

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
Instituto de Biociências
Departamento de Genética
Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular

**PREVALÊNCIA DA VARIANTE FUNCIONAL *TP53* rs78378222 (A>C) EM
PACIENTES DA REGIÃO SUL DO BRASIL DIAGNOSTICADOS COM
MIELOMA MÚLTIPLO**

BRUNO DA SILVEIRA CORRÊA

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular da UFRGS como requisito parcial para a obtenção do título de **Mestre em Genética e Biologia Molecular**

Orientadora: Profa. Dra. Patricia Ashton Prolla
Coorientadora: Profa. Dra. Fernanda Sales Luiz Vianna

Porto Alegre, Abril de 2023

INSTITUIÇÕES E FONTES FINANCIADORAS

Este estudo foi desenvolvido no Laboratório de Medicina Genômica (LMG) do Centro de Pesquisa Experimental (CPE) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, vinculado à Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Dessa maneira, contando com recursos do FIPE 2014-0424

O aluno recebeu bolsa de estudos concedida pelo CNPQ e vinculada ao PPGBM/UFRGS.

CIP - Catalogação na Publicação

Corrêa, Bruno da Silveira
Prevalência da variante funcional TP53 rs78378222
(A>C) em pacientes da região sul do Brasil
diagnosticados com mieloma múltiplo / Bruno da
Silveira Corrêa. -- 2023.
52 f.
Orientadora: Patricia Ashton-Prolla.

Coorientadora: Fernanda Sales Luiz Vianna.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Instituto de Biociências, Programa
de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular,
Porto Alegre, BR-RS, 2023.

1. Genética. 2. Oncogenética. 3. Mieloma Múltiplo.
4. TP53. I. Ashton-Prolla, Patricia, orient. II.
Vianna, Fernanda Sales Luiz, coorient. III. Título.

AGRADECIMENTOS

À Professora Dra Patricia Prolla pela orientação ao longo de toda a minha carreira científica e a oportunidade de desenvolver esse projeto;

À Professora Dra. Fernanda Vianna, minha coorientadora, agradeço por todo o apoio e ensinamentos ao longo do mestrado;

Ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular (PPGBM) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) que me proporcionaram todos os recursos necessários ao aprendizado;

Ao Elmo, secretário do PPGBM, por toda a ajuda e por ser um exemplo de profissional e pessoa;

Aos órgãos financiadores deste projeto, em especial à CNPQ pela bolsa de mestrado;

À professora Dra. Fernanda Sperb pela relatoria desta dissertação;

Aos membros da banca examinadora, Dra. Lavínia Schuler Faccini, Dra. Clévia Rosset e Dra. Sandrine Comparsi Wagner, por aceitarem avaliar este trabalho;

A todos os colegas que passaram e estão atualmente no Laboratório Medicina Genômica (LMG), obrigado pelo companheirismo e por tornarem essa trajetória especial, particularmente ao Dr. Igor Araújo Vieira, Msc. Mariléa Furtado Feira e Msc. Guilherme Viola pela contribuição direta nesse projeto;

Aos meus amigos, por todo o apoio e atenção ao longo desses anos;

Aos meus pais, Jurema da Silveira Corrêa e Paulo Ricardo Vargas Corrêa, por tudo que fizeram por mim ao longo da vida, por terem me ensinado a ser uma pessoa melhor e sempre estarem presentes;

À minha madrinha, Tânia Mara Vargas Corrêa, por todo o carinho e apoio incondicional

À minha namorada Marina Lopes, por estar sempre ao meu lado, compartilhando experiências, sentimentos e me incentivando a seguir em frente;

Por fim, agradeço a toda minha família e a todos que contribuíram de alguma forma para minha formação acadêmica.

SUMÁRIO

INSTITUIÇÕES E FONTES FINANCIADORAS	2
AGRADECIMENTOS	3
SUMÁRIO	4
LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E UNIDADES	5
RESUMO	6
ABSTRACT	7
CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO	8
1.a. Mieloma múltiplo	8
1.b. O gene <i>TP53</i>	12
1.c. A variante funcional <i>TP53</i> rs78378222 (A>C) e sua possível relação com o mieloma múltiplo	14
CAPÍTULO 2. OBJETIVOS	17
CAPÍTULO 3. Prevalence of the functional variant <i>TP53</i> rs78378222 (A>C) in patients from Southern Brazil diagnosed with multiple myeloma	18
3.1. Introduction	21
3.2. Materials and Methods	22
3.2.a. Samples and ethical aspects	22
3.2.b. Molecular analysis	23
3.2.c. Statistical analysis	23
3.3. Results	24
3.4. Discussion	25
3.5. Conclusion	27
CAPÍTULO 4. DISCUSSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS	37
REFERÊNCIAS	40

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E UNIDADES

ABraOM: *Online Archive of Brazilian Mutations*

CRAB: acrônimo para *hypercalcemia, renal insufficiency, anemia, and bone lesions*.

DNA: ácido desoxirribonucleico

FDA: *Food and Drug Administration*

FISH: hibridação *in situ* por fluorescência

GMSI: gamopatia monoclonal de significado indeterminado

GWAS: estudo de associação de varredura completa do genoma

HCPA: Hospital de Clínicas de Porto Alegre

INCA: Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva

EHW: equilíbrio de Hardy-Weinberg

MAF: *minor allele frequency* (alelo de menor frequência alélica)

miRNA: microRNA

MM: mieloma múltiplo

NLS: sequências de localização nuclear

PCR: reação em cadeia da polimerase

RNA: ácido ribonucleico

SNP: *single nucleotide polymorphism* (polimorfismo de nucleotídeo único)

TACTH: transplante autólogo de células tronco hematopoiéticas

RESUMO

A variante germinativa rara *TP53* rs78378222 (A>C) é localizada na região não traduzida 3' do gene *TP53*. Essa alteração está associada a um aumento geral no risco de desenvolvimento de câncer, bem como um risco elevado de neoplasias específicas, incluindo glioma, câncer de próstata, adenoma colorretal e neuroblastoma. O efeito funcional da variante é atribuído a mudança no sinal de poliadenilação do gene, que interfere na regulação negativa da expressão gênica via miRNAs e reduz os níveis de expressão de p53. As frequências alélicas variam na população geral: 1,3% em europeus, 0,21% em afro-americanos e 0,23% em latino-americanos e americanos miscigenados. No Brasil, a frequência na população geral da região sudeste é de cerca de 0,6%. Enquanto isso, em coortes do sul do Brasil, as frequências foram de 2,7% em pacientes com Li Fraumeni sem variante patogênica identificável e 0,65% em adenocarcinoma de próstata germinativo. Considerando o impacto da variante, a frequência alélica na nossa população, a presença importante de alterações somáticas em *TP53* no MM e o fato de que a frequência da variante em portadores da neoplasia é desconhecida, justifica-se a análise da variante em casos de MM. Com o objetivo de determinar as frequências genotípicas e alélicas de *TP53* rs78378222 (A>C) em pacientes diagnosticados com MM, realizamos um estudo retrospectivo utilizando amostras de sangue periférico obtidas de dois hospitais no sul do Brasil. A genotipagem da variante foi realizada com o ensaio TaqMan® de discriminação alélica, identificando dois pacientes heterozigotos com a variante alélica dentre as 86 amostras analisadas. Ambos os portadores não possuíam histórico prévio de neoplasias e foram diagnosticados aos 34 e 63 anos de idade, respectivamente. As frequências genotípicas e alélicas resultantes foram de 2,32% e 1,16%, respectivamente. A prevalência identificada da variante alélica é maior do que a descrita anteriormente para a população geral e em estudos anteriores que relataram uma frequência genotípica de 1% em grupo controle no Sul do Brasil. O presente estudo é o primeiro relatório sobre a prevalência de *TP53* rs78378222 (A>C) em casos de MM. No entanto, um tamanho de amostra maior permitiria uma análise mais abrangente, incluindo correlações entre genótipo e fenótipo. Se confirmada a alta frequência da variante alélica, faz-se necessário um novo estudo prospectivo investigando amostras germinativas e somáticas. Além disso, uma avaliação minuciosa do efeito dessa variante na progressão do MM tem o potencial de avançar nossa compreensão da doença e trazer informações relevantes para o seu manejo.

ABSTRACT

The rare germline variant *TP53* rs78378222 (A>C) is located in the 3' untranslated region of the *TP53* gene. This alteration is associated with an increased risk of developing cancer overall, as well as a high risk of specific neoplasms, including glioma, prostate cancer, colorectal adenoma, and neuroblastoma. The functional effect of the variant is attributed to a change in the gene's polyadenylation signal, which interferes with negative regulation of gene expression via miRNAs and reduces p53 expression levels. Allelic frequencies vary in the general population: 1.3% in Europeans, 0.21% in African Americans, and 0.23% in Latin Americans and Admixed Americans. In Brazil, the frequency in the general population of the Southeast region is approximately 0.6%. Meanwhile, in cohorts from southern Brazil, frequencies were 2.7% in patients with Li Fraumeni syndrome without identifiable pathogenic variants and 0.65% in germline prostate adenocarcinoma. Given the impact of the variant, the allele frequency in our population, the relevance of *TP53* somatic alterations in MM, and the fact that the variant frequency in MM cases is unknown, an analysis of its frequency is justified. To determine the genotype and allele frequencies of *TP53* rs78378222 (A>C) in patients diagnosed with MM, we conducted a retrospective study using peripheral blood samples obtained from two hospitals in southern Brazil. Variant genotyping was performed using the TaqMan® allelic discrimination assay, identifying two heterozygous patients with the variant allele among the 86 samples analyzed. Both carriers had no previous history of neoplasms and were diagnosed at 34 and 63 years of age, respectively. The resulting genotypic and allelic frequencies were 2.32% and 1.16%, respectively. The identified prevalence of the allelic variant is higher than previously described for the general population and in previous studies that reported a genotypic frequency of 1% in a control group in southern Brazil. This study represents the first report on the prevalence of *TP53* rs78378222 (A>C) in MM cases. However, a larger sample size would allow for a more comprehensive analysis, including correlations between genotype and phenotype. If the high frequency of the allelic variant is confirmed, a new prospective study is necessary to investigate germline and somatic samples. In addition, a thorough evaluation of the effect of this variant on MM progression has the potential to advance our understanding of the disease and potentially provide relevant information for its management.

CAPÍTULO 1. - INTRODUÇÃO

1.a. Mieloma múltiplo

O mieloma múltiplo (MM) é uma doença hematológica neoplásica caracterizada pela proliferação descontrolada de plasmócitos na medula óssea, consequentemente ocasionando uma superprodução de imunoglobulinas monoclonais ou cadeias de imunoglobulinas (Pawlyn and Morgan 2017). Os plasmócitos clonais e o acúmulo de imunoglobulinas produzidas levam a uma série de sintomas, sendo os mais comuns a hipercalcemia, insuficiência renal, anemia e doença óssea lítica (Joshua et al. 2019).

O MM é a segunda malignidade hematológica mais frequente no mundo, com análises que estimam um aumento global de 126% em casos incidentes e de 94% na mortalidade entre os anos 1990 e 2016 (Kazandjian 2016; Cowan et al. 2018). No ano de 2020, foram registrados aproximadamente 176 mil novos casos e 117 mil mortes em todo o mundo, representando 0,9% e 1,2% dos casos e mortes relacionadas ao câncer, respectivamente (Sung et al. 2021). No caso do Brasil, as estimativas para MM do GLOBOCAN 2020 indicam incidência e mortalidade de 2 casos e 1,2 mortes para cada 100 mil pessoas, porém, tratam-se de estimativas parciais, uma vez que nem todas as cidades possuem dados disponíveis (Sung et al. 2021). Além disso, o Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA) não inclui o MM em sua estimativa trienal de novos casos de câncer, uma vez que o considera raro o suficiente para que as metodologias atuais não permitam estimativas confiáveis (Equipe Oncoguia, 2021).

O diagnóstico definitivo de MM exige a identificação de mais de 10% de plasmócitos clonais na medula óssea ou biópsia de plasmocitoma relacionado em tecidos moles ou ósseos ao redor da medula. Eventos definidores do MM incluem o reconhecimento de uma ou mais evidências de lesão aos órgãos-alvo como consequência da desordem proliferativa de plasmócitos (hipercalcemia, insuficiência renal, anemia e lesões ósseas), comumente representadas pelo acrônimo “CRAB”. Apresentações clínicas comuns aos pacientes diagnosticados com MM e que auxiliam no diagnóstico e estadiamento da doença podem incluir: anemia, fadiga, fraturas, anormalidades ósseas, dor nos ossos, osteopenia, leucopenia, trombocitopenia, elevação da creatinina sérica,

hipercalcemia, aumento dos linfonodos e lesões extramedulares (Narp et al. 2003; Kyle et al. 2003; Cowan et al. 2022).

