



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL
E SAÚDE PÚBLICA**

RAFAEL SOUTO

**Análise Molecular e de Qualidade de Vida dos Pacientes e
Famíliares com Xeroderma Pigmentosum, Residentes em Goiás,
Brasil**

Goiânia
2016



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES

E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a [Lei 9.610/98](#), o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

1. Identificação do material bibliográfico

Dissertação Tese Outro*: _____

*No caso de mestrado/doutorado profissional, indique o formato do Trabalho de Conclusão de Curso, permitido no documento de área, correspondente ao programa de pós-graduação, orientado pela legislação vigente da CAPES.

Exemplos: Estudo de caso ou Revisão sistemática ou outros formatos.

2. Nome completo do autor

RAFAEL SOUTO

3. Título do trabalho

Análise molecular e de qualidade de vida dos pacientes e familiares com Xeroderma Pigmentosum residentes em Goiás, Brasil.

4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:

a) consulta ao(à) autor(a) e ao(à) orientador(a);

b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação.

O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;

Termo de Ciência e de Autorização (TECA) IPTSP 3191810

SEI 23070.050735/2022-70 / pg. 1

- Publicação da dissertação/tese em livro.

Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.



Documento assinado eletronicamente por **João Bosco Siqueira Júnior, Professor do Magistério Superior**, em 15/09/2022, às 14:21, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rafael Souto, Usuário Externo**, em 19/09/2022, às 08:13, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3191810** e o código CRC **BF7A9168**.

RAFAEL SOUTO

Análise Molecular e de Qualidade de Vida dos Pacientes e Familiares com Xeroderma Pigmentosum, Residentes em Goiás, Brasil

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás para obtenção do Título de Doutor em Medicina Tropical e Saúde Pública na área de concentração Epidemiologia.

Orientador: Carlos Frederico Martins Menck

Co-orientador: João Bosco Siqueira Júnior

Goiânia
2016

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Souto, Rafael

Análise Molecular e de Qualidade de Vida dos Pacientes e Familiares com Xeroderma Pigmentosum, Residentes em Goiás, Brasil [manuscrito] / Rafael Souto, João Bosco Siqueira Júnior, Carlos Frederico Martins Menck. - 2016.

XIII, 106 f.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Frederico Martins Menck ; co orientador Dr. João Bosco Siqueira Júnior.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP), Programa de Pós Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública, Goiânia, 2016.

Anexos.

Inclui siglas, abreviaturas, gráfico, tabelas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. Xeroderma Pigmentosum. 2. Xeroderma Pigmentosum Variant Type. 3. DNA-Repair - deficiency disorders. I. Júnior, João Bosco Siqueira . II. Menck, Carlos Frederico Martins . III. Menck , Carlos Frederico Martins , orient. IV. Júnior, João Bosco Siqueira , co-orient. V. Título.

CDU 614



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA
Rua 235, s/n – Setor Universitário - Goiânia/GO – CEP: 74.605-050
Fones: (62) 3209.6362 - 3209.6102 – Fax: (62) 3209.6363 - e-mail: ppgmtsp.ufg@gmail.com

ATA DA REUNIÃO DA BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE RAFAEL SOUTO - Aos sete dias do mês de março do ano de 2016 (07/03/2016), às 09:00 horas, reuniram-se os componentes da Banca Examinadora: Profs. Drs. CARLOS FREDERICO MARTINS MENCK, ELISÂNGELA DE PAULA SILVEIRA LACERDA, SHEILA ARAÚJO TELES, ENEIDA FRANCO VÊNCIO e VIRGINIA VISCONDE BRASIL, para, sob a presidência da primeira, e em sessão pública realizada no INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA, procederem à avaliação da defesa de tese intitulada: “ANÁLISE MOLECULAR E DE QUALIDADE DE VIDA DOS PACIENTES E FAMILIARES COM XERODERMA PIGMENTOSUM RESIDENTES EM GOIÁS, BRASIL”, em nível de DOUTORADO, área de concentração em EPIDEMIOLOGIA, de autoria de RAFAEL SOUTO, discente do PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA, da Universidade Federal de Goiás. A sessão foi aberta pelo orientador do discente, Prof. Dr. CARLOS FREDERICO MARTINS MENCK, que fez a apresentação formal dos membros da Banca e orientou o Candidato sobre como utilizar o tempo durante a apresentação de seu trabalho. A palavra a seguir, foi concedida ao autor da tese que, em 30 minutos procedeu à apresentação de seu trabalho. Terminada a apresentação, cada membro da Banca arguiu o Candidato, tendo-se adotado o sistema de diálogo seqüencial. Terminada a fase de arguição, procedeu-se à avaliação da defesa. Tendo-se em vista o que consta na Resolução nº. 1081/2012 do Conselho de Ensino, Pesquisa, Extensão e Cultura (CEPEC), que regulamenta o Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública a Banca, em sessão secreta, expressou seu Julgamento, considerando o candidato **Aprovado** ou **Reprovado**:

Banca Examinadora

Prof. Dr. Carlos Frederico Martins Menck
Prof. Dra. Elisângela de Paula Silveira Lacerda
Prof. Dra. Sheila Araújo Teles
Prof. Dra. Eneida Franco Vêncio
Prof. Dra. Virginia Visconde Brasil

Aprovado / Reprovado

Aprovado
Aprovado
Aprovado
Aprovado

Em face do resultado obtido, a Banca Examinadora considerou o candidato Habilitado (Habilitado ou não Habilitado), cumprindo todos os requisitos para fins de obtenção do título de DOUTOR EM MEDICINA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA, na área de concentração em EPIDEMIOLOGIA, pela Universidade Federal de Goiás. Cumpridas as formalidades de pauta, às 13h00min, a presidência da mesa encerrou esta sessão de defesa de tese e para constar eu, KARINY VIEIRA SOARES E SILVA, secretária do Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical lavrei a presente Ata que depois de lida e aprovada, será assinada pelos membros da Banca Examinadora e por mim em duas vias de igual teor. A Banca Examinadora aprovou a seguinte alteração no título da Tese:

Prof. Dr. Carlos Frederico Martins Menck (USP/SP)

Prof. Dra. Elisângela de Paula Silveira Lacerda (ICB/UFG)

