55)

*Cromosoma* (2015, 3 novembre) *Viquipèdia, l'Enciclopèdia Lliure* [En línia] Data de consulta: 12:02, desembre 28, 2015 de <https://ca.wikipedia.org/wiki/Cromosoma>

Enfermedad hereditaria (2015, 16 diciembre) *Wikipedia, la Enciclopedia libre* [En línia] Fecha de consulta: 12:10, diciembre 28, 2015 de [https://es.wikipedia.org/wiki/Enfermedad\\_hereditaria](https://es.wikipedia.org/wiki/Enfermedad_hereditaria)

Exó (2014, 20 setembre) *Viquipèdia, l'Enciclopèdia Lliure* [En línia] Data de consulta: 12:35, desembre 28, 2015 de <https://ca.wikipedia.org/wiki/Ex%C3%B3>

Frederick Pei Li.( 2015, 17 novembre) *Wikipedia, The Free Encyclopedia* [En línia] Data de consulta: 12:55, desembre 28, 2015 de [https://en.wikipedia.org/wiki/Frederick\\_Pei\\_Li](https://en.wikipedia.org/wiki/Frederick_Pei_Li)

Gen (2015, 6 agost) *Viquipèdia, l'Enciclopèdia Lliure* [En línia] Data de consulta:12:05, desembre 28, 2015 de <https://ca.wikipedia.org/wiki/Gen>

HERNÁNDEZ, P..*Bases de dades Bibliogràfiques i moleculars* [En línia] UAB Actualització: 13 de juny de 2003 a les 10:41 [http://bioinformatica.uab.es/biocomputacio/treballs02-03/Hernandez\\_Ischerland/p.hernandez/treball/bases\\_de\\_dades\\_bibliografiques\\_i\\_moleculars.htm](http://bioinformatica.uab.es/biocomputacio/treballs02-03/Hernandez_Ischerland/p.hernandez/treball/bases_de_dades_bibliografiques_i_moleculars.htm) (Consulta:: 28 desembre 2015, 13:34)

Intró (2014, 19 gener) *Viquipèdia, l'Enciclopèdia Lliure* [En línia] Data de consulta: 12:30, desembre 28, 2015 de <https://ca.wikipedia.org/wiki/Intr%C3%B3>

*Li-Fraumeni syndrome* (2015, 29 desembre) *Wikipedia, The Free Encyclopedia* [En línia] Data de consulta: 11:33, gener5, 2016 de [https://en.wikipedia.org/wiki/Li%E2%80%93Fraumeni\\_syndrome](https://en.wikipedia.org/wiki/Li%E2%80%93Fraumeni_syndrome)

MALKIN, D. *Li-Fraumeni Syndrome*. (Monographs Editor: Arnold J. Levine) [En línia] NCBI <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3135649/> (Consulta:28desembre 2015, 12:50)

MARTÍNEZ PÉREZ, I.S; ANDRÉS BURGOA, M; “Divisió cel·lular”, en *Ciències de la vida*. [En línia]<https://sites.google.com/site/cienciesdelavida/divisio/divisio-cel-lular>(Consulta:28desembre 2015, 12:43)

OLIVIER, M; [et al.]. *TP53 Mutations in Human Cancers: Origins, Consequences, and Clinical Use* [En línia] NCBI <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2827900/> (Consulta: 28 desembre 2015, 13:18)

p53(2015, 29 novembre) *Viquipèdia, l'Enciclopèdia Lliure*[En línia] Data de consulta:11:35, gener 5, 2016 de <https://es.wikipedia.org/wiki/P53>

PDB (Protein Data Bank), 4mzr. Crystal structure of a polypeptide p53 mutant bound to DNA structure of a polypeptide p53 mutant bound to DNA [En línia] PDB Actualització: 28 de desembre de 2015 a les 13:40<http://www.rcsb.org/pdb/explore/jmol.do?structureId=4MZR&bionumber=1> (Consulta: 28 desembre 2015, 13:41)

REDACCIÓ / BARCELONA. “Possible diana en la síndrome de Li-Fraumeni” en *Gacetamedica.com*, viernes, 11 de octubre de 2013 / 16:00[En línia]<http://www.gacetamedica.com/noticias-medicina/articulo.aspx?idart=779944&idcat=1414&tipo=2> (Consulta:28 desembre 2015, 13:08)

(Sense esmentar autor) “Genes, TP53”, en *Genetic home reference*. (2015) [En línia] Genetic home reference, Actualització: 22 de desembre de 2015 a les 17:05<http://ghr.nlm.nih.gov/gene/TP53> (Consulta: 28 desembre 2015, 13:23)

(Sense esmentar autor) “Síndrome de Li Fraumeni” en *Rarediseases.com*, [En línia] Actualització: 21 de abril de 2010 a les 22:31 [https://rarediseases.info.nih.gov/files/sindrome\\_de\\_li\\_fraumeni.html](https://rarediseases.info.nih.gov/files/sindrome_de_li_fraumeni.html) (Consulta: 28 desembre 2015, 13:15)

SERRANO, J. A. “Bioinformática y genética”, en *Ciencia UANL*[En línia]<http://cienciauanl.uanl.mx/?p=723> (Consulta:Consulta: 28 desembre 2015, 13:31)

SORRELL, A.D; [et al.]. *TP53 Testing and Li-Fraumeni Syndrome: Current Status of Clinical Applications and Future Directions* [En línia] NCBI  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3627545/> (Consulta: 28 desembre 2015, 12:48)

Uniprot, UniProtKB - P04637 (P53\_HUMAN). [En línia] Uniprot, Actualització: 9 de desembre de 2015 a la 1:00 <http://www.uniprot.org/uniprot/P04637> (Consulta: 28 desembre 2015, 13:26)