A diferenciação entre os distúrbios de plasmócitos é uma etapa importante do diagnóstico. Na maioria dos pacientes o MM começa como uma gamopatia monoclonal de significado indeterminado (GMSI) (Kyle et al. 2018). A GMSI é definida pela presença de proteína monoclonal com concentração sérica <3 g/dL, $<10\%$ de plasmócitos clonais na medula óssea e ausência de lesão aos órgãos-alvo (Ho et al. 2020). Há ainda outro estágio assintomático chamado de mieloma latente (ML), sendo caracterizado por concentrações séricas de proteína monoclonal ≥ 3 g/dL ou por concentração ≥ 500 mg/24h de proteína monoclonal na urina e/ou presença de 10-60% de plasmócitos clonais na medula óssea (Rajkumar et al. 2014). O risco de progressão geral de ML para MM é estimado em 10% por ano nos primeiros cinco anos a partir do diagnóstico (Kyle et al. 2007). Contudo, esse risco de progressão varia de acordo com as características específicas de cada paciente, classificando-os em categorias baseadas no risco (Ho et al. 2020).

A idade mediana do diagnóstico de MM varia entre 66-70 anos de idade, com cerca de 63% dos pacientes diagnosticados possuindo mais do que 65 anos (Siegel et al. 2020; Cowan et al. 2022). Além da idade avançada, o sexo também é um fator de risco para o MM, uma vez que é 1,5 vezes mais comum em pessoas do sexo masculino (Cowan et al. 2018).

Os sistemas de estadiamento clássicos utilizam na caracterização clínica do MM principalmente as quantidades de albumina e $\beta 2$ microglobulina séricas. Os principais sistemas são o *Durie-Salmon System*, *International Staging System (ISS)* e *Revised ISS (R-ISS)* (Palumbo et al. 2015; Greipp et al. 2005; Durie and Salmon 1975). As atualizações presentes no R-ISS permitem uma melhor estratificação de acordo com o prognóstico, uma vez que incluem critérios como a lactato desidrogenase, anomalias citogenéticas (e.g. translocações envolvendo o locus de IgH no cromossomo 14) e outros biomarcadores de prognóstico (Palumbo et al. 2015).

O principal objetivo do tratamento para MM é reduzir a população de plasmócitos clonais na medula óssea, conseqüentemente atenuando os sintomas sem comprometer a qualidade de vida e controlando a doença (Cowan et al. 2022). Atualmente a escolha do tratamento de MM é bastante personalizada para cada paciente, considerando questões

como estágio, perfil molecular, perfil de expressão dos plasmócitos, comorbidades, elegibilidade para transplante e outras variáveis clínicas do paciente (Soekojo e Chng, 2022). As classes de medicamento mais comumente utilizadas são, drogas citotóxicas (eg. melfalano e ciclofosfamida), glicocorticóides (eg. dexametasona e prednisona), imunomoduladores (eg. talidomida, lenalidomida e pomalidomida) e mais recentemente inibidores de proteassoma (eg. bortezomibe e carfilzomibe) e anticorpos monoclonais (isatuximabe, elotuzumabe e venetoclax) (Soekojo e Chng, 2022; Cowan et al. 2022; Dimopoulos et al. 2021). A maioria dos pacientes utiliza talidomida ou similares em algum momento do tratamento. Especificamente no caso de pacientes atendidos pelo Sistema Único de Saúde (SUS), o protocolo indicado utiliza a talidomida.

A partir do diagnóstico de mieloma múltiplo, uma das primeiras etapas no manejo clínico é determinar a elegibilidade do paciente para o transplante autólogo de células tronco hematopoiéticas (TACTH) (Mikhael et al. 2019). Quando indicado, o TACTH acompanhado de terapia de alta dosagem é o tratamento de primeira linha para os pacientes abaixo dos 70 anos de idade (Gerecke et al. 2016). A etapa de indução pré-transplante é realizada com uma combinação de três drogas, comumente incluindo bortezomibe e dexametasona (Dimopoulos et al. 202; Sonneveld et al. 2013). Em seguida é realizada a etapa de consolidação, na maioria dos casos com altas dosagens de melfalan (Dimopoulos et al. 2021). A manutenção pós transplante pode ser realizada com imunomoduladores, como a talidomida e lenalidomida (McCarthy et al. 2017). Entretanto, o uso de imunomoduladores também está associado ao desenvolvimento de efeitos adversos como a neuropatia periférica e a trombose (Delforge et al. 2010; Palumbo and Palladino 2012).

A herdabilidade estimada do MM em 17%, caracterizando-se por um componente genético significativo em sua etiologia (Clay-Gilmour et al. 2020). Parentes de primeiro grau possuem um risco relativo de 2,1 para o desenvolvimento da doença (Clay-Gilmour et al. 2020). Os genes mais relacionados com a predisposição ao MM decorrente de variantes germinativas patogênicas são *DIS3*, *KDM1A4* e *CDKN2A* (Pertesi et al. 2020). Entretanto, diversos outros genes são candidatos e precisam de estudos mais aprofundados. Até o momento não existem avaliações significativas da ocorrência de variantes patogênicas germinativas em *TP53* nos casos de MM (Willems et al. 1993).

O MM apresenta uma grande heterogeneidade molecular, não havendo uma única causa genética definida. Ele é, no entanto, resultado de diversas alterações genéticas e epigenéticas que levam à transformação dos plasmócitos (Wallington-Beddoe e Mynott 2021). Diversas evidências apontam para a contribuição genética na predisposição ao MM e a existência de risco familiar elevado (Morgan et al. 2014). Parentes de primeiro grau de pessoas diagnosticadas com MM possuem um risco de duas a quatro vezes maior de desenvolver MM ou GMSI quando em comparação com a população em geral (Landgren et al. 2009; Kristinsson et al. 2009). Observa-se uma acentuada diversidade genética na população de plasmócitos clonais, fator determinante na progressão de gamopatia monoclonal de significado indeterminado (GMSI) para MM (Ledergor et al. 2018).

Alterações moleculares no MM relacionam-se com diversas etapas do manejo clínico, como o prognóstico, progressão da malignidade e resposta ao tratamento (Manier et al. 2017; Pawlyn e Davies 2019). As mais conhecidas podem ser analisadas usando FISH (Hibridação in situ por Fluorescência) ou cariotipagem comum (para detecção de aneuploidias) ou de alta resolução (para detecção de translocações) (Cowan et al. 2022). Essas alterações geralmente envolvem os genes da cadeia pesada de imunoglobulina (no cromossomo 14) ou o gene *TP53* (no cromossomo 17) (Sawyer 2011). São exemplos as alterações cromossômicas clássicas t(4;14), t(14;16), t(14;20), 1q+ e del(17p) relacionadas com piora na sobrevida global e sobrevida livre de progressão (Chan et al. 2018; Sawyer 2011; Varma et al. 2020). Enquanto isso, alterações na ploidia dos plasmócitos, como trissomias e monossomias, podem representar tanto uma melhora quanto uma piora no prognóstico (Kumar et al. 2012; Shin et al. 2017). A deleção 17p, que engloba o gene *TP53*, foi associada com uma piora no prognóstico, sendo observada nas fases iniciais do desenvolvimento da lesão mas com efeito mais marcante em etapas posteriores (Lakshman et al. 2019; Pawlyn e Davies 2019).

Também são conhecidos eventos somáticos envolvendo um menor número de nucleotídeos, com eventos somáticos patogênicos em genes *drivers* associados ao MM, como *KRAS*, *NRAS*, *BRAF*, *TP53*, *DIS3*, *FAM46C* (Manier et al. 2017; Hu et al. 2019). Em casos que afetam direta ou indiretamente o gene *TP53*, alterações somáticas são

relativamente raras, com del (17p) representando 8% dos casos, inativações bialélicas representando 4% e variantes patogênicas monoalélicas variando entre 3-8% (Flynt et al. 2020). Além disso, a coexistência da translocação de alto risco del (17p) com mutações de *TP53* piora o prognóstico de maneira cumulativa (Lode et al. 2010). Dessa maneira, destaca-se a importância da investigação de alterações no gene em em diferentes momentos da tumorigênese, especialmente explorando a transição molecular de GMSI ou ML para MM (Plano et al. 2023; García-Ortiz et al. 2021).

1.b. O gene *TP53*

O gene *TP53* (NM_000546) é um supressor tumoral que codifica a proteína tetramérica p53, um fator de transcrição que se liga em diversas regiões regulatórias do genoma, possuindo um papel fundamental no controle do ciclo celular, apoptose, integridade e estabilidade genômica (Guimaraes e Hainaut 2002). Localiza-se no braço curto do cromossomo 17 (17p13.1) e possui 11 éxons, sendo o primeiro éxon não-codificante (Isobe et al. 1986).

O monômero de p53 é composto por uma sequência de 393 aminoácidos que contém dois domínios de transativação N-terminais (TAD1 e TAD2), um domínio conservado rico em prolinas (atuante em vias de resposta ao dano no DNA), um domínio central de ligação ao DNA, um domínio de oligomerização, um domínio C-terminal e sequências de localização nuclear (NLS) (Pavletich et al. 1993; Lee et al. 2010; Laptenko et al. 2015). As funções celulares desempenhadas por p53 dependem estritamente de interações proteína-proteína e controle transcricional de diversos genes-alvo de acordo com o contexto celular (Beckerman e Prives 2010).

Uma das interações mais importantes de p53 é com a ubiquitina ligase Mdm2, que atua como o principal regulador negativo de p53, garantindo que, sob condições normais (por exemplo, ausência de estresse celular), os níveis de p53 se mantenham baixos (Wade et al. 2010). No entanto, mediante condições de estresse celular, a via de p53 é ativada por modificações pós-traducionais, permitindo que a proteína se encaminhe para o núcleo e atue como fator de transcrição (Brooks e Gu 2006). O acúmulo de p53 no núcleo ativa diversas vias de resposta ao estresse, garantindo a parada do ciclo celular, inibição da angiogênese e em alguns casos induzindo apoptose (Aubrey et al. 2016).

A proteína p53 realiza diversas funções em contextos celulares diferentes e, dessa forma, faz-se necessário um controle delicado sobre o gene para cada momento. Diversos tipos de modificações pós-traducionais atuam nessa regulação, como: metilação, fosforilação, ubiquitinação, acetilação, glicosilação, nedilação e SUMOilação (Hernández Borrero e El-Deiry 2021).

Além disso, p53 possui uma complexa rede de interação com RNAs não codificantes, regulando a expressão de alguns microRNAs (miRNAs) e sendo regulado, tanto em atividade quanto em função, por outros (Feng et al. 2011). Os miRNAs regulados por p53 atuam na progressão do ciclo celular, proliferação, apoptose, transição epitélio-mesenquimal, angiogênese, entre outros (Liao et al. 2014). São exemplos de miRNAs regulados: miR-34a, miR-107, miR-143, miR-145, miR-192, miR-194 e miR-215 (Hermeking 2012). Ademais, p53 também está envolvido na própria maquinaria de biogênese dos miRNAs (Suzuki et al. 2009).

Variantes germinativas patogênicas em *TP53* estão associadas com a Síndrome de Li-Fraumeni (SLF) ou Síndrome de Li-Fraumeni-Like, caracterizadas pela predisposição hereditária a diversos tipos de câncer em idade jovem (Malkin et al. 1990). As neoplasias mais comumente associadas à síndrome são: sarcomas, câncer de mama, carcinomas adrenocorticais, tumores encefálicos e mais raramente, malignidades hematológicas (Olivier et al. 2003; Swaminathan et al. 2019).

As alterações somáticas em *TP53* ocorrem em vários tipos tumorais, sendo um dos genes mais comumente alterados ao longo do processo de carcinogênese (Aubrey et al. 2016). A ocorrência de variantes somáticas patogênicas tende a acontecer em estágios mais avançados ou em subtipos tumorais de perfil mais agressivo (Robles et al. 2016). Análises pan-tumorais apontam uma prevalência de inativação bialélica de *TP53* de cerca de 91% (Donehower et al. 2019). Entretanto, a perda de um alelo do gene já é o suficiente para diminuir os níveis de expressão de maneira significativa (Zenz et al. 2008).

Considerando o perfil mutacional do gene, as variantes de sentido trocado são o tipo de alteração patogênica mais comum, tanto no contexto somático quanto no germinativo (Olivier et al. 2010). Ademais, as alterações somáticas são mais frequentes no estágio avançado da tumorigênese, excetuando-se em alguns tipos tumorais de

comportamento mais agressivo (Langerød et al. 2007). A localização mais comum em que as variantes patogênicas ocorrem é no domínio de ligação do DNA, entre os éxons 5 e 8 da sequência gênica (Leroy et al. 2014). Apesar disso, variantes germinativas também são observadas nos outros domínios proteicos de p53 (e.g. variante patogênica fundadora p.Arg337His, no domínio de oligomerização), podendo apresentar penetrância e fenótipo distinto das variantes patogênicas mais comuns (Achatz et al. 2007).

Também foram encontradas variantes funcionais nas regiões não-traduzidas (5'UTR e 3'UTR) de *TP53*, podendo interferir na regulação da tradução, estabilidade do mRNA e vias de regulação por pequenos RNAs não-codificantes (Khan et al. 2013).

1.c. A variante funcional *TP53* rs78378222 (A>C) e sua possível relação com o mieloma múltiplo

A região 3' não-traduzida (3' UTR) de um transcrito, quando alterada, pode interferir no processamento dos transcritos primários (pre-mRNAs), uma vez que possuem sequências regulatórias de poliadenilação (sinal de poliadenilação e sítio de clivagem). Adicionalmente, as regiões 3'UTR comumente apresentam sítios de ligação para miRNAs, sendo que variações de sequência nessa região podem alterar os níveis de expressão gênica (Hollerer et al. 2014).