Prof. Dra. Sheila Araújo Teles (FEN/UFG)

Prof. Dra. Eneida Franco Vêncio (FO/UFG)

Prof. Dra. Virginia Visconde Brasil (FEN/UFG)

Secretário da Pós-Graduação:

José Clementino de Oliveira Neto
Assistente em Administração

Prof.ª Dr.ª Ana Paula Junqueira Kipnis
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação
em Medicina Tropical e Saúde Pública
IPTSP / UFG

**Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública
da Universidade Federal de Goiás**

BANCA EXAMINADORA DA TESE DE DOUTORADO

Aluno (a): Rafael Souto

Orientador (a): Carlos Frederico Martins Menck

Co-orientador (a): João Bosco Siqueira Júnior

Membros:

1. Carlos Frederico Martins Menck

2. Elisângela de Paula Silveira Lacerda

3. Eneida Franco Vêncio

4. Sheila Araújo Teles

5. Virginia Visconde Brasil

Data: 07/03/2016

Dedico este trabalho à minha família, em especial, minha esposa Renata C. F. Souto e minha filha Giovana Ferreira Souto, sempre presentes com muito amor e alegria.

Aos meus pais, Maria Abadia e Antônio Souto; aos meus irmãos e cunhadas, Fernando Souto e Débora Oliveira; Flávio Souto e Gabriela Prates; minhas sobrinhas, Beatriz Souto, Letícia Souto, Isabela Souto e Alice Souto por me fazer mais feliz e acreditarem em mim em todos os momentos.

Aos meus sogros, Marcos Ferreira e Jane Carneiro; meus cunhados, John Ferreira e Max Ferreira pelo carinho e cuidado com minha família.

Aos amigos, Welder Jorge, Fabiano Borges, que mesmo em passagens difíceis de minha vida sempre estenderam as mãos em um gesto de apoio e carinho.

AGRADECIMENTOS

À minha família, pessoas mais presentes em minha vida, meu norte e, muitas das vezes, minha inspiração. Em especial, aos meus pais, que me ensinaram a não temer desafios e a superar os obstáculos com humildade.

Aos Professores Carlos Frederico Martins Menck e João Bosco Siqueira Júnior, por serem visionários, por acreditarem em meu potencial, por orientar-me, mesmo em uma condição diferente e, até mesmo adversa. Por terem sido amigos, orientadores em todos os momentos de dificuldades e alegrias. As disponibilidades irrestritas, suas formas exigentes, críticas e criativas, dando norte a este trabalho e facilitando o alcance de meus objetivos, meus sinceros agradecimentos.

A Dermatologista Sulamita Costa Chaibub, que tanto ajudou com seus conhecimentos aplicáveis à prática clínica, meus agradecimentos.

A Professora Eneida Franco Vêncio, pelo carinho em disponibilizar seu laboratório (Patologia-Molecular/UFG) para o desenvolvimento do trabalho, sua objetividade, compreensão e orientações.

A Professora Vera Saddi, pelos anos de convivência, pelo carinho em disponibilizar seu Laboratório de Oncogenética do Hospital Araújo Jorge/HAJ, e, suas importantes considerações.

Aos pacientes, na pessoa de Gleice Machado, presidente da Associação Brasileira de Xeroderma Pigmentosum (ABRAXP), pessoa simples, humilde e com capacidade de luta e superação sobrenatural.

Aos meus colegas do Laboratório de Reparo de DNA da Universidade de São Paulo/USP (Lígia, Juliana, Vitor, Letícia, Natália, Débora, Alexandre, Camila, Annabel, Veridiana, Satoru, Huma, Daniela, Carolina, Marinalva, Davi, Nilmara, Alessandra), da Patologia da Universidade Federal de Goiás/UFG (Íria Márcia), do Centro de Excelência em Ensino Pesquisas e Projetos – Leide das Neves Ferreira, Ana Lúcia, Carlos Divino, Carlos Mussi, Helen de Lima, Jairo Figueiredo, Juliana Moraes, Patrícia Alencar, Polyanna Mandacarú, Sueli e Zacharias Calil, o meu carinho.

SUMÁRIO

FIGURA, QUADROS E ANEXO	x
SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS	xii
RESUMO	xiii
ABSTRACT	xiii
1 INTRODUÇÃO / REVISÃO DA LITERATURA	14
1.1 Ultravioleta e os danos no DNA	14
1.2 Distribuição Epidemiológica de XP.....	16
1.3 Quadro clínico do paciente XP	17
1.4 Aspectos Genéticos do XP.....	19
1.4.1 Genética Clássica.....	19
1.4.2 Genética Molecular e o Reparo de DNA frente a luz UV	21
1.4.3 Xeroderma Pigmentosum Variante.....	23
1.5 Qualidade de Vida.....	26
1.5.1 Descrição da Qualidade de Vida	Erro! Indicador não definido. 7
2 JUSTIFICATIVA	30
2.1 A comunidade de Araras, Faina, Goiás: um caso raro.....	30
2.2 Relevância.....	30
2.3 Viabilidade.....	32
3 OBJETIVOS	33
3.1 Geral	33
3.2 Específicos	33
4 MÉTODO(S)	34
4.1 População do Estudo	34
4.2 Coleta de dados e material biológico	34
4.3 Qualidade de Vida (WHOQOL - Bref)	35
4.4 Genotipagem por Real Time PCR (RT-qPCR).....	35
4.5 Análise Estatística	36
5 ARTIGOS	38
Artigo 1 - Distribuição dos alelos mutados em pacientes e familiares com suspeita clínica de xeroderma pigmentosum, Goiás, Brasil	39
Artigo 2 - Qualidade de vida dos pacientes com xeroderma pigmentosum variante	58
6 DISCUSSÃO	74
7 CONCLUSÕES	77
REFERÊNCIAS	79
ANEXO	87