Um estudo pioneiro de associação de varredura completa do genoma (GWAS) realizado em populações europeias identificou a variante *TP53* rs78378222 (A>C), localizada na região 3'UTR do gene, em associação com diversos tipos de neoplasias, tais como carcinoma basocelular, câncer de próstata, glioma e adenoma de colorretal (Stacey et al. 2011). Posteriormente, diversos outros estudos observaram associações da variante com outras formas de câncer, incluindo neuroblastoma, leiomioma uterino, sarcoma de tecidos moles, carcinoma de células escamosas e câncer de pele não melanoma (Zhou et al. 2012; Enciso-Mora et al. 2013; Diskin et al. 2014; Rafnar et al. 2018; Deng et al. 2019; Di Giovannantonio et al. 2021). Ademais, uma meta-análise estabeleceu rs78378222 (A>C) como uma variante que confere aumento significativo no risco geral para o desenvolvimento de câncer em geral (Wang et al. 2016). Há ainda um estudo conduzido em nosso grupo de pesquisa que identificou uma associação entre a variante e o fenótipo

da SLF, estabelecendo-a como parte de um novo mecanismo de predisposição hereditária ao câncer (Macedo et al. 2016).

O impacto funcional da variante é atribuído a alteração do sinal de poliadenilação do gene (AATAAA >AATACA), constatando-se que a mesma interfere no mecanismo de regulação negativa da expressão de *TP53* por miRNAs e altera os níveis de expressão de p53 em diferentes tecidos (Li et al. 2013). Um estudo realizado em camundongos constatou que a variante cria um sítio de ligação para miR-382-5p e compromete o sítio de ligação de miR-325-3p, diminuindo a expressão de p53 no encéfalo e aumentando-a nas glândulas mamárias (Deng et al., 2019). Outro estudo, realizado em cultura de células epiteliais do cristalino, demonstrou que o alelo C introduz um sítio de ligação para miR-125b na região 3'UTR de *TP53*, afetando a regulação da expressão do gene (Zhao et al. 2016).

Em relação aos dados de frequência do alelo variante rs78378222[C] reportados até o momento, sabe-se que estes diferem bastante entre populações, atingindo até 3-4% em uma coorte de afetados por câncer com ancestralidade europeia; aproximadamente 0,6% no banco de dados AbraOM, que engloba dados de idosos saudáveis provenientes da região Sudeste do Brasil; e cerca de 0,22% em indivíduos da população geral com ancestralidade Latina e Africana no banco de dados gnomAD v3.1.1 (Stacey et al. 2011; Naslavsky et al. 2017; Karczewski et al. 2020). Adicionalmente, em estudos prévios do nosso grupo de pesquisa, não foram identificados portadores do alelo variante rs78378222[C] em uma coorte de pacientes com SLF portadores de variantes germinativas patogênicas em *TP53* provenientes da região Sul e Sudeste do Brasil. Contudo, foi observada uma alta frequência do genótipo heterozigoto rs78378222[AC] (5,4%) no grupo de pacientes com fenótipo da SLF, mas sem variante patogênica identificada em *TP53* (Macedo et al. 2016). Ainda, no mesmo estudo publicado em 2016, foi observada uma frequência da variante estimada em 1% no grupo controle analisado, composto somente por mulheres assintomáticas sem história pessoal e familiar de câncer recrutadas a partir de um programa de rastreamento mamográfico realizado na população do Rio Grande do Sul. Outro estudo realizado em nosso grupo de pesquisa encontrou uma frequência de 1,02% em amostras somáticas de adenocarcinoma de pulmão e uma frequência de 0,65% em

amostras germinativas de adenocarcinoma de próstata (Vieira et al., 2023, dados não publicados).

Algumas implicações clínicas foram atribuídas à presença do alelo variante *TP53* rs78378222[C] em heterozigose nos pacientes com tumores *TP53 wild type*. A redução dos níveis de expressão da proteína normal relacionou-se com diminuição no intervalo livre de progressão (PFI), sobrevida geral (OS) e resposta ao tratamento reduzidas e associação com subtipos específicos de cânceres de mama e ovário (Zhang et al., 2021).

Até o presente momento, não foram realizados estudos verificando a prevalência dessa variante em neoplasias hematológicas (exceto linfomas), como as leucemias e MM. A frequência alélica somática encontrada para o Linfoma difuso de grandes células B foi de 4,2% em uma coorte russa (Voropaeva et al. 2020). No caso do MM, a frequência de variantes somáticas patogênicas encontradas em *TP53* nos casos recém diagnosticados é baixa (variando entre 5-8%) (Jovanović et al. 2019). Entretanto, sua prevalência aumenta significativamente nos estágios mais avançados da doença (até 25%), evidenciando uma relação entre as mutações e a progressão da doença e mecanismos de resistência a drogas utilizadas no tratamento (Lionetti et al. 2016). Além disso, destaca-se a importância da interação regulatória entre p53 e os miRNAs, como no caso de miR-125b que foi observado desregulado em MM (Murray et al. 2013).

Nesse sentido, justifica-se um estudo de determinação da prevalência da variante *TP53* rs78378222 (A>C) em casos de MM como uma investigação inicial do papel desta variante funcional na região 3'UTR de *TP53* no desenvolvimento da doença. Especialmente, essa análise mostra-se pertinente em uma amostra populacional de MM da região Sul do Brasil, uma vez que evidências anteriores demonstram que a variante apresenta uma frequência considerável nessa população (1 a 5,4%).

CAPÍTULO 2. OBJETIVOS.

Objetivo Geral

Avaliar a prevalência e potenciais correlações clínicas da variante funcional *TP53* rs78378222 (A>C) em amostras de pacientes diagnosticados com mieloma múltiplo provenientes da região Sul do Brasil.

Objetivos Específicos

1. Determinar as frequências alélicas e genótípicas da variante funcional *TP53* rs78378222 (A>C) em amostras de sangue periférico (análise germinativa) de pacientes diagnosticados com mieloma múltiplo em hospitais terciários da região Sul do Brasil (especificamente, RS);
2. Comparar as frequências obtidas em nosso estudo com aquelas descritas previamente na população do RS e em bancos de dados populacionais da população brasileira (ABraOM)
3. Investigar potenciais correlações genótipo-fenótipo considerando o status da presença da variante e as diferentes manifestações clínicas (sexo, idade ao diagnóstico, resposta ao tratamento, recidiva e a presença de sintomas específicos [hipercalcemia, insuficiência renal, anemia e doença óssea lítica]) observadas nos casos de MM incluídos no presente estudo.

CAPÍTULO 3. ARTIGO

Prevalence of the functional variant TP53 rs78378222 (A>C) in patients from Southern Brazil diagnosed with multiple myeloma

Manuscrito em preparação para a revista BMC Cancer. Foram tomadas algumas liberdades em relação ao formato de submissão da revista para facilitar a leitura por parte da banca e a posterior inclusão de sugestões feitas por ela.

Prevalence of the functional variant *TP53* rs78378222 (A>C) in patients from Southern Brazil diagnosed with multiple myeloma

Bruno da Silveira Corrêa^{1,2}, Guilherme Danielski Viola^{1,2}, Mariléa Furtado Feira^{1,2}, Thayne Woycinck Kowalski^{1,2}, Igor Araujo Vieira², Rosane Isabel Bittencourt⁵, Luis Carlos Zanandrea Contin⁵, Marcelo Eduardo Zanella Capra⁶, Osvaldo Alfonso Pinto Artigalás⁶, Patricia Ashton-Prolla^{1,2,3*}, Fernanda Sales Luiz Vianna^{1,2,4}

1 Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Avenida Bento Gonçalves 9500, Agronomia, Porto Alegre, 91501-970, Rio Grande do Sul, Brazil.

2 Laboratório de Medicina Genômica, Centro de Pesquisa Experimental, Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Rua Ramiro Barcelos 2350, Santa Cecília, Porto Alegre, 90035-903, Rio Grande do Sul, Brazil.

3 Serviço de Genética Médica, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Rua Ramiro Barcelos 2350, Santa Cecília, Porto Alegre, 90035-903, Rio Grande do Sul, Brazil.

4 Laboratório de Imunobiologia e Imunogenética, Departamento de Genética, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Avenida Bento Gonçalves 9500, Agronomia, Porto Alegre, 91501-970, Rio Grande do Sul, Brazil.

5 Serviço de Hematologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Rua Ramiro Barcelos 2350, Santa Cecília, Porto Alegre, 90035-903, Rio Grande do Sul, Brazil.

6 Serviço de Hematologia do Grupo Hospitalar Conceição (GHC), R. Álvares Cabral 565, Cristo Redentor, Porto Alegre, 91350-250, Rio Grande do Sul, Brazil

* Corresponding author

Abstract:

The rare germline variant *TP53* rs78378222 (A>C) located in the 3' untranslated region of the *TP53* gene is linked to an increased risk of developing cancer, particularly glioma, prostate cancer, colorectal adenoma, neuroblastoma, and other neoplasms. This variant affects the polyadenylation signal of the gene, leading to the reduction of p53 expression levels due to interference in miRNA-mediated negative regulation. Allele frequencies vary across populations, with a frequency of 1.3% in European cohorts and around 0.6% in healthy elderly individuals from Southeast Brazil. In Southern Brazil, the frequency is 2.7% in Li Fraumeni patients lacking a pathogenic variant, and 0.65% in germline prostate adenocarcinoma patients. However, its frequency in multiple myeloma remains unknown. The objective of this cross-sectional study was to determine the genotype and allele frequencies of *TP53* rs78378222 (A>C) in a sample of MM patients, with peripheral blood samples obtained from two hospitals located in South Brazil. The TaqMan® allelic discrimination assay was used for variant genotyping in 86 patients (45 males and 41 females) with a median age at diagnosis of approximately 57 years. Two heterozygous patients carrying the variant allele were identified, resulting in genotype and allele C frequencies of 2.32% and 1.16%, respectively. Both carriers were self-identified as white males with no prior history of neoplasms, diagnosed at ages 34 and 63, respectively. The identified prevalence of the variant allele is higher than previously described in the Brazilian Database and in earlier studies in Southern Brazil that reported a prevalence of 1% in a control group. This study is the first to report on the prevalence of the *TP53* rs78378222 (A>C) variant in multiple myeloma (MM). However, a larger sample size is needed to conduct a more comprehensive analysis, including genotype-phenotype correlations. If the high frequency of the variant allele is confirmed, further studies investigating both germline and somatic samples would be justified. Additionally, evaluating the effect of this variant on MM progression could enhance our understanding of the disease and improve clinical management.

Keywords: rs78378222, *TP53*, Multiple Myeloma, MicroRNAs

Introduction:

Multiple myeloma (MM) is a type of malignant neoplasm that arises from the uncontrolled proliferation of plasma cells. It is the second most common hematological malignancy. Studies have indicated a global increase of 126% in incident cases and 94% in mortality between 1990 and 2016 [1,2]. Estimates for the year 2020 suggested 176,000 new MM cases and 117,000 deaths related to the disease [3].

The disease is characterized by high molecular heterogeneity, which includes various chromosomal abnormalities, single-nucleotide variants (SNVs), and insertions/deletions (indels) [4]. The molecular alterations in MM are related to various aspects of clinical management, such as disease diagnosis, prognosis, progression, risk stratification, and treatment [5]. *TP53* is one of the commonly altered genes in MM and is characterized by somatic alterations that are relatively rare at the time of diagnosis and more frequent in later stages of carcinogenesis [6]. Deletion of 17p, which contains the *TP53* gene, and biallelic inactivation of *TP53* are critical factors defining high-risk MM in the Revised International Staging System (R-ISS) [6]. To date, there are no significant reports on germline *TP53* variants [7].

Furthermore, MM has a significant genetic component, with a heritability estimated to be around 17%, and first-degree relatives exhibiting a relative risk of 2.1 [8]. However, despite these findings, there is still missing heritability that may be attributed to the presence of low-frequency variants in non-coding regions of the genome [9]. In this context, the rare germline variant *TP53* rs78378222 A>C, located in the 3' untranslated region (3'UTR), is a good candidate for further investigation. Its functional impact is attributed to the alteration in the polyadenylation signal of the gene (AATAAA >AATACA). The C allele interferes in the negative regulation of *TP53* by microRNAs and alters the levels of p53 expressed in tissues (Figure 1) [10]. Importantly, Zhao et al. (2016) identified *TP53* as a target for miR-125b and found that the minor allele of rs78378222 [C] interacts with this miRNA, potentially creating a new binding site and significantly reducing protein and mRNA levels [11]. Another study by Deng et al. (2019) identified the variant as creating a site for miR-382-5p and disrupting the miR-325-3p site [12].

The first study to report the role of this variant in cancer was a genome-wide association study (GWAS), which showed its link with basal cell carcinoma, prostate cancer, glioma, and colorectal adenoma [13]. Since then, multiple studies have found

associations of the variant allele with neoplasms such as neuroblastoma, uterine leiomyoma, soft tissue sarcoma, squamous cell carcinoma, and diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) [12, 14-19]. Moreover, a meta-analysis has established rs78378222 (A>C) as a variant that confers a significant increase in the overall risk of developing cancer [20].

Previous studies conducted by our research group in Southern Brazil have investigated the variant prevalence in cases of Li-Fraumeni syndrome, lung adenocarcinoma (LUAD), uterine leiomyoma (ULM), prostatic adenocarcinoma (PAC), and benign prostatic hyperplasia (BPH) [21; Vieira et al., 2023, unpublished results]. The results of these studies found carrier frequencies ranging from 1.0% to 5.4%. Considering the presence of the variant allele in our population and the importance of *TP53* alterations in different aspects of MM, this study aimed to determine the prevalence of the variant *TP53* rs78378222 A>C in patients diagnosed with MM in Southern Brazil. Currently, there is no information available on the prevalence of this variant in cases of MM, and this information has the potential to influence future clinical management.

Methodology:

Samples and ethical aspects

Patients over 18 years of age with a diagnosis of multiple myeloma who used thalidomide at some point in their treatment were included in the study. Patient recruitment was carried out at the Multiple Myeloma Ambulatory in the Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA, Rio Grande do Sul) and at the Hematology Ambulatory in the Hospital Nossa Senhora da Conceição of the Grupo Hospitalar Conceição (GHC, Rio Grande do Sul). This is a cross-sectional study using a sample population that was part of previous studies in our research group focusing on the pharmacogenomics of MM with thalidomide. Therefore, this justifies the selection of patients who have used the drug in our sample. Peripheral blood samples were collected from a total of 86 selected patients.

Information on clinical variables of interest was gathered to describe specific characteristics of variant allele carriers and discuss future evaluation of genotype-phenotype correlations. The selected features were: date of diagnosis, type of

MM, staging, type of light and heavy chain, presence of lytic lesions, treatment protocol, bone marrow transplant, response after induction, use of thalidomide, presence of neuropathy, relapse after induction, number of relapses, smoking, and history of previous neoplasms.

After including the biological materials and clinical data in the study, all the data was coded to ensure patient anonymity. The analysis of this variant has already been approved by the HCPA Research Ethics Committee within the project above entitled through an amendment on Protocol number (CAAE) 34711414.5.0000.5327).

Molecular analysis:

DNA extraction of peripheral blood samples was performed with PureLink® Genomic DNA Mini-Kit (Invitrogen™) extraction kit according to the manufacturer's instructions.

Genotyping of the functional variant *TP53* rs78378222 was performed by Real-Time PCR, using TaqMan® (Applied Biosystems, USA) allele discrimination assays, employing allele-specific fluorescent probes (Reference Code: C_102214636_10, Thermo Fisher Scientific). All of these assays were performed on StepOne™ Real-Time PCR Systems equipment (Applied Biosystems, USA).

Samples of patients identified through genotyping as carriers of the rs78378222[C] variant allele were confirmed via Sanger sequencing. The amplicons corresponding to the 3'UTR region of *TP53* were amplified using primer pairs designed based on the reference transcript NM_000546.5.

Statistical analysis

The allelic and genotypic frequencies of the *TP53* rs78378222 (A>C) SNP were determined in the group of patients diagnosed with MM. Frequencies were then compared to those previously described in studies carried out in our population [21; Vieira et al., 2023, unpublished results] and those present in the ABraOM database, composed of healthy elderly individuals from the population of the city of São Paulo (Southeastern region of Brazil). Additionally, our results were compared to the variant allele frequency in

general population databases and literature addressing the variant.

All statistical analyses were performed using SPSS 19 version software (IBM, Armonk, NY, USA) considering as significant results with a P-value<0.05.

Results

Our population sample consists of 86 patients diagnosed with MM, 45 of whom are male and 41 are female. Self-identified ethnic ancestry was as follows: black (N=10), brown (N=1), white (N=49), and unknown (N=26). The median age at diagnosis was approximately 57 years (49.3-66.3). The genotype and allele frequencies of the *TP53* rs78378222 variant (A>C) were 0.0232 and 0.0116, respectively (Table 1). Two individuals were identified as heterozygous carriers of the variant allele [C], and no homozygotes were detected.

The first carrier was a male diagnosed with MM at the age of 34 years, with ISS stage III and Durie-Salmon stage IIIb. The second case was a male diagnosed with MM at the age of 63 years, with ISS stage II and Durie-Salmon stage IIIa. Both carriers had no prior history of neoplasms and self-identified as white. Additional clinical information on these cases can be found in Table S1. Considering the early onset of MM development in one of the carriers of variant alleles, we have gathered specific genomic characteristics of the patient. The individual exhibits a *TP53* Pro72Arg (rs1042522) C/G and *NFKB* (rs28362491) del/del genotype. The implications of these variants in relation to neoplasms are inconclusive, and they do not appear to be associated with an elevated risk of MM development (22-24). It is worth noting that the *TP53* Pro72Arg variant is categorized as benign in the publicly available ClinVar database.

Minor allele frequency (C) in the general population database gnomAD v3.1.2 was 0.007969 [25]. However, this frequency varied widely between different populations, ranging from 0.01301 in non-Finnish Europeans to 0.002361 in Latino/Admixed Americans, and there were zero cases in some groups, such as East Asians and Amish populations (Table 1). When considering multiple databases, including gnomAD v3.1.2, Fabulous Ladies Over Seventy (FLOSSIES), Trans-Omics for Precision Medicine (TOPMed), and 1000 Genomes, the mean allele frequency was 0.0063757 [25-27]. Moreover, in the Online Archive of Brazilian Mutations (ABraOM), a database consisting of elderly individuals from São Paulo, Southeast Brazil, the allele frequency was

approximately 0.006 [28].

Across different neoplasms, the frequency of the variant varied considerably, ranging from absence to 0.042 in a cohort of DLBCL patients from Russia (refer to Table 1). We also collected allele frequencies reported in the literature for Southern Brazil to enable local comparisons (refer to Table 1). Importantly, our research group conducted a prior study that presents the sole appropriate control group for the variant in our population thus far, revealing an allele frequency of 0.005 [21]. This previous control group was considered as the control in our own comparisons and consisted of cancer-free women from Southern Brazil with no evidence or suspicion of breast cancer and no family history indicative of hereditary cancer syndromes.

Discussion:

In MM, biallelic inactivation of *TP53* is a rare event linked to disease progression, classified as a form of double-hit myeloma [29]. It was found in 3.7% of newly diagnosed cases and associated with worse outcomes [30]. In relapsed MM cases, biallelic inactivation was observed in 15% of cases and also linked to worse outcomes [31]. The lack of functional p53 is lower than expected, indicating post-translational mechanisms at play [32]. A low-frequency germline variant in *TP53*, particularly in non-coding regions, may serve as a precursor to developing high-risk MM [33]. This remains true even when accounting for functional variants, given the protein level reductions [34].

The rare variant rs7837822 A>C in the 3'UTR of the *TP53* gene is associated with increased cancer risk, including specific types of cancer and worse clinical outcomes [13, 35]. The variant decreases p53 expression levels, normal protein activities, and alters miRNA binding sites [12]. No investigation has been conducted regarding the prevalence of this variant in MM cases. Thus, our exploratory study aims to investigate the prevalence of the variant allele in MM cases.

The identified allele frequency in cases of MM was 0.0116, and collected data from various studies and general population databases for comparison purposes. Comparison with general population databases revealed a heterogeneous variant allele frequency with an average of 0.00634. Specifically, the European population showcases the highest frequency, exhibiting 0.0130 in gnomAD v3.1.2 and 0.02048 in European Americans within FLOSSIES (data not displayed in Table 1). Evidence suggests that the variant allele

is of European ancestry [20, 36].

Although the variant prevalence in MM (0.0116) is similar to that in the general European population (e.g., gnomAD v3.1.2 Non-Finnish European = 0.0130), a meaningful comparison requires considering the context. For instance, a study that examined the prevalence of variants in basal cell carcinoma cases among an Icelandic population found a frequency of 0.0192 in the control group and 0.0442 in cancer cases, representing a 2.3-fold increase [13]. Proper comparison within the same population is necessary to determine if the twofold increase in MM frequency in southern Brazil follows the control-to-cancer ratio observed in other neoplasms.

Brazil's population has a unique tri-hybrid genetic composition resulting from a mix of European, African, and Native American ancestries [37]. This composition varies in proportion across different regions of Brazil, with southern Brazil having a higher contribution of European ancestry and self-declared white individuals [38]. However, this does not necessarily indicate a strong similarity to an entirely European genetic composition. Despite data obtained from AbraOM and previous studies by our research group, limited information exists on the frequency of the variant in other regions of Brazil. It is plausible to hypothesize that the frequency of the variant may be associated with the rate of European contribution, indicating that regions outside the south may have lower frequencies and align more closely with the overall frequency observed across Latin America (0.023 in gnomAD v3.1.2).

Studies show the variant allele significantly reduces p53 expression and activity [10,21]. This raises questions about the impact of being a carrier on MM prognosis, given the two-hit hypothesis. The variant also creates a binding site for miR-125b and miR-382-5p, and disrupts miR-325-3p sites (Figure 1) [11,12].

The role of miR-125b's in cancer has shown conflicting results, with an oncogenic effect observed in most hematologic malignancies and a suppressive effect in various solid tumors [39, 40]. In MM, miR-125b's circulatory expression was found to be a predictive biomarker for relapse after AHST, with relapse incidence increasing as its expression increased [41]. Inhibition of miR-125b has been shown to slow MM progression by inhibiting Akt signaling, indicating it as a potential therapeutic target [42]. Studies in vitro have also identified miR-125b as an antiproliferative tumor suppressor by inhibiting interferon regulatory factor 4 (IRF4) and interacting with miR-34a [43, 44]. It has also

been associated with an anti-apoptotic role being insensitive to dexamethasone, and when cells were exposed to the drug, the expression of miR-125b was increased [45].

Considering that the variant allele rs78378222 [C] potentially adds a new binding site for the miRNA, it may result in differential interactions with p53 and potential changes in tumorigenesis. Therefore, investigating the variant allele's impact on MM tumorigenesis and clinical management through miRNA interactions is necessary. This investigation may lead to discovering biomarkers for drug resistance, prognosis, or relapse after transplantation.

This study is limited by the small size of our sample and the rarity of the variant, which prevented us from performing statistical tests to confirm the observed higher prevalence. Furthermore, the available control group consists of only 299 individuals, which is not fully representative of the general population in Southern Brazil. The variant allele frequency in this control group was 0.005, which is lower than the frequency of 0.0116 observed in our study for MM ($P=0.679$). However, achieving statistical differentiation between these frequencies would require a much larger sample size. It is difficult to obtain a sample size of that magnitude, especially when studying a specific region with a heterogeneous genetic composition.

Conclusions:

This study provides the first report on the prevalence of the *TP53* rs78378222 (A>C) variant in a population of patients diagnosed with MM. Despite having a small sample size, our results provide preliminary evidence that suggests a two-fold increase of the variant frequency in MM when compared to the general population of Southern Brazil.

A future study that evaluates paired germline and somatic (clonal plasma cells) could provide additional clarification regarding the relationship of the variant with the different stages of MM and offer significant insights into its clinical impact. Considering the observed frequencies of the variant in multiple myeloma and DLBCL (somatic), it would be of interest to investigate the allele frequency in other hematological malignancies.

If the variant is found to be associated with clinically relevant features, such as the development of MM, worse prognosis, and drug resistance, it would be justifiable to consider its implications in the context of healthcare practices. This is particularly

important for populations with higher frequencies of the variant, as they may benefit from including it in screening protocols or the development of polygenic risk scores specific to MM.