FIGURA, QUADROS E ANEXO

Figura 1 – Ilustração de uma herança genética relacionada a um padrão autossômico recessivo. Nesse caso, apenas indivíduos recessivos apresentam a doença, ou seja, em homozigose.....	20
Figura 2 – Via de Reparo por Excisão de Nucleotídeos.....	22
Figura 3 – Estrutura do cromossomo 6 com identificação do gene POLH, composto por introns e exons, RNAm e a enzima DNA Polimerase η	24
Figura 4 – Modelo para TLS em células de mamíferos.....	25
Quadro 1 – Os Genes do Xeroderma Pigmentosum.....	23
Quadro 2 – Descrição das Sondas e primers utilizadas na detecção de pacientes com suspeita de Xeroderma Pigmentosum Variante em Faina, Araras, Goiás, Brasil.....	36
Anexo 1 – Parecer Consubstanciado do Projeto.....	87
Anexo 2 – Termo de consentimento livre e esclarecido.....	88
Anexo 3 – Questionário aplicado aos participantes do estudo.....	91
Anexo 4 – A genetic cluster of patients with variant xeroderma pigmentosum with two different founder mutations.....	106

SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

ABRAXP: Associação Brasileira de Xeroderma Pigmentosum	OMS: Organização Mundial de Saúde
ACCG: Associação de Combate ao Câncer em Goiás	PCR: Reação em Cadeia da Polimerase
BER: Reparo por Excisão de Base	POLH: Gene da DNA Polimerase eta
CEEPP-LNF: Centro de Excelência em Ensino, Pesquisas e Projetos – Leide das Neves Ferreira	PUC-GO: Pontifícia Universidade Católica de Goiás
CEP: Comitê de Ética em Pesquisa	QV: Qualidade de Vida
CNPq: Conselho Nacional de Desenvolvidmentos Científico e Tecnológico	RNA: Ácido Ribonucleico
CPD: Dímeros de Pirimidina Ciclobutano	RT-qPCR: PCR em Tempo Real
EDTA: Ácido Etilenodiaminotetraacético	SPSS: <i>Statistical Package Social Sciences</i>
EROS: Espécies Reativas de Oxigênio	TCLE: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
FAPESP: Fundação de Amparo a Pesquisa de São Paulo	TCR: Transcrição Acoplada ao Reparo
FPS: Fator de Proteção Solar	TFIIH: Complexo protéico auxiliar na transcrição e no reparo de DNA
GGR: Reparo Global do Genoma	TLS: Síntese de Translesão
HGG: Hospital Geral de Goiânia	UDS: <i>Unscheduled DNA Synthesis</i>
IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística	UV: Ultravioleta
IBM: <i>International Business Machines</i>	UV-A: Ultravioleta A
IC: Intervalo de Confiança	UV-A2: Ultravioleta A2
NER: Reparo por Excisão de Nucleotídeos	UV-B: Ultravioleta B
	WHOQOL: <i>World Health Organization Quality of Life</i>
	XP: Xeroderma Pigmentosum
	XPV: Xeroderma Pigmentosum Variante

RESUMO

A Xeroderma Pigmentosum (XP) Variante é uma doença autossômica recessiva que envolve mutações no gene *POLH*. O trabalho teve por objetivo caracterizar a distribuição dos alelos mutados por meio da *Real Time PCR (RT-qPCR)* em pacientes e familiares com suspeita clínica de XP, residentes em Araras/Faina, Estado de Goiás. Adicionalmente, avaliar a qualidade de vida por meio do WHOQOL-Bref. Nessa comunidade, a causa do aumento na incidência de cânceres esta diretamente associadas a mutações no gene *POLH*, que codifica a DNA polimerase eta ou XPV, sendo identificadas 2 mutações distintas (intron 6 e exon 8). Além disso, em Trindade foi identificada outra mutação no mesmo gene, no intron 10. As análises moleculares por RT-qPCR de 125 indivíduos buscaram identificar a distribuição de alelos mutados, que podem resultar na doença e impactar na qualidade de vida. Destes, 29 foram diagnosticados clinicamente como afetados pela síndrome XP, sendo que 18 no povoado de Araras/Faina e, 11 provenientes de outras localidades do Estado de Goiás. No povoado de Araras/Faina com 114 indivíduos analisados foram encontrados 12 pacientes homozigotos para o alelo mutado no início do intron 6 (XPV 6/6), 1 homozigoto para o alelo mutado no exon 8 (XPV8/8) e 5 heterozigotos compostos para os dois alelos (XPV 6/8). Além disso, 36 indivíduos foram identificados como portadores (heterozigotos) para mutação no intron 6 (XPV 6/selvagem), 12 portadores para mutação no exon 8 (XPV 8/selvagem) e 48 participantes (selvagem/selvagem) para os dois alelos. No estudo de 11 pacientes clinicamente afetados e residentes em outras regiões do Estado de Goiás, 2 foram positivos para XPV com mutações no intron 10 (XPV 10/10) e os 9 foram negativos para os três alelos identificados no gene XPV. Na determinação da Qualidade de Vida obteve-se scores relativamente altos quando comparado a trabalhos de outros grupos que estudam doenças raras a exemplo da Síndrome de Tourette, doenças de Wilson's e Talassemia Maior. Na comparação por meio do Teste t entre os scores de QV dos doentes pela XPV e não doentes foi obtido um $p \leq 0,05$ para todos os domínios do WHOQOL-Bref, demonstrando que a XPV impacta na qualidade de vida destes afetado. Contudo, mesmo em uma análise mais estratificada, a comparação entre os scores de QV e os genótipos para XPV, obteve-se um $p \leq 0,05$ para os domínios Físico e Meio Ambiente. Sendo assim, acreditamos que os testes moleculares vêm desvendando os casos de XP que estavam subnotificados demonstrando as reais frequências da síndrome no Estado de Goiás e, além disso, a medida da percepção da qualidade de vida vem demonstrando o impacto que estas mutações promovem nos afetados pela XPV.