Table 1: Comparison of frequencies reported for the variant allele *TP53* rs78378222[C] in different neoplasms

Source or study	General population or Tumor Type	DNA	Studied Population	N	MAF ^a
gnomAD v3.1.2	General population	Germline	Global	76,044	0.0079
gnomAD v3.1.2	General population	Germline	European (Non-Finnish)	34,008	0.0130
gnomAD v3.1.2	General population	Germline	Latino/Admixed American	7,625	0.0023
ABraOM ^b	General population	Germline	Southeast Brazil	1,171	0.0060
1000 Genomes Phase 3	General population	Germline	Global	5,000	0.0030
TOPMed ^c	General population	Germline	Global	132,345	0.0065
FLOSSIES ^d	General population	Germline	European and African American	9,884	0.0083
Stacey et al. 2011	Basal Cell Carcinoma	Germline	Iceland	2,857	0.0190
Guan et al. 2013	Melanoma	Germline	USA (non-hispanic caucasians)	1329	0.0139
Wang et al. 2015	Glioma	Germline	Australia, China, Europe, Israel and USA	1,856	0.0292
Deng et al. 2019	Breast Cancer	Germline	China	2,373	0.0053

Table 1 (Continued): Comparison of frequencies reported for the variant allele *TP53* rs78378222[C] in different neoplasms

Source or study	General population or Tumor Type	DNA	Studied Population	N	MAF ^a
Voropaeva et al. 2020	Diffuse Large B-cell Lymphoma	Somatic	Russia	136	0.0420
Macedo et al., 2016	LFS patients with an identifiable pathogenic variant	Germline	Southern Brazil	130	0
Macedo et al., 2016	LFS patients without an identifiable pathogenic variant	Germline	Southern Brazil	129	0.0270
Vieira et al., 2022 ^e	Lung Adenocarcinoma	Somatic	Southern Brazil	586	0.0051
Vieira et al., 2022 ^e	Prostatic Adenocarcinoma	Germline	Southern Brazil	153	0.0033
Vieira et al., 2022 ^e	Benign Prostatic Hyperplasia	Germline	Southern Brazil	167	0.0029
Vieira et al., 2022 ^e	Uterine Leiomyoma	Somatic	Southern Brazil	41	0
Present study	Multiple Myeloma	Germline	Southern Brazil	86	0.0116

a - Minor Allele Frequency

b - Online Archive of Brazilian Mutations

c - Trans-Omics for Precision Medicine)

d - Fabulous Ladies Over Seventy

e - Unpublished data

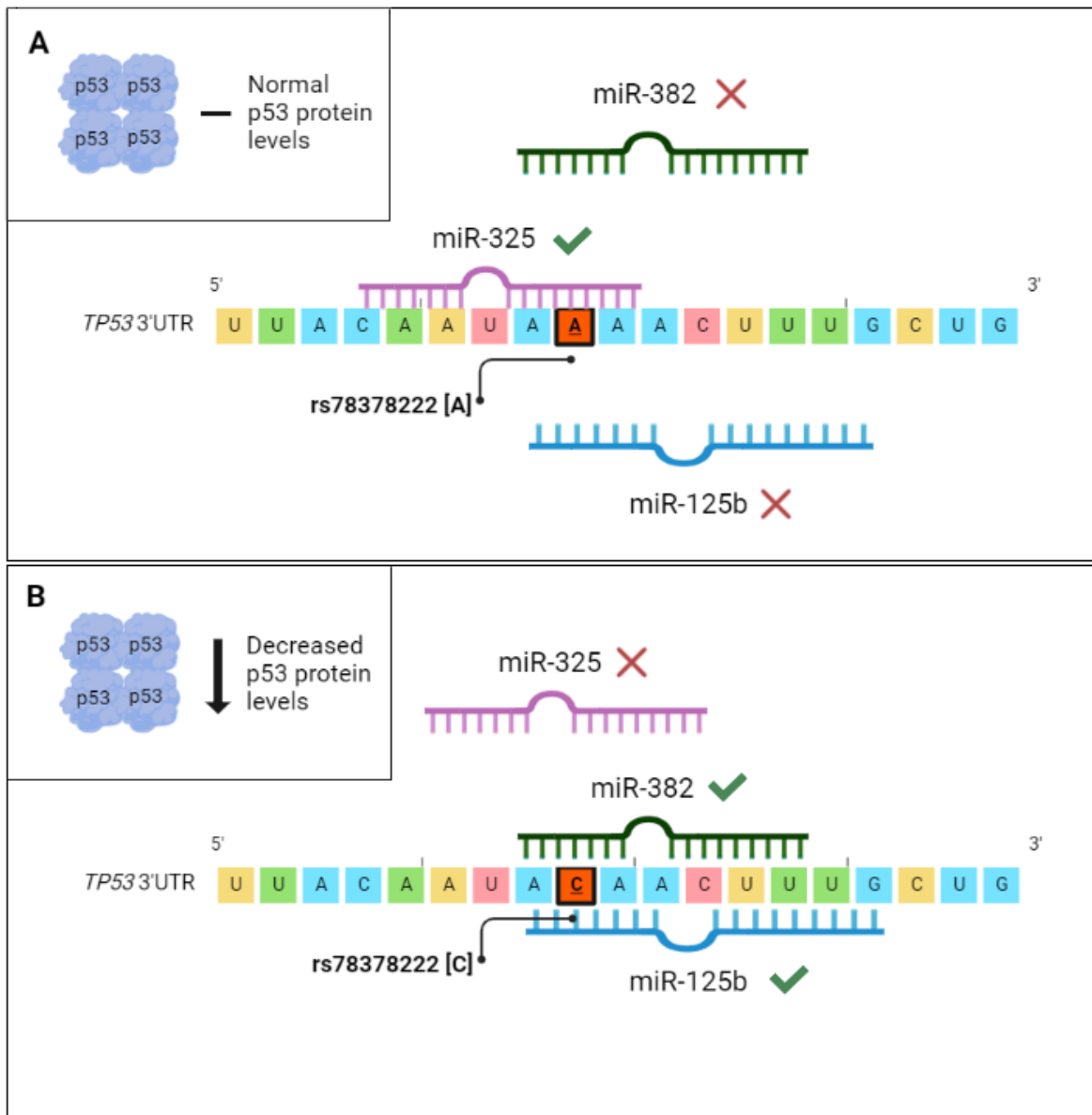


Figure 1. Interactions of *TP53* 3'UTR sequence with microRNAs considering rs78378222 alleles A and C. (a) The wild-type allele [A] is able to bind to miR-325 and unable to bind to miR-382 and miR-125b. Expression levels of p53 protein are normal. (b) The variant allele [C] disrupts the binding site for miR-325 and creates binding sites for miR-382 and miR-125b. Functional studies that evaluated miRNA interactions and effects in p53 expression levels are by Stacey et al., 2011; Li et al., 2013; Macedo et al., 2016; Zhao et al., 2016; Deng et al., 2019.

Supplementary Table 1: Summary of clinical information for the two *TP53* rs78378222 heterozygotes [A/C] identified in our sample

	<i>Patient 1</i>	<i>Patient 2</i>
<i>Sex</i>	Male	Male
<i>Self-identified ethnicity</i>	White	White
<i>Age at diagnosis</i>	34	63
<i>Monoclonal spike</i>	Gamma	Gamma
<i>Durie-Salmon (D&S) stage</i>	3B	3A
<i>International staging system (ISS) stage</i>	3	2
<i>Chain type</i>	IgG	Light chain myeloma
<i>Light chain</i>	Kappa	Kappa
<i>Post-induction response</i>	Very good partial response	Very good partial response
<i>Relapse after ASCT</i>	Yes	Yes
<i>Relapse count</i>	3	1
<i>Other neoplasms</i>	None	None

References:

1. Kazandjian D. Multiple myeloma epidemiology and survival: A unique malignancy. *Semin Oncol.* 2016;43:676–81.
2. Cowan AJ, Allen C, Barac A, Basaleem H, Bensenor I, Curado MP, et al. Global burden of multiple myeloma: A systematic analysis for the global burden of disease study 2016. *JAMA Oncol.* 2018;4:1221–7.
3. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;71:209–49.
4. Rasche L, Chavan SS, Stephens OW, Patel PH, Tytarenko R, Ashby C, et al. Spatial genomic heterogeneity in multiple myeloma revealed by multi-region sequencing. *Nat Commun.* 2017;8.
5. Cowan AJ, Green DJ, Kwok M, Lee S, Coffey DG, Holmberg LA, et al. Diagnosis and Management of Multiple Myeloma: A Review. *Jama.* 2022;327:464–77.
6. Palumbo A, Avet-Loiseau H, Oliva S, Lokhorst HM, Goldschmidt H, Rosinol L, et al. Revised international staging system for multiple myeloma: A report from international myeloma working group. *J Clin Oncol.* 2015;33:2863–9.
7. Willems PMW, Kuypers AWHM, Meijerink JPP, Holdrinet RSG, Mensink EJBM. Sporadic mutations of the p53 gene in multiple myeloma and no evidence for germline mutations in three familial multiple myeloma pedigrees. *Leukemia.* 1993;7:986–91.
8. Clay-Gilmour AI, Hildebrandt MAT, Brown EE, Hofmann JN, Spinelli JJ, Giles GG, et al. Coinherited genetics of multiple myeloma and its precursor, monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood Adv.* 2020;4:2789–97.
9. Ohnmacht J, May P, Sinkkonen L, Krüger R. Missing heritability in Parkinson’s disease: the emerging role of non-coding genetic variation. *J Neural Transm.* 2020;127:729–48.
10. Li Y, Gordon MW, Xu-Monette ZY, Visco C, Tzankov A, Zou D, et al. Single nucleotide variation in the TP53 3’ untranslated region in diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab-CHOP: A report from the International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program. *Blood.* 2013;121:4529–40.
11. Zhao Y, Li X, Zhu S. Rs78378222 polymorphism in the 3’-untranslated region of TP53 contributes to development of age-associated cataracts by modifying microRNA-125b-induced apoptosis of lens epithelial cells. *Mol Med Rep.*

2016;14:2305–10.

12. Deng Q, Hu H, Yu X, Liu S, Wang L, Chen W, et al. Tissue-specific microRNA expression alters cancer susceptibility conferred by a TP53 noncoding variant. *Nat Commun.* 2019;10.

13. Stacey SN, Sulem P, Jonasdottir A, Masson G, Gudmundsson J, Gudbjartsson DF, et al. A germline variant in the TP53 polyadenylation signal confers cancer susceptibility. *Nat Genet.* 2011;43:1098–103.

14. Zhou L, Yuan Q, Yang M. A functional germline variant in the P53 polyadenylation signal and risk of esophageal squamous cell carcinoma. *Gene.* 2012;506:295–7.

15. Enciso-Mora V, Hosking FJ, Di Stefano AL, Zelenika D, Shete S, Broderick P, et al. Low penetrance susceptibility to glioma is caused by the TP53 variant rs78378222. *Br J Cancer.* 2013;108:2178–85.

16. Diskin SJ, Capasso M, Diamond M, Oldridge DA, Conkrite K, Bosse KR, et al. Rare variants in TP53 and susceptibility to neuroblastoma. *J Natl Cancer Inst.* 2014;106.

17. Rafnar T, Gunnarsson B, Stefansson OA, Sulem P, Ingason A, Frigge ML, et al. Variants associating with uterine leiomyoma highlight genetic background shared by various cancers and hormone-related traits. *Nat Commun.* 2018;9.

18. Di Giovannantonio M, Harris BHL, Zhang P, Kitchen-Smith I, Xiong L, Sahgal N, et al. Heritable genetic variants in key cancer genes link cancer risk with anthropometric traits. *J Med Genet.* 2021;58:392–9.

19. Voropaeva EN, Orlov YL, Pospelova TI, Gurageva AA, Voevoda MI, Maksimov VN, et al. The rs78378222 prevalence and the copy loss of the protective allele A in the tumor tissue of diffuse large B-cell lymphoma. *PeerJ.* 2020;8.

20. Wang Y, Wu XS, He J, Ma T, Lei W, Shen ZY. A novel TP53 variant (rs78378222 A > C) in the polyadenylation signal is associated with increased cancer susceptibility: Evidence from a meta-analysis. *Oncotarget.* 2016;7:32854–65.

21. Macedo GS, Araujo Vieira I, Brandalize AP, Giacomazzi J, Inez Palmero E, Volc S, et al. Rare germline variant (rs78378222) in the TP53 3' UTR: Evidence for a new mechanism of cancer predisposition in Li-Fraumeni syndrome. *Cancer Genet.* 2016;209:97–106.

22. Zhu Z-Z, Wang A-Z, Jia H-R, Jin X-X, He X-L, Hou L-F, et al. Association of the TP53 Codon 72 Polymorphism with Colorectal Cancer in a Chinese Population. *Jpn J Clin*

Oncol. 2007;37:385–90.

23. Bulgakova O, Kussainova A, Bersimbaev R. The cell cycle regulatory gene polymorphisms TP53 (rs1042522) and MDM2 (rs2279744) in lung cancer: a meta-analysis. *Vavilov J Genet Breed.* 2020;24:77–784.
24. Govindasamy P, Sharchil C, Mohan N, Pandurangan P, Tarigopula A, Mani R, et al. TP53 Gene Alterations including Codon 72 Polymorphism in Patients with Multiple Myeloma. *J Clin DIAGNOSTIC Res.* 2018.
25. Taliun D, Harris DN, Kessler MD, Carlson J, Szpiech ZA, Torres R, et al. Sequencing of 53,831 diverse genomes from the NHLBI TOPMed Program. *Nature.* 2021;590:290–9.
26. The FLOSSIES project. A database of germline genomic variation in healthy older women (2023) Online: <https://whi.color.com/> last access: 04.03.2023
27. Fairley S, Lowy-Gallego E, Perry E, Flicek P. The International Genome Sample Resource (IGSR) collection of open human genomic variation resources. *Nucleic Acids Res.* 2020;48:D941–7.
28. Naslavsky MS, Scliar MO, Yamamoto GL, Wang JYT, Zverinova S, Karp T, et al. Whole-genome sequencing of 1,171 elderly admixed individuals from São Paulo, Brazil. *Nat Commun.* 2022;13.
29. Baysal M, Demirci U, Umit E, Kirkizlar HO, Atli EI, Gurkan H, et al. Concepts of Double Hit and Triple Hit Disease in Multiple Myeloma, Entity and Prognostic Significance. *Sci Rep.* 2020;10.
30. Walker BA, Mavrommatis K, Wardell CP, Ashby TC, Bauer M, Davies F, et al. A high-risk, Double-Hit, group of newly diagnosed myeloma identified by genomic analysis. *Leukemia.* 2019;33:159–70.
31. Weinhold N, Ashby C, Rasche L, Chavan SS, Stein C, Stephens OW, et al. Clonal selection and double-hit events involving tumor suppressor genes underlie relapse in myeloma. *Blood.* 2016;128:1735–44.
32. Jovanović KK, Escure G, Demonchy J, Willaume A, Van De Wyngaert Z, Farhat M, et al. Deregulation and targeting of TP53 pathway in multiple myeloma. *Front Oncol.* 2019;9 JAN.
33. Manolio TA, Collins FS, Cox NJ, Goldstein DB, Hindorff LA, Hunter DJ, et al. Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature.* 2009;461:747–53.
34. Ellingford JM, Ahn JW, Bagnall RD, Baralle D, Barton S, Campbell C, et al.

Recommendations for clinical interpretation of variants found in non-coding regions of the genome. *Genome Med.* 2022;14.

35. Zhang P, Kitchen-Smith I, Xiong L, Stracquadanio G, Brown K, Richter PH, et al. Germline and somatic genetic variants in the p53 pathway interact to affect cancer risk, progression, and drug response. *Cancer Res.* 2021;81:1667–80.

36. Karczewski KJ, Francioli LC, Tiao G, Cummings BB, Alföldi J, Wang Q, et al. The mutational constraint spectrum quantified from variation in 141,456 humans. *Nature.* 2020;581:434–43.

37. de Souza AM, Resende SS, de Sousa TN, de Brito CFA. A systematic scoping review of the genetic ancestry of the Brazilian population. *Genet Mol Biol.* 2019;42:495–508.

38. Pena SDJ, di Pietro G, Fuchshuber-Moraes M, Genro JP, Hutz MH, Kehdy F de SG, et al. The genomic ancestry of individuals from different geographical regions of Brazil is more uniform than expected. *PLoS One.* 2011;6.

39. Banzhaf-Strathmann J, Edbauer D. Good guy or bad guy: The opposing roles of microRNA 125b in cancer. *Cell Commun Signal.* 2014;12.

40. Shaham L, Binder V, Gefen N, Borkhardt A, Izraeli S. MiR-125 in normal and malignant hematopoiesis. *Leukemia.* 2012;26:2011–8.

41. Rafiee M, Amiri F, Mohammadi MH, Hajifathali A. MicroRNA-125b as a valuable predictive marker for outcome after autologous hematopoietic stem cell transplantation. *BMC Cancer.* 2023;23.

42. Jiang Y, Ding J, Li J, Chen G. Effects of microRNA-125b on multiple myeloma cell growth in vitro and in vivo. *Oncol Rep.* 2018;40:2864–75.

43. Morelli E, Leone E, Cantafio MEG, Di Martino MT, Amodio N, Biamonte L, et al. Selective targeting of IRF4 by synthetic microRNA-125b-5p mimics induces anti-multiple myeloma activity in vitro and in vivo. *Leukemia.* 2015;29:2173–83.

44. Misso G, Zarone MR, Lombardi A, Grimaldi A, Cossu AM, Ferri C, et al. miR-125b Upregulates miR-34a and Sequentially Activates Stress Adaptation and Cell Death Mechanisms in Multiple Myeloma. *Mol Ther - Nucleic Acids.* 2019;16:391–406.

45. Murray MY, Rushworth SA, Zaitseva L, Bowles KM, MacEwan DJ. Attenuation of dexamethasone-induced cell death in multiple myeloma is mediated by miR-125b expression. *Cell Cycle.* 2013;12:2144–53.

CAPÍTULO 4. DISCUSSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos até o momento indicam uma maior prevalência da variante *TP53 rs78378222 A>C* em casos de MM quando comparado ao grupo controle disponível para a população do Sul do Brasil. Entretanto, para confirmarmos esse achado, precisamos de maior poder estatístico. A maior limitação do presente estudo é o pequeno tamanho amostral.

Nosso estudo transversal é composto por uma população amostral de 86 pacientes e encontramos uma frequência alélica de 0,0116, enquanto o grupo controle do estudo de Macedo e colaboradores (2016) é composto por 299 pacientes e encontrou uma frequência alélica de 0,005. Considerando os tamanhos amostrais atuais, não é possível distinguir as duas frequências ($P=0,679$). Para testar adequadamente a hipótese nula, seria necessário aumentar o tamanho amostral para quase mil indivíduos. Entretanto, alcançar esse tamanho amostral exigiria um grande esforço, visto que seria necessário obter o consentimento de novos pacientes e estabelecer novas colaborações. Além disso, há a limitação na encomenda de novos insumos, efeitos da pandemia de COVID-19 na dinâmica hospitalar e a restrição em novos diagnósticos nos dois centros (HCPA e GHC).

Temos como perspectiva imediata incluir novos pacientes no projeto de duas maneiras distintas. A primeira consiste na solicitação de emenda ao projeto atual para a inclusão de pacientes diagnosticados com MM no período de 2022-2023, identificando-os através de uma query no HCPA. A segunda forma seria mediante uma colaboração a ser aprovada com a Universidade Federal do Pará, em parceria com a professora Andrea Kely Campos Ribeiro dos Santos. São 43 amostras de pacientes diagnosticados com MM que fazem parte de um projeto de pesquisa registrado na Plataforma Brasil sob CAAE 40193320.8.3001.5550, tendo sido submetida uma emenda pela pesquisadora responsável para o uso dessas amostras em análises moleculares adicionais.

Estas amostras provenientes da colaboração incluem pacientes da região Norte do Brasil, onde não há nenhum estudo avaliando a prevalência da variante. Embora consideremos o alelo como de origem europeia, o que sugere frequências menores em outras regiões do país, ainda é relevante investigar a prevalência desse alelo, uma vez que ele possui potencial para impactar o manejo clínico no futuro.

Como limitação adicional, este estudo enfrentou obstáculos relacionados à

pandemia de COVID-19. A logística de realização das análises foi prejudicada devido às dificuldades de acesso ao laboratório nos primeiros momentos do projeto. Além disso, a possibilidade de inclusão prospectiva de pacientes foi desencorajada inicialmente, considerando o cenário de saúde e o estresse adicional em aplicar termos de consentimento aos pacientes.

Durante esses períodos de limitação, foi realizada a preparação para a submissão de um manuscrito à revista *Clinical Biochemistry*, intitulado “*Challenges to the effectiveness of next-generation sequencing in FFPE tumor samples: the experience of a molecular testing program for NSCLC in South Brazil*”.

Os miRNAs possuem uma grande dualidade no que diz respeito ao seu efeito como oncomiRs ou supressores tumorais. Alterações no contexto molecular em que são expressos podem fazer com que desempenhem as duas funções em momentos diferentes (Svoronos et al. 2016). Portanto, esta é uma área que necessita de bastante atenção em estudos futuros para capturar o verdadeiro efeito do RNA em questão. Quando falamos de variantes que alteram a sequência em 3'UTR, é necessário considerar a rede de interações do transcrito com os miRNAs. O alelo variante rs78378222 [C] altera a relação do transcrito de *TP53* com diversos miRNAs, como miR-125b, miR-382-5p, miR-325-3p e miR-545-3p (Deng 2019; Zhao 2016; Macedo 2016). A realização de correlações clínicas, estudos de segregação e funcionais certamente auxiliarão no estabelecimento do impacto da variante quando analisarmos esses miRNAs individualmente e coletivamente.

Durante a escrita da dissertação, Rafiee e colaboradores (2023) publicaram o artigo intitulado “MicroRNA-125b as a valuable predictive marker for outcome after autologous hematopoietic stem cell transplantation”. Como resultado de destaque, os pesquisadores encontraram o miR-125b circulatório como um biomarcador de recaída após transplante em casos de MM. Este trabalho traz perspectivas interessantes sobre o potencial significado clínico da variante, o que está em consonância com as questões discutidas em capítulos anteriores desta dissertação. Uma vez que a variante *TP53* rs78378222 A>C cria um sítio de ligação para esse miRNA, levanta-se a hipótese de que o alelo variante torne o miR-125b circulatório um biomarcador ainda mais útil. Além disso, abre-se a possibilidade de novos estudos *in vivo* e *in vitro* para avaliar o impacto da variante em diferentes contextos celulares e moleculares.

Os resultados discutidos abrem diversas perspectivas para futuros estudos, como, por exemplo, uma avaliação combinada do miR-125b circulatório, a presença da variante e recaída pós-TACTH. Outras possibilidades envolvem a relação da presença do alelo com variáveis, como a resposta às drogas, neoplasias concomitantes, progressão de GMSI e SMM para MM, sobrevida sem progressão e sobrevida global. Caso seja confirmada por estudos funcionais alguma alteração na tumorigênese de MM ocasionada pela presença do alelo variante, o achado teria significado clínico mesmo em populações com baixa frequência do alelo variante, podendo resultar na inclusão da variante em diretrizes de manejo. A maior dificuldade na realização desse tipo de estudo é a baixa frequência da variante, já que, quanto mais variáveis clínicas forem adicionadas, mais difícil será obter uma população amostral ideal.

Ademais, considerando que as alterações em *TP53* também possuem importância na tumorigênese de outras neoplasias hematológicas, é importante destacar o papel do oncomiR e da resistência a drogas do miR-125b (Svoronos et al. 2016). Logo, a investigação da prevalência e das correlações genótipo-fenótipo nessas neoplasias podem trazer resultados interessantes.

REFERÊNCIAS

Achatz MIW, Olivier M, Calvez F Le, Martel-Planche G, Lopes A, Rossi BM, Ashton-Prolla P, Giugliani R, Palmero EI, Vargas FR et al. (2007) The TP53 mutation, R337H, is associated with Li-Fraumeni and Li-Fraumeni-like syndromes in Brazilian families. *Cancer Lett* 245:96–102. doi: 10.1016/j.canlet.2005.12.039

Aubrey BJ, Strasser A and Kelly GL (2016) Tumor-suppressor functions of the TP53 pathway. *Cold Spring Harb Perspect Med*. doi: 10.1101/cshperspect.a026062

Beckerman R and Prives C (2010) Transcriptional regulation by p53. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. doi: 10.1101/cshperspect.a000935

Brooks CL and Gu W (2006) p53 ubiquitination: Mdm2 and beyond. *Mol Cell* 21:307–315. doi: 10.1016/j.molcel.2006.01.020

Bousquet M, Harris MH, Zhou B and Lodish HF (2010) MicroRNA miR-125b causes leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107:21558–21563. doi: 10.1073/pnas.1016611107

Canzian F, Piredda C, Macaudo A, Zawirska D, Andersen NF, Nagler A, Zaucha JM, Mazur G, Dumontet C, Wątek M et al. (2022) A polygenic risk score for multiple myeloma risk prediction. *Eur J Hum Genet* 30:474–479. doi: 10.1038/s41431-021-00986-8

Chan H, Phillips M, Maganti M, Farooki S, Piza Rodriguez G, Masih-Khan E, Chen C, Prica A, Reece D, Tiedemann R et al. (2018) Single-center Experience in Treating Patients With t(4;14) Multiple Myeloma With and Without Planned Frontline Autologous Stem Cell Transplantation. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 18:225–234. doi: 10.1016/j.clml.2017.12.009

Chapman MA, Lawrence MS, Keats JJ, Cibulskis K, Sougnez C, Schinzel AC, Harview CL, Brunet J-P, Ahmann GJ, Adli M et al. (2011) Initial genome sequencing and analysis of multiple myeloma. *Nature* 471:467–472. doi: 10.1038/nature09837

Clay-Gilmour AI, Hildebrandt MAT, Brown EE, Hofmann JN, Spinelli JJ, Giles GG, Cozen W, Bhatti P, Wu X, Waller RG et al. (2020) Coinherited genetics of multiple myeloma and its precursor, monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood*

Adv 4:2789–2797. doi: 10.1182/bloodadvances.2020001435

Cohen YC, Zada M, Wang SY, Bornstein C, David E, Moshe A, Li B, Shlomi-Loubaton S, Gatt ME, Gur C et al. (2021) Identification of resistance pathways and therapeutic targets in relapsed multiple myeloma patients through single-cell sequencing. *Nat Med* 27:491–503. doi: 10.1038/s41591-021-01232-w

Cowan AJ, Allen C, Barac A, Basaleem H, Bensenor I, Curado MP, Foreman K, Gupta R, Harvey J, Dean Hosgood H et al. (2018) Global burden of multiple myeloma: A systematic analysis for the global burden of disease study 2016. *JAMA Oncol* 4:1221–1227. doi: 10.1001/jamaoncol.2018.2128

Cowan AJ, Green DJ, Kwok M, Lee S, Coffey DG, Holmberg LA, Tuazon S, Gopal AK and Libby EN (2022) Diagnosis and Management of Multiple Myeloma. *JAMA* 327:464. doi: 10.1001/jama.2022.0003

Delforge M, Bladé J, Dimopoulos MA, Facon T, Kropff M, Ludwig H, Palumbo A, van Damme P, San-Miguel JF and Sonneveld P (2010) Treatment-related peripheral neuropathy in multiple myeloma: the challenge continues. *The Lancet Oncology* 11:1086–1095. doi: 10.1016/S1470-2045(10)70068-1