ABSTRACT

Xeroderma pigmentosum (XP) variant is an autosomal recessive disease that involves changes in *POLH*. The study aimed to characterize the distribution of alleles mutated by Real Time PCR (RT-qPCR) in patients and families with clinical suspicion of XP, residents in Araras/Faina, State of Goiás. Additionally, we also, planned to evaluate the quality of life (QoL) by WHOQOL-Bref. In this community, the skin cancer incidence, due to this syndrome, is caused by mutation in the *POLH* gene, which encodes for DNA, polymerase eta, and two distinct mutations were detected, at the intron 6 e exon 8. Moreover, at Trindade a different mutation was found in the same gene (intron 10). Molecular analysis by Real Time PCR (RT-qPCR) o 125 individuals attempted to identify the mutated alleles in *POLH*, which can result in disease and impact on quality of life. Of these, 29 clinically diagnosed as affected by XP syndrome, and 18 in the community of Araras/Faina and 11 are from other Goiás State locations. In Araras/Faina, of the 114 individuals analyzed, 12 were homozygous for the mutated allele at the beginning of intron 6 (XPV 6/6), one homozygous for the mutated allele at exon 8 (XPV8/8) and 5 are compound heterozygous for compounds two alleles (XPV 6/8). In addition, 36 patients were identified as carrying (as heterozygous) the mutation at intron 6 (XPV 6/wild-tipe) 12 carriers for mutation at exon 8 (8 XPV/wild-type) and 48 participants were wild type for the two alleles (XPV wild type/wild). In the study of 11 clinically affected patients and residents in other regions of the state of Goiás, 2 were positive for XPV with mutations in intron 10 (XPV 10/10) and 9 were negative for the three alleles identified in XPV. The Quality of Life evaluation gave relatively high scores when compared to the work of other groups that studied the Tourette syndrome, Wilson's disease and Thalassemia Major. In comparison using the Student t test between QoL scores of patients by XPV and not sick, it was obtained a $p \leq 0.05$ for all domains of the WHOQOL-Bref, demonstrating that the XPV impacts the quality of life of those affected. However, even in a more stratified analysis , the comparison between QoL scores and genotypes for XPV, obtained a $p \leq 0.05$ for the Physical and Environmental domains. Thus, we believe that molecular tests come uncovering cases of XP that were underreported showing the actual frequency of the syndrome in the state of Goiás, in addition, the measure of the perceived quality of life is showing the impact that these mutations promote affected in the XPV.

1 INTRODUÇÃO / REVISÃO DA LITERATURA

A síndrome Xeroderma Pigmentosum (XP) foi descrita em 1874 por *Moritz Kaposi e Ferdinand Ritter von Hebra* (CLEAVER, 2008b). A doença recebeu este nome em decorrência do aspecto da pele dos pacientes com XP (do latim: *xero* = seca; *derma* = pele; *pigmentosum* = pigmentada), entretanto, a identificação da causa retratada pela associação entre a deficiência do sistema de reparo do ácido desoxirribonucléico (DNA) e os danos provocados pela exposição à luz ultravioleta (UV) foram descritos somente em 1968 por James Cleaver por meio de estudos utilizando a metodologia conhecida como síntese de DNA não programada (UDS, do inglês - *Unscheduled DNA Synthesis*) [CLEAVER, 1968a; CLEAVER, 2008b].

No Distrito de Araras, na Cidade de Faina/Goiás, a 242 km da Capital Goiânia, uma comunidade formada por cerca de 200 famílias, foram identificadas 18 pessoas com hiperpigmentação, cânceres precoces e recorrentes de pele e lesões oculares evidentes. Os doentes relataram casamentos consanguíneos com história de doença de pele na família, além disso, discorreram sobre intensa exposição ao sol. Estas características descritas foram vistas *in loco* e também relatadas por CHAIBUB (2011), apontaram clinicamente para XP.

1.1 Ultravioleta e os danos no DNA

O genoma humano é constantemente exposto a agentes danosos de origem endógena e exógena (agentes químicos, físicos e biológicos) que são capazes de causar lesões ao DNA. Estas lesões podem conduzir a mutações que estão associadas à senescência celular, ao desenvolvimento de cânceres e até à morte (LEWIN, 2000; SUGASAWA 2008; LIMA-BESSA et al., 2009; MENCK; MUNFORD, 2014).

Em se tratando de agente físico associado à agressão ao genoma humano, em especial, destacam-se os componentes das radiações ultravioletas (UV) da luz solar. Este tipo de radiação está contido na faixa de luz com comprimento de onda abaixo do espectro de luz visível sendo classificada como UV-A (315-400 nm), UV-B (280-315 nm) e UV-C (100-280 nm) [LIMA-BESSA et al., 2008; SUGASAWA 2008; LIMA-BESSA et al., 2009].

A principal fonte de radiação UV é a luz solar, e apenas os comprimentos de ondas mais longos, UV-A e parte de UV-B conseguem ultrapassar a camada de ozônio e

atingir a superfície terrestre. As radiações UV solares são um dos mais importantes agentes mutagênicos ambientais aos quais a população humana está exposta (MENEHINI, 1976; LIMA-BESSA et al., 2008).

A natureza química e a eficiência de formação de lesões no DNA das células da pele, bases da mutagênese nestas células, dependem fortemente do comprimento de onda dos fótons incidentes neste órgão. Embora os comprimentos de onda da luz UV-B sejam conhecidos como os mais carcinogênicos, cujas células da pele estão expostas, os comprimentos de onda da luz UV-A também exercem um papel importante em termos de carcinogênese induzida pela luz solar [MENEHINI, 1976; LIMA-BESSA et al., 2008; MCMILLAN et al., 2008; LIMA-BESSA et al., 2009; SUGASAWA, 2008; SCHUCH et al., 2009; SCHUCH & MENCK, 2010].

A ação genotóxica das radiações UV-B deve-se principalmente à formação fotoquímica de dois tipos específicos de fotoprodutos de DNA: os dímeros de pirimidina ciclobutano (CPDs) e os 6-4 pirimidina-pirimidona fotoprodutos (6-4PPs). Por outro lado, a genotoxicidade das radiações UV-A em células de mamíferos depende de seus comprimentos de onda, sendo que os menores (315-340 nm, conhecida como região UV-A2) são os mais lesivos ao material genético. Os efeitos induzidos por esses fótons ocorrem principalmente pela mesma reação fotoquímica direta nas bases de DNA observada com a radiação UV-B, gerando os mesmos fotoprodutos, embora numa eficiência consideravelmente menor [LIMA-BESSA et al., 2008; SUGASAWA 2008 LIMA-BESSA et al., 2009; MOURET et al., 2010; SCHUCH & MENCK, 2010].

É importante ressaltar que os danos no DNA induzidos por mecanismos indiretos também são verificados, principalmente devido à formação de espécies reativas de oxigênio (EROs), por meio da fotossensibilização de outras moléculas biológicas além do próprio DNA, especialmente pela ação dos maiores comprimentos de onda da radiação UVA, região conhecida como UV-A1 (340-400 nm). Porém, a relevância biológica dos danos causados por oxidação, gerados pela radiação UV-A, tem sido base de muita controvérsia, havendo evidências de ação de lesões provocadas por EROs, enquanto outros trabalhos mostram uma maior contribuição de CPDs (LIMA-BESSA et al., 2008; SUGASAWA 2008; LIMA-BESSA et al., 2009; SCHUCH & MENCK, 2010).

Em células provenientes de pacientes XP, muito provavelmente as lesões diretas são as mais graves, pois, as deficiências dessas células resultam na impossibilidade de remoção dessas lesões. Atualmente, identificou-se que na maior

parte dos indivíduos com XP (dependendo do gene afetado), tanto lesões CPD como 6-4PP são importantes na indução da morte celular, sendo distinto nos indivíduos saudáveis, onde apenas CPDs são lesões que induzem morte celular (LIMA-BESSA et al., 2008; BATISTA et al., 2009).

Frente ao alto nível de insolação no Brasil, sobretudo na região Centro - Oeste, onde na maior parte do ano é ensolarada, há uma grande incidência de luz UV-B (SCHUCH et al., 2012). Medidas preliminares da incidência de luz UV-A e UV-B na comunidade de Araras confirmam estes altos níveis de luz UV, aos quais estão submetidos aqueles pacientes. As determinações específicas de variações na luz solar incidente, associadas a incidências de lesões na molécula de DNA (CPDs, 6-4PPs e danos provocados por EROS), propiciam o melhor entendimento da ação da luz solar nos pacientes e, também, na tentativa de buscar melhores formas de proteção (LIMA-BESSA et al., 2008; MCMILLAN et al., 2008; CADET et al., 2010).

1.2 Distribuição Epidemiológica de XP

A incidência de XP na população mundial está entre dois a quatro casos por milhão. O XP tem sido encontrado em todos os continentes e pode manifestar-se nos diversos grupos raciais, sem distinção entre os gêneros (masculino e feminino), e geralmente entre o primeiro e segundo ano de vida (CLEAVER, 2008b).

Segundo os levantamentos realizados na década de 70, sugeriu-se uma incidência nos Estados Unidos da América (EUA) de um caso em 250.000 habitantes, e no Japão, foi de um caso em 20.000 habitantes (ROBBINS et al., 1974; HIRAI, et al., 2006; LEHMANN et al., 2011).

Em estudo mais recente, realizado no ano de 2008, na parte mais ocidental da Europa, foi sugerido uma incidência de XP em torno de 2,3 por milhão de nascidos vivos (KLEIJER et al., 2008; LEHMANN et al., 2011). No entanto, no norte e leste da África, onde há altos níveis de consanguinidade, as incidências para XP são altas, tendo sido descrito um efeito fundador (SOUFIR et al., 2010).

No Brasil, os dados epidemiológicos da distribuição de XP na população são desconhecidos, porém, nos anos de 1953-1995, foram identificados 48 pacientes com relatos de XP, sendo que, em quinze desses, houve seguimento dos casos e, em oito deles conseguiu-se demonstrar a relação com a consanguinidade. Os pacientes possuíam carcinoma de células escamosas, e quatorze (14) deles carcinoma basal,

enquanto, oito possuíam tumores malignos classificados como melanoma (KRAEMER et al., 1994). Assim, de forma empírica, imagina-se que os valores da incidência no Brasil aproximam-se aos relatos apresentados nos EUA.

1.3 Quadro clínico do paciente XP

Existem diversos estudos sobre as manifestações clínicas de XP (ROBBINS et al., 1974; KRAEMER et al., 1987; LEHMANN et al., 2011). Em aproximadamente 60% dos casos, os primeiros sinais referem-se à extrema sensibilidade da pele frente a luz solar, que leva dias ou até mesmo semanas para saná-los. Nos portadores de XP as reações advindas das queimaduras pela exposição solar acontecem, em geral, nas primeiras semanas de vida e são frequentemente negligenciadas ou equivocadamente classificadas como um impetigo (BRADFORD et al., 2011).

Os outros 40% dos casos não demonstram qualquer reação à exposição a queimaduras do sol. Nestes casos a primeira manifestação que ocorre frequentemente antes de dois anos de idade, com aumento excepcional no número de lentigos (uma pequena mancha pigmentada na pele com uma borda claramente definida, cercada por pele aparentemente normal) nas áreas que foram expostas ao sol, em geral o nariz, áreas próximas ao arco do zigomático, testa e as laterais do pescoço até o queixo, a fotofobia é frequentemente presente. Na ausência de proteção solar, a pele envelhece precocemente, torna-se seca, áspera e atrofiada (ROBBINS et al., 1974; KRAEMER et al., 1987; BRADFORD et al., 2011; LEHMANN et al., 2011).

Os lentigos aumentam em número e escurecem, dificultando a distinção clínica com as verrugas seborréicas-pigmentadas. As pequenas máculas hipopigmentadas são comumente identificadas entre os lentigos e podem ser as primeiras apresentações na pele. As telangiectasias (dilatação permanente de vasos sanguíneos da pele, criando pequenas lesões vermelhas focais) podem ser característica tardia. A stucco-ceratosi (neoplasia benigna da epiderme que apresenta pápulas hiperkeratóticas arredondadas ou ovais de aspecto verrucoso facilmente removível sem sangramento) pode estar presente e é prontamente distinguível das ceratosi que surgem da exposição solar (ROBBINS et al., 1974; KRAEMER et al., 1987; BRADFORD et al., 2011; LEHMANN et al., 2011).

As mudanças na pele são resultados da exposição solar e, sobretudo, dependentes da dose de exposição à UV; aliada à ausência de rigorosa proteção solar,

essa combinação resultará nas áreas hipo e hiperpigmentadas denotando fotoenvelhecimento, lesões verrucosas, malignidade de melanócitos e queratinócitos *in situ*, e eventualmente múltiplos carcinomas de células basais e carcinomas de células invasivas e melanomas (ROBBINS et al., 1974; KRAEMER et al., 1987; BRADFORD et al., 2011).