Deng Q, Hu H, Yu X, Liu S, Wang L, Chen W, Zhang C, Zeng Z, Cao Y, Xu-Monette ZY et al. (2019) Tissue-specific microRNA expression alters cancer susceptibility conferred by a TP53 noncoding variant. *Nat Commun*. doi: 10.1038/s41467-019-13002-x

Di Giovannantonio M, Harris BHL, Zhang P, Kitchen-Smith I, Xiong L, Sahgal N, Stracquadanio G, Wallace M, Blagden S, Lord S et al. (2021) Heritable genetic variants in key cancer genes link cancer risk with anthropometric traits. *J Med Genet* 58:392–399. doi: 10.1136/jmedgenet-2019-106799

Dimopoulos MA, Moreau P, Terpos E, Mateos MV, Zweegman S, Cook G, Delforge M, Hájek R, Schjesvold F, Cavo M et al. (2021) Multiple myeloma: EHA-ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up†. *Ann Oncol* 32:309–322. doi: 10.1016/j.annonc.2020.11.014

Diskin SJ, Capasso M, Diamond M, Oldridge DA, Conkrite K, Bosse KR, Russell MR,

Iolascon A, Hakonarson H, Devoto M et al. (2014) Rare variants in TP53 and susceptibility to neuroblastoma. *J Natl Cancer Inst.* doi: 10.1093/jnci/dju047

Donehower LA, Soussi T, Korkut A, Liu Y, Schultz A, Cardenas M, Li X, Babur O, Hsu T-K, Lichtarge O et al. (2019) Integrated Analysis of TP53 Gene and Pathway Alterations in The Cancer Genome Atlas. *Cell Rep* 28:1370-1384.e5. doi: 10.1016/j.celrep.2019.07.001

Durie BGM and Salmon SE (1975) A clinical staging system for multiple myeloma correlation of measured myeloma cell mass with presenting clinical features, response to treatment, and survival. *Cancer* 36:842–854. doi: 10.1002/1097-0142(197509)36:3<842::AID-CNCR2820360303>3.0.CO;2-U

Enciso-Mora V, Hosking FJ, Di Stefano AL, Zelenika D, Shete S, Broderick P, Idbah A, Delattre JY, Hoang-Xuan K, Marie Y et al. (2013) Low penetrance susceptibility to glioma is caused by the TP53 variant rs78378222. *Br J Cancer* 108:2178–2185. doi: 10.1038/bjc.2013.155

Equipe Oncoguia (org) (2021). INCA responde Oncoguia sobre estimativas do mieloma múltiplo. Elaborada pela Equipe Oncoguia. [http://www.oncoguia.org.br/conteudo/inca-responde-oncoguia-sobre-estimativas-do-mieloma-multiplo/14389/8/#:~:text=As%20estimativas%20do%20c%3%A2ncer%20realizada%20s,a%20incid%3%A2ncia%20destes%20tumores%20isoladamente.\(DATA DE ACESSO - July 31, 2023\)](http://www.oncoguia.org.br/conteudo/inca-responde-oncoguia-sobre-estimativas-do-mieloma-multiplo/14389/8/#:~:text=As%20estimativas%20do%20c%3%A2ncer%20realizada%20s,a%20incid%3%A2ncia%20destes%20tumores%20isoladamente.(DATA DE ACESSO - July 31, 2023))

Feng Z, Zhang C, Wu R and Hu W (2011) Tumor suppressor p53 meets microRNAs. *J Mol Cell Biol* 3:44–50. doi: 10.1093/jmcb/mjq040

Flynt E, Bisht K, Sridharan V, Ortiz M, Towfic F and Thakurta A (2020) Prognosis, Biology, and Targeting of TP53 Dysregulation in Multiple Myeloma. *Cells* 9:287. doi: 10.3390/cells9020287

García-Ortiz A, Rodríguez-García Y, Encinas J, Maroto-Martín E, Castellano E, Teixidó J and Martínez-López J (2021) The Role of Tumor Microenvironment in Multiple Myeloma Development and Progression. *Cancers (Basel)* 13:217. doi: 10.3390/cancers13020217

Gerecke C, Fuhrmann S, Strifler S, Schmidt-Hieber M, Einsele H and Knop S (2016) Diagnostik und Therapie des Multiplen Myeloms. *Dtsch Arztebl Int* 113:470–476. doi: 10.3238/arztebl.2016.0470

Gonsalves WI, Buadi FK, Ailawadhi S, Bergsagel PL, Chanan Khan AA, Dingli D, Dispenzieri A, Fonseca R, Hayman SR, Kapoor P et al. (2019) Utilization of hematopoietic stem cell transplantation for the treatment of multiple myeloma: a Mayo Stratification of Myeloma and Risk-Adapted Therapy (mSMART) consensus statement. *Bone Marrow Transplant* 54:353–367. doi: 10.1038/s41409-018-0264-8

Greipp PR, Miguel JS, Durie BGM, Crowley JJ, Barlogie B, Bladé J, Boccadoro M, Child JA, Avet-Loiseau H, Kyle RA et al. (2005) International Staging System for Multiple Myeloma. *Journal of Clinical Oncology* 23:3412–3420. doi: 10.1200/JCO.2005.04.242

Guimaraes DP and Hainaut P (2002) TP53: A key gene in human cancer. *Biochimie* 84:83–93. doi: 10.1016/S0300-9084(01)01356-6

Gupta N, Sharma A and Sharma A (2020) Emerging biomarkers in Multiple Myeloma: A review. *Clin Chim Acta* 503:45–53. doi: 10.1016/j.cca.2019.12.026

Hermeking H (2012) MicroRNAs in the p53 network: micromanagement of tumour suppression. *Nat Rev Cancer* 12:613–626. doi: 10.1038/nrc3318

Hernández Borrero LJ and El-Deiry WS (2021) Tumor suppressor p53: Biology, signaling pathways, and therapeutic targeting. *Biochim Biophys Acta - Rev Cancer* 1876:188556. doi: 10.1016/j.bbcan.2021.188556

Ho M, Patel A, Goh CY, Moscovin M, Zhang L and Bianchi G (2020) Changing paradigms in diagnosis and treatment of monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and smoldering multiple myeloma (SMM). *Leukemia* 34:3111–3125. doi: 10.1038/s41375-020-01051-x

Hollerer I, Grund K, Hentze MW and Kulozik AE (2014) mRNA 3'end processing: A tale of the tail reaches the clinic. *EMBO Mol Med* 6:16–26. doi: 10.1002/emmm.201303300

Hu Y, Chen W and Wang J (2019) Progress in the identification of gene mutations

involved in multiple myeloma. *OncoTargets and Therapy* Volume 12:4075–4080. doi: 10.2147/OTT.S205922

Isobe M, Emanuel BS, Givol D, Oren M and Croce CM (1986) Localization of gene for human p53 tumour antigen to band 17p13. *Nature* 320:84–85. doi: 10.1038/320084a0

Joshua DE, Bryant C, Dix C, Gibson J and Ho J (2019) Biology and therapy of multiple myeloma. *Med J Aust* 210:375–380. doi: 10.5694/mja2.50129

Jovanović KK, Escure G, Demonchy J, Willaume A, Van De Wyngaert Z, Farhat M, Chauvet P, Facon T, Quesnel B and Manier S (2019) Deregulation and targeting of TP53 pathway in multiple myeloma. *Front Oncol*. doi: 10.3389/fonc.2018.00665

Karczewski KJ, Francioli LC, Tiao G, Cummings BB, Alföldi J, Wang Q, Collins RL, Laricchia KM, Ganna A, Birnbaum DP et al. (2020) The mutational constraint spectrum quantified from variation in 141,456 humans. *Nature* 581:434–443. doi: 10.1038/s41586-020-2308-7

Kazandjian D (2016) Multiple myeloma epidemiology and survival: A unique malignancy. *Semin Oncol* 43:676–681. doi: 10.1053/j.seminoncol.2016.11.004

Khan D, Sharathchandra A, Ponnuswamy A, Grover R and Das S (2013) Effect of a natural mutation in the 5' untranslated region on the translational control of p53 mRNA. *Oncogene* 32:4148–4159. doi: 10.1038/onc.2012.422

Kristinsson SY, Björkholm M, Goldin LR, Blimark C, Mellqvist U, Wahlin A, Turesson I and Landgren O (2009) Patterns of hematologic malignancies and solid tumors among 37,838 first-degree relatives of 13,896 patients with multiple myeloma in Sweden. *Int J Cancer* 125:2147–2150. doi: 10.1002/ijc.24514

Kumar S, Fonseca R, Ketterling RP, Dispenzieri A, Lacy MQ, Gertz MA, Hayman SR, Buadi FK, Dingli D, Knudson RA et al. (2012) Trisomies in multiple myeloma: impact on survival in patients with high-risk cytogenetics. *Blood* 119:2100–2105. doi: 10.1182/blood-2011-11-390658

Kyle RA, Gertz MA, Witzig TE, Lust JA, Lacy MQ, Dispenzieri A, Fonseca R, Rajkumar

SV, Offord JR, Larson DR et al. (2003) Review of 1027 Patients With Newly Diagnosed Multiple Myeloma. *Mayo Clin Proc* 78:21–33. doi: 10.4065/78.1.21

Kyle RA, Larson DR, Therneau TM, Dispenzieri A, Kumar S, Cerhan JR and Rajkumar SV (2018) Long-Term Follow-up of Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance. *N Engl J Med* 378:241–249. doi: 10.1056/NEJMoa1709974

Kyle RA, Remstein ED, Therneau TM, Dispenzieri A, Kurtin PJ, Hodnefield JM, Larson DR, Plevak MF, Jelinek DF, Fonseca R et al. (2007) Clinical Course and Prognosis of Smoldering (Asymptomatic) Multiple Myeloma. *N Engl J Med* 356:2582–2590. doi: 10.1056/NEJMoa070389

Lakshman A, Painuly U, Rajkumar SV, Ketterling RP, Kapoor P, Greipp PT, Dispenzieri A, Gertz MA, Buadi FK, Lacy MQ et al. (2019) Impact of acquired del(17p) in multiple myeloma. *Blood Adv* 3:1930–1938. doi: 10.1182/bloodadvances.2018028530

Landgren O, Kristinsson SY, Goldin LR, Caporaso NE, Blimark C, Mellqvist U-H, Wahlin A, Bjorkholm M and Turesson I (2009) Risk of plasma cell and lymphoproliferative disorders among 14621 first-degree relatives of 4458 patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance in Sweden. *Blood* 114:791–795. doi: 10.1182/blood-2008-12-191676

Langerød A, Zhao H, Borgan Ø, Nesland JM, Bukholm IRK, Ikdahl T, Kåresen R, Børresen-Dale AL and Jeffrey SS (2007) TP53 mutation status and gene expression profiles are powerful prognostic markers of breast cancer. *Breast Cancer Res.* doi: 10.1186/bcr1675

Laptenko O, Shiff I, Freed-Pastor W, Zupnick A, Mattia M, Freulich E, Shamir I, Kadouri N, Kahan T, Manfredi J et al. (2015) The p53 C Terminus Controls Site-Specific DNA Binding and Promotes Structural Changes within the Central DNA Binding Domain. *Mol Cell* 57:1034–1046. doi: 10.1016/j.molcel.2015.02.015

Ledergor G, Weiner A, Zada M, Wang SY, Cohen YC, Gatt ME, Snir N, Magen H, Koren-Michowitz M, Herzog-Tzarfati K et al. (2018) Single cell dissection of plasma cell heterogeneity in symptomatic and asymptomatic myeloma. *Nat Med* 24:1867–1876. doi:

10.1038/s41591-018-0269-2

Lee CW, Martinez-Yamout MA, Dyson HJ and Wright PE (2010) Structure of the p53 transactivation domain in complex with the nuclear receptor coactivator binding domain of CREB binding protein. *Biochemistry* 49:9964–9971. doi: 10.1021/bi1012996

Leroy B, Anderson M and Soussi T (2014) TP53 mutations in human cancer: Database reassessment and prospects for the next decade. *Hum Mutat* 35:672–688. doi: 10.1002/humu.22552

Li Y, Gordon MW, Xu-Monette ZY, Visco C, Tzankov A, Zou D, Qiu L, Montes-Moreno S, Dybkaer K, Orazi A et al. (2013) Single nucleotide variation in the TP53 3' untranslated region in diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab-CHOP: a report from the International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program. *Blood* 121:4529–4540. doi: 10.1182/blood-2012-12-471722

Liao J-M, Cao B, Zhou X and Lu H (2014) New insights into p53 functions through its target microRNAs. *J Mol Cell Biol* 6:206–213. doi: 10.1093/jmcb/mju018

Lionetti M, Barbieri M, Manzoni M, Fabris S, Bandini C, Todoerti K, Nozza F, Rossi D, Musto P, Baldini L et al. (2016) Molecular spectrum of TP53 mutations in plasma cell dyscrasias by next generation sequencing: An Italian cohort study and overview of the literature. *Oncotarget* 7:21353–21361. doi: 10.18632/oncotarget.7241

Lode L, Eveillard M, Trichet V, Soussi T, Wulleme S, Richebourg S, Magrangeas F, Ifrah N, Campion L, Traulle C et al. (2010) Mutations in TP53 are exclusively associated with del(17p) in multiple myeloma. *Haematologica* 95:1973–1976. doi: 10.3324/haematol.2010.023697