As lesões cutâneas estão presentes nos primeiros anos de vida, podendo evoluir de forma lenta, progressiva, e estão diretamente relacionadas à exposição solar, sendo que, aos 18 meses, cerca de 50% dos indivíduos afetados apresentam algum tipo de lesão cutânea nas áreas de exposição solar, aos quatro anos, cerca de 75%, e aos 15 anos, 95%. Diante deste contexto podem aparecer os mais variados tipos de cânceres da pele, mais comumente os carcinomas basocelulares e, com menor frequência, os espinocelulares e melanomas (ROBBINS et al., 1974; KRAEMER et al., 1987; BRADFORD et al., 2011; LEHMANN et al., 2011).

Em pacientes com XP, o risco de desenvolvimento de câncer de pele não-melanoma está aumentado em cerca de 10.000 vezes, contudo, em relação aos melanomas o aumento é de 2.000 vezes em pacientes com menos de 20 anos de idade. Considerando os cânceres internos, o aumento é de 50 vezes, em especial, no sistema nervoso central. É importante ressaltar a alta frequência de tumores na cavidade oral, em particular, os carcinomas de células escamosas da língua e lábios. As anormalidades oculares são mais comuns do que as cutâneas, sendo que aproximadamente 80% dos indivíduos com XP apresentam alterações oftalmológicas que incluem fotofobia, conjuntivite, opacidade da córnea e o desenvolvimento de tumores oculares (ROBBINS et al., 1974; KRAEMER et al., 1987; BRADFORD et al., 2011; LEHMANN et al., 2011).

Cerca de 20% a 30% dos pacientes apresentam alterações neurológicas tais como microcefalia, ataxia (perda de coordenação dos movimentos musculares voluntários), diminuição ou perda dos reflexos motores, espasticidade (aumento anormal do tônus muscular que faz com que os músculos permaneçam contraídos por um período de tempo mais longo do que os músculos normais), surdez neurossensorial e retardo mental. Além dos aspectos supracitados observam-se características clínicas associadas ao envelhecimento precoce segmentado (apenas em alguns órgãos do corpo, como a pele), também é comum em pacientes XP (ROBBINS et al., 1974; KRAEMER et al., 1987; STEFANINI & KRAEMER, 2008; BRADFORD et al., 2011; LEHMANN et al., 2011).

As causas de anormalidades neurológicas ainda não estão definidas, e ainda

há uma carência de informação sobre os aspectos moleculares de sua evolução. Ao que parece, não estão associados à exposição à radiação solar (UV), e várias hipóteses sugerem que os danos oxidativos gerados no DNA pelo metabolismo normal são reparados pela via de reparo por excisão de nucleotídeos (NER) e na ausência das funções de reparo as lesões persistem e resultam na morte das células do sistema nervoso (CADET et al., 2010; LEHMANN et al., 2011).

As características clínicas são dependentes da exposição à luz solar, dos grupos de complementação (gene afetado), da precisa natureza das mutações, bem como de fatores ainda desconhecidos. Assim, é importante considerar que os aspectos clínicos estão associados tanto às alterações genéticas (grupos de complementações) apresentadas por pessoas com XP quanto pela relação desarmônica que estas estabelecem com o meio ambiente (exposição à luz solar) (CLEAVER et al., 2009; KRAEMER, 1997; KRAEMER et al., 1984; KRAEMER KH, LEE MM, 1987; PRADHAN et al., 2003). O retrato desta relação desarmônica é a diminuição na taxa de sobrevivência dos pacientes afetados pela doença, pois há indivíduos que não superam a segunda década de vida (CLEAVER et al., 2009; KRAEMER, 1997; KRAEMER et al., 1984; KRAEMER KH, LEE MM, 1987; PRADHAN et al., 2003).

1.4 Aspectos Genéticos do XP

1.4.1 Genética Clássica

Considerando os aspectos da genética clássica do XP sabe-se que o padrão de herança (transferência da informação genética para a geração seguinte) é do tipo Autossômico Recessivo com 100% de penetrância. Dizer que é autossômico significa que envolve alterações nos cromossomos não sexuais. Dizer que é recessivo significa que são necessários dois alelos com defeitos, um herdado do pai e outro da mãe para que a pessoa tenha a doença, como ilustrado na Figura 1 (BEIGUELMAN, 2008).

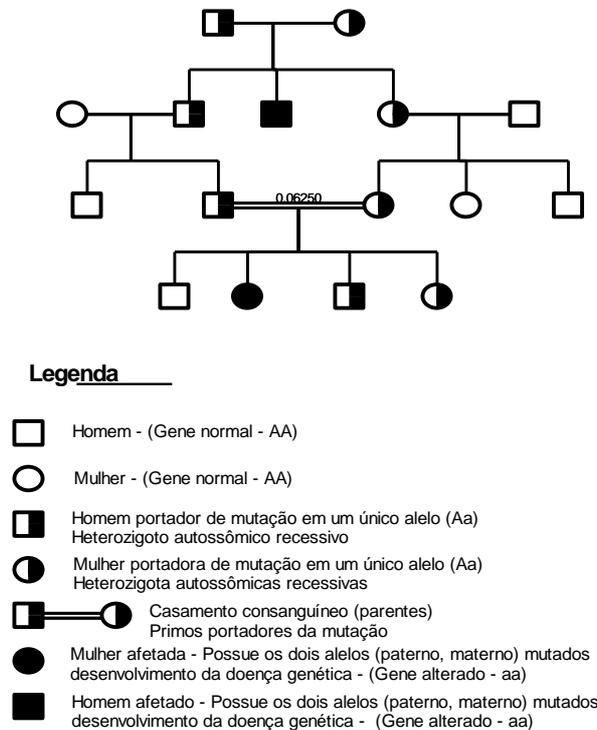


Figura 1 – Ilustração de uma herança genética relacionada a um padrão autossômico recessivo. Nesse caso, apenas indivíduos recessivos apresentam a doença, ou seja, em homozigose.

Algumas características são normalmente observadas nas doenças cujo padrão de herança é autossômico recessivo, o que se aplica inteiramente para pacientes XP.