Lohr JG, Stojanov P, Carter SL, Cruz-Gordillo P, Lawrence MS, Auclair D, Sougnez C, Knoechel B, Gould J, Saksena G et al. (2014) Widespread Genetic Heterogeneity in Multiple Myeloma: Implications for Targeted Therapy. *Cancer Cell* 25:91–101. doi: 10.1016/j.ccr.2013.12.015

Macedo GS, Araujo Vieira I, Brandalize AP, Giacomazzi J, Inez Palmero E, Volc S, Rodrigues Paixão-Côrtes V, Caleffi M, Silva Alves M, Achatz MI et al. (2016) Rare

germline variant (rs78378222) in the TP53 3' UTR: Evidence for a new mechanism of cancer predisposition in Li-Fraumeni syndrome. *Cancer Genet* 209:97–106. doi: 10.1016/j.cancergen.2015.12.012

Malkin D, Li FP, Strong LC, Fraumeni JF, Nelson CE, Kim DH, Kassel J, Gryka MA, Bischoff FZ, Tainsky MA et al. (1990) Germ line p53 mutations in a familial syndrome of breast cancer, sarcomas, and other neoplasms. *Science* (80-) 250:1233–1238. doi: 10.1126/science.1978757

Manier S, Salem KZ, Park J, Landau DA, Getz G and Ghobrial IM (2017) Genomic complexity of multiple myeloma and its clinical implications. *Nat Rev Clin Oncol* 14:100–113. doi: 10.1038/nrclinonc.2016.122

McCarthy PL, Holstein SA, Petrucci MT, Richardson PG, Hulin C, Tosi P, Bringhen S, Musto P, Anderson KC, Caillot D et al. (2017) Lenalidomide Maintenance After Autologous Stem-Cell Transplantation in Newly Diagnosed Multiple Myeloma: A Meta-Analysis. *J Clin Oncol* 35:3279–3289. doi: 10.1200/JCO.2017.72.6679

Mikhael J, Ismaila N, Cheung MC, Costello C, Dhodapkar M V., Kumar S, Lacy M, Lipe B, Little RF, Nikonova A et al. (2019) Treatment of Multiple Myeloma: ASCO and CCO Joint Clinical Practice Guideline. *J Clin Oncol* 37:1228–1263. doi: 10.1200/JCO.18.02096

Morgan GJ, Johnson DC, Weinhold N, Goldschmidt H, Landgren O, Lynch HT, Hemminki K and Houlston RS (2014) Inherited genetic susceptibility to multiple myeloma. *Leukemia* 28:518–524. doi: 10.1038/leu.2013.344

Murray MY, Rushworth SA, Zaitseva L, Bowles KM and MacEwan DJ (2013) Attenuation of dexamethasone-induced cell death in multiple myeloma is mediated by miR-125b expression. *Cell Cycle* 12:2144–2153. doi: 10.4161/cc.25251

Naslavsky MS, Yamamoto GL, de Almeida TF, Ezquina SAM, Sunaga DY, Pho N, Bozoklian D, Sandberg TOM, Brito LA, Lazar M et al. (2017) Exomic variants of an elderly cohort of Brazilians in the ABraOM database. *Hum Mutat* 38:751–763. doi: 10.1002/humu.23220

Naymagon L and Abdul-Hay M (2016) Novel agents in the treatment of multiple

myeloma: A review about the future. *J Hematol Oncol*. doi: 10.1186/s13045-016-0282-1

Olivier M, Goldgar DE, Sodha N, Ohgaki H, Kleihues P, Hainaut P and Eeles RA (2003) Li-Fraumeni and related syndromes: correlation between tumor type, family structure, and TP53 genotype. *Cancer Res* 63:6643–50.

Olivier M, Hollstein M and Hainaut P (2010) TP53 mutations in human cancers: origins, consequences, and clinical use. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. doi: 10.1101/cshperspect.a001008

Palumbo A, Avet-Loiseau H, Oliva S, Lokhorst HM, Goldschmidt H, Rosinol L, Richardson P, Caltagirone S, Lahuerta JJ, Facon T et al. (2015) Revised International Staging System for Multiple Myeloma: A Report From International Myeloma Working Group. *Journal of Clinical Oncology* 33:2863–2869. doi: 10.1200/JCO.2015.61.2267

Palumbo A, Facon T, Sonneveld P, Bladè J, Offidani M, Gay F, Moreau P, Waage A, Spencer A, Ludwig H et al. (2008) Thalidomide for treatment of multiple myeloma: 10 years later. *Blood* 111:3968–3977. doi: 10.1182/blood-2007-10-117457

Palumbo A and Palladino C (2012) Venous and arterial thrombotic risks with thalidomide: evidence and practical guidance. *Therapeutic Advances in Drug Safety* 3:255–266. doi: 10.1177/2042098612452291

Pavletich NP, Chambers KA and Pabo CO (1993) The DNA-binding domain of p53 contains the four conserved regions and the major mutation hot spots. *Genes Dev* 7:2556–2564. doi: 10.1101/gad.7.12b.2556

Pawlyn C and Davies FE (2019) Toward personalized treatment in multiple myeloma based on molecular characteristics. *Blood*. doi: 10.1182/blood-2018-09-825331

Pawlyn C and Morgan GJ (2017) Evolutionary biology of high-risk multiple myeloma. *Nat Rev Cancer* 17:543–556. doi: 10.1038/nrc.2017.63

Pertesi M, Went M, Hansson M, Hemminki K, Houlston RS and Nilsson B (2020) Genetic predisposition for multiple myeloma. *Leukemia* 34:697–708. doi: 10.1038/s41375-019-0703-6

Plano F, Corsale AM, Gigliotta E, Camarda G, Vullo C, Di Simone M, Shekarkar Azgomi M, Speciale M, Carlisi M, Caccamo N et al. (2023) Monoclonal Gammopathies and the Bone Marrow Microenvironment: From Bench to Bedside and Then Back Again. *Hematol Rep* 15:23–49. doi: 10.3390/hematolrep15010004

Rafnar T, Gunnarsson B, Stefansson OA, Sulem P, Ingason A, Frigge ML, Stefansdottir L, Sigurdsson JK, Tragante V, Steinthorsdottir V et al. (2018) Variants associating with uterine leiomyoma highlight genetic background shared by various cancers and hormone-related traits. *Nat Commun*. doi: 10.1038/s41467-018-05428-6

Rajkumar SV (2016) Updated Diagnostic Criteria and Staging System for Multiple Myeloma. *Am Soc Clin Oncol Educ B* e418–e423. doi: 10.1200/edbk_159009

Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, Blade J, Merlini G, Mateos MV, Kumar S, Hillengass J, Kastritis E, Richardson P et al. (2014) International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol* 15:e538–e548. doi: 10.1016/S1470-2045(14)70442-5

Robles AI, Jen J and Harris CC (2016) Clinical Outcomes of TP53 Mutations in Cancers. *Cold Spring Harb Perspect Med* 6:a026294. doi: 10.1101/cshperspect.a026294

Sawyer JR (2011) The prognostic significance of cytogenetics and molecular profiling in multiple myeloma. *Cancer Genet* 204:3–12. doi: 10.1016/j.cancergencyto.2010.11.002

Shin SY, Eom HS, Sohn JY, Lee H, Park B, Joo J, Jang JH, Lee MN, Kim JK and Kong SY (2017) Prognostic Implications of Monosomies in Patients With Multiple Myeloma. *Clin Lymphoma, Myeloma Leuk* 17:159-164.e2. doi: 10.1016/j.clml.2016.12.001

Siegel RL, Miller KD and Jemal A (2020) Cancer statistics, 2020. *CA Cancer J Clin* 70:7–30. doi: 10.3322/caac.21590

Soekojo CY and Chng WJ (2022) Treatment horizon in multiple myeloma. *Eur J Haematol* 109:425–440. doi: 10.1111/ejh.13840

Soliman AM, Das S and Teoh SL (2021) Next-generation biomarkers in multiple myeloma: Understanding the molecular basis for potential use in diagnosis and prognosis.

Int J Mol Sci. doi: 10.3390/ijms22147470

Sonneveld P, Goldschmidt H, Rosiñol L, Bladé J, Lahuerta JJ, Cavo M, Tacchetti P, Zamagni E, Attal M, Lokhorst HM et al. (2013) Bortezomib-Based Versus Nonbortezomib-Based Induction Treatment Before Autologous Stem-Cell Transplantation in Patients With Previously Untreated Multiple Myeloma: A Meta-Analysis of Phase III Randomized, Controlled Trials. *J Clin Oncol* 31:3279–3287. doi: 10.1200/JCO.2012.48.4626

Stacey SN, Sulem P, Jonasdottir A, Masson G, Gudmundsson J, Gudbjartsson DF, Magnusson OT, Gudjonsson SA, Sigurgeirsson B, Thorisdottir K et al. (2011) A germline variant in the TP53 polyadenylation signal confers cancer susceptibility. *Nat Genet* 43:1098–1103. doi: 10.1038/ng.926

Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A and Bray F (2021) Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin* 71:209–249. doi: 10.3322/caac.21660

Suzuki HI, Yamagata K, Sugimoto K, Iwamoto T, Kato S and Miyazono K (2009) Modulation of microRNA processing by p53. *Nature* 460:529–533. doi: 10.1038/nature08199

Svoronos AA, Engelman DM and Slack FJ (2016) OncomiR or Tumor Suppressor? The Duplicity of MicroRNAs in Cancer. *Cancer Res* 76:3666–3670. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-16-0359

Swaminathan M, Bannon SA, Routbort M, Naqvi K, Kadia TM, Takahashi K, Alvarado Y, Ravandi-Kashani F, Patel KP, Champlin R et al. (2019) Hematologic malignancies and Li–Fraumeni syndrome. *Mol Case Stud* 5:a003210. doi: 10.1101/mcs.a003210

Varma A, Sui D, Milton DR, Tang G, Saini N, Hasan O, Mukherjee A, Joseph JJ, Bashir Q, Rondon G et al. (2020) Outcome of Multiple Myeloma with Chromosome 1q Gain and 1p Deletion after Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Propensity Score Matched Analysis. *Biol Blood Marrow Transplant* 26:665–671. doi:

10.1016/j.bbmt.2019.12.726

Voropaeva EN, Orlov YL, Pospelova TI, Gurageva AA, Voevoda MI, Maksimov VN, Seregina OB and Churkina MI (2020) The rs78378222 prevalence and the copy loss of the protective allele A in the tumor tissue of diffuse large B-cell lymphoma. *PeerJ*. doi: 10.7717/peerj.10335

Wade M, Wang Y V. and Wahl GM (2010) The p53 orchestra: Mdm2 and Mdmx set the tone. *Trends Cell Biol* 20:299–309. doi: 10.1016/j.tcb.2010.01.009

Wallington-Beddoe CT and Mynott RL (2021) Prognostic and predictive biomarker developments in multiple myeloma. *J Hematol Oncol* 14:151. doi: 10.1186/s13045-021-01162-7

Wang Y, Wu XS, He J, Ma T, Lei W and Shen ZY (2016) A novel TP53 variant (rs78378222 A > C) in the polyadenylation signal is associated with increased cancer susceptibility: Evidence from a meta-analysis. *Oncotarget* 7:32854–32865. doi: 10.18632/oncotarget.9056

Willems PM, Kuypers AW, Meijerink JP, Holdrinet RS and Mensink EJ (1993) Sporadic mutations of the p53 gene in multiple myeloma and no evidence for germline mutations in three familial multiple myeloma pedigrees. *Leukemia* 7:986–91.

Yuan WX, Gui YX, Na WN, Chao J and Yang X (2016) Circulating microRNA-125b and microRNA-130a expression profiles predict chemoresistance to R-CHOP in diffuse large B-cell lymphoma patients. *Oncol Lett* 11:423–432. doi: 10.3892/ol.2015.3866

Zenz T, Kröber A, Scherer K, Häbe S, Bühler A, Benner A, Denzel T, Winkler D, Edelmann J, Schwänen C et al. (2008) Monoallelic TP53 inactivation is associated with poor prognosis in chronic lymphocytic leukemia: results from a detailed genetic characterization with long-term follow-up. *Blood* 112:3322–3329. doi: 10.1182/blood-2008-04-154070

Zhang P, Kitchen-Smith I, Xiong L, Stracquadanio G, Brown K, Richter PH, Wallace MD, Bond E, Sahgal N, Moore S et al. (2021) Germline and somatic genetic variants in the p53 pathway interact to affect cancer risk, progression, and drug response. *Cancer Res*

81:1667–1680. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-20-0177

Zhao Y, Li X and Zhu S (2016) rs78378222 polymorphism in the 3'-untranslated region of TP53 contributes to development of age-associated cataracts by modifying microRNA-125b-induced apoptosis of lens epithelial cells. *Molecular Medicine Reports* 14:2305–2310. doi: 10.3892/mmr.2016.5465

Zhou L, Yuan Q and Yang M (2012) A functional germline variant in the P53 polyadenylation signal and risk of esophageal squamous cell carcinoma. *Gene* 506:295–297. doi: 10.1016/j.gene.2012.07.007