1. A característica tende a pular gerações (aparece em uma geração e não aparece em outras);
2. Ambos os sexos são igualmente afetados;
3. Pais não afetados (portadores da mutação) podem produzir filhos afetados;
4. Dois pais portadores (mas não afetados) têm 1/4 de probabilidade de terem filhos afetados;
5. Caso um dos pais seja afetado pela doença, mas o outro não, as probabilidades de terem filhos afetados aumentam, mas não implica necessariamente que os filhos sejam afetados;
6. O traço é mais frequente em casamentos consanguíneos, por haver maior probabilidade de pessoas portadoras da doença.

No caso da doença XP, é importante destacar que pais de pacientes afetados podem apresentar apenas um dos genes alterados (ou mutados) e não apresentaram nenhuma das características clínicas de pacientes com a doença.

1.4.2 Genética Molecular e o Reparo de DNA Frente a Luz UV

O defeito molecular de pacientes XP foi descoberto em 1968 pelo americano James Cleaver, que demonstrou que as células desses pacientes eram incapazes de remover lesões no DNA causadas por luz UV. De fato, a luz solar apresenta, além da luz visível, componentes UV (UV-A e UV-B) que provocam lesões no DNA, normalmente reparadas pela maquinaria celular, porém, defeituosas nos pacientes XP (CLEAVER, 1968a).

Ao que se conhece até o momento, a doença (XP) pode resultar de mutações em um dos oito genes envolvidos no mecanismo etiológico, sendo que os produtos de sete destes genes (*XPA* a *XPG*) estão envolvidos no reparo dos fotoprodutos de DNA pela via de reparo por excisão de nucleotídeos (NER) [COSTA et al., 2003; LIMA-BESSA et al., 2009; NOUSPIKEL, 2009]. O NER é composto de forma direta e indireta por mais de 30 proteínas envolvidas no reparo de DNA e segue os cinco passos para o processamento das lesões: 1) reconhecimento da lesão; 2) abertura das hélices de DNA; 3) incisões no DNA a distância de alguns nucleotídeos da lesão e dos dois lados desta, com retirada do oligonucleotídeo contendo a alteração; 4) ressíntese de DNA e 5) ligação do novo DNA sintetizado (GROSSMAN, 1979; COSTA et al., 2003; LIMA-BESSA et al., 2009; NOUSPIKEL, 2009).

A via de reparo por NER é dividida em dois grandes ramos, o reparo acoplado à transcrição (*transcription-coupled repair* - TCR), que atua em genes ativos da transcrição e, o outro, é o reparo global do genoma (*Global Genome Repair* - GGR) que repara os danos no restante do DNA, porém, de forma mais lenta (NAEGELI, 1995; CLEAVER, 2009; LIMA-BESSA et al., 2009). As proteínas XPE e XPC são requeridas no último ramo (GGR) onde XPC forma um heterodímero com HR23B e favorece a participação de XPE em certas lesões. Assim, as demais proteínas de XP são requeridas em ambos os ramos do NER. Provavelmente como consequências disto, pacientes com defeitos nos genes XPC ou XPE em geral não apresentam reações extremas ao sol ou anormalidades neurológicas (NOUSPIKEL, 2009; MOCQUET, et al., 2010; LEHMANN et al., 2011), Figura 2.

As proteínas, produtos de *XPC* e *XPE* são necessárias para o reconhecimento dos fotoprodutos na molécula de DNA (CLEAVER, 2007). Os produtos de *XPB* e *XPD* são partes de um complexo proteico TFIIH cujo papel é abrir a estrutura

da dupla fita de DNA em torno dos locais da lesão. A proteína de XPA verifica se as proteínas do complexo TFIIH estão na posição correta e então permite a ancoragem das nucleases XPG e XPF para atuarem no corte de ambos os lados das regiões danificadas e, em seguida, removê-las para posteriormente replicar um DNA intacto (ZOTTER, et al., 2006; BARTELS & LAMBERT, 2007), Figura 2.

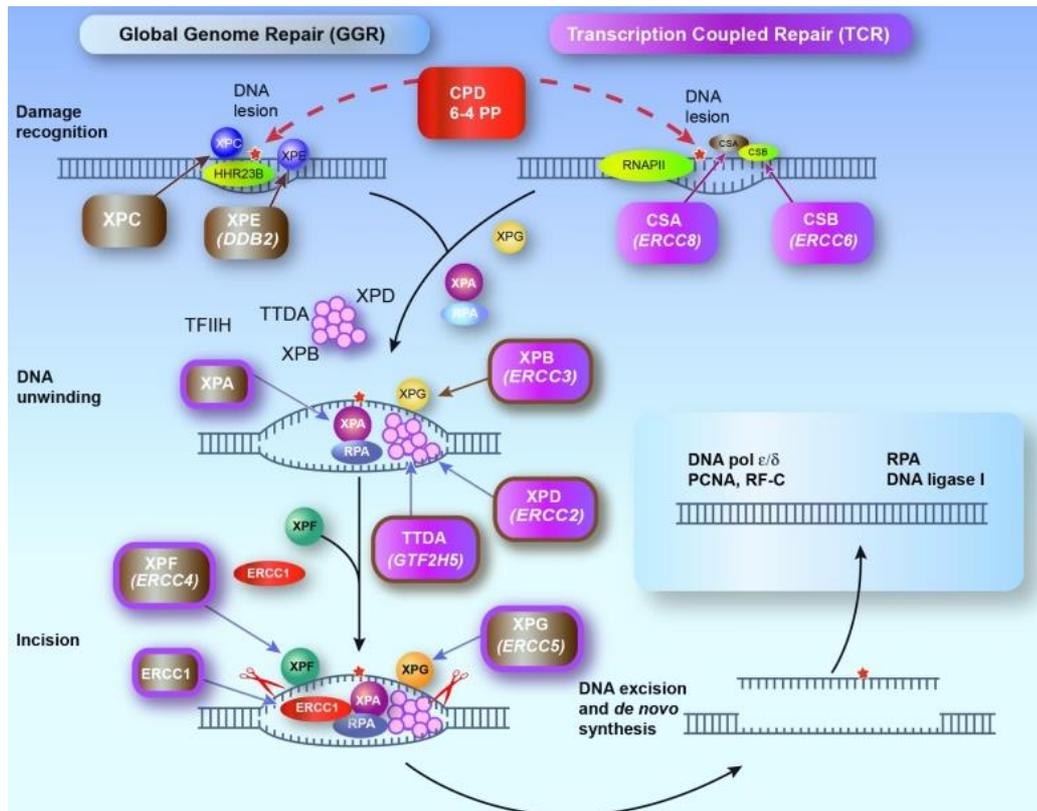


Figura 2 – Via de Reparo por Excisão de Nucleotídeos: A via NER é dividida em dois grandes ramos, o reparo acoplado a transcrição (*transcription-coupled repair* - TCR), que atua em genes ativos da transcrição e, o outro, é o reparo global do genoma (*Global Genome Repair* - GGR) que repara os danos no restante do DNA, porém, de forma mais lenta. A luz UV pode induzir a formação de dímeros de pirimidina ciclobutano (CPD) ou 6-4 fotoprodutos (6-4 PP) que no GGR são reconhecidos por proteínas, incluindo o XPE (DDB2) e produtos de genes XPC. Em TCR, a lesão parece bloquear o progresso da ARN-polimerase II em um processo que envolve o gene CSA e CSB produtos. Após o reconhecimento inicial do dano as vias convergem. O XPB (ERCC3) e XPD (ERCC2) agem como helicases abrindo a região ao redor da lesão com os produtos de genes XPA e XPG (ERCC5) e, as proteínas de replicação A (RPA). O XPF e XPG (ERCC5), endonucleases, podem realizar as incisões para remoção da lesão em um fragmento de cerca de 30 nucleotídeos. A diferença resultante é preenchida por síntese de novo de DNA. Este sistema é coordenado de modo que se uma parte da via é mutada todo o percurso não funcionará normalmente. As Mutações nos genes em retângulos têm sido associadas com a doença clínica (DIGIOVANNA; KRAEMER, 2012).

Os defeitos no oitavo gene (XPV) de XP não afetam o NER. Este gene é chamado de XP Variante (XPV) e está associado com problemas na replicação de DNA em regiões de danos induzidos por UV, processo conhecido como síntese de translesão

(TLS). A replicação do DNA é normalmente realizada pela DNA Polimerase ϵ (épsilon), mas que é incapaz de superar alguns danos, como fotoprodutos induzidos por UV (NAEGELI, 1995; LIMA-BESSA et al., 2006; CLEAVER, 2008a; OVERMEER, 2010). Assim, nos danos provocados por UV a célula utiliza a DNA Polimerase η (eta), codificada pelo gene *POLH* (ou *XPV*) e, sua alteração está associada a XP-V. Como em pacientes XPC e XPE, os pacientes XP-V raramente possuem reações extremas (queimaduras graves de exposição ao sol) ou anormalidades neurológicas (SUGASAWA, 2008; LEHMANN et al., 2011, MENCK e MUNFORD, 2014). Os genes, localização cromossômica e suas funções estão descritas no Quadro 1.

Quadro 1 – Os Genes do Xeroderma Pigmentosum

Genes	Éxons	Lócus	Proteína (AA)	Função Proteína	Defeito
<i>XPA</i>	6	9q22.33	273	Verificação de erros	NER
<i>XPB/ERCC3</i>	15	2q14.3	782	Helicase	NER
<i>XPC</i>	16	3p25.1	940	Reconhecimento de erros	NER/(GGR)
<i>XPD/ERCC2</i>	23	19q13.32	760	Helicase	NER
<i>XPE/DDB2</i>	10	11p11.2	427	Reconhecimento de erros	NER/(GGR)
<i>XPF/ERCC4</i>	11	16p13.12	916	Nuclease	NER
<i>XPB/ERCC3</i>	15	13p33.1	1186	Nuclease	NER
<i>XPV/POLH</i>	11	6p21.1	713	Polimerase	TLS

Abreviação: **NER** - Reparo por Excisão de Nucleotídeos; **GGR** - Reparo Global do Genoma; **TLS** - Síntese de Translesões

Em indivíduos afetados, os defeitos moleculares em XP resultam em uma elevada indução de mutações na pele devido à exposição ao sol. O aumento da frequência de mutação provavelmente favorece a mudança de pigmentação e o surgimento de cânceres de pele (Hoeijmakers, 2009). Os defeitos moleculares também aumentam a letalidade celular induzida por UV, que pode variar substancialmente entre os indivíduos. Os níveis de morte celular são menores em indivíduos com mutações nos genes de *XPC*, *XPE* e *XPV*, além de mutações hipomórficas em outros genes de XP, funções residuais do sistema de reparo de DNA nestes indivíduos (HANAWALT, 2002; JACOBELLI et al., 2008; LEHMANN et al., 2011).

1.4.3 Xeroderma Pigmentosum Variante

Inevitavelmente, algumas modificações no DNA (lesões) estão presentes durante a fase S do ciclo celular, dificultando e criando blocos de progressão da

maquinaria de replicação. Para contornar esse problema, os organismos evoluíram desenvolvendo um mecanismo alternativo de tolerância a danos no DNA, chamado síntese de DNA por translesão (TLS) (FRIEDBERG, WAGNER, & RADMAN, 2002; FRIEDBERG, 2005; GUO, KOSAREK-STANCEL, TANG, & FRIEDBERG, 2009).

A TLS em eucariotos pode contar com pelo menos cinco polimerases, DNA polimerase eta (Pol η), DNA polimerase iota (Pol ι), DNA Polimerase kappa (Pol κ), REV1 e DNA Polimerase zeta (Pol ζ), são polimerases especializadas que oferecem suporte à replicação, pois passam por lesões que não podem ser resolvidas por polimerases de alta fidelidade. Estas polimerases especializadas podem ser exatas (sem erros) ou mutagênicas (sujeito a erros) durante a TLS, a ausência de função na DNA Polimerase η conduz ao XPV (SALE, LEHMANN, & WOODGATE, 2012).

Os pacientes XPV apresentam mutações no gene *POLH*, localizado no cromossoma 6p21.1-p12.3, que transcreve um RNA mensageiro (RNAm) com 3,464 pares de base (bp) e 11 exons, ao qual é traduzido na enzima DNA polimerase eta (Pol η), composta por 713 aminoácidos e possui o peso de 78,4 Kilodaltons (kDa) (GenBank® - NM_006502), figura 4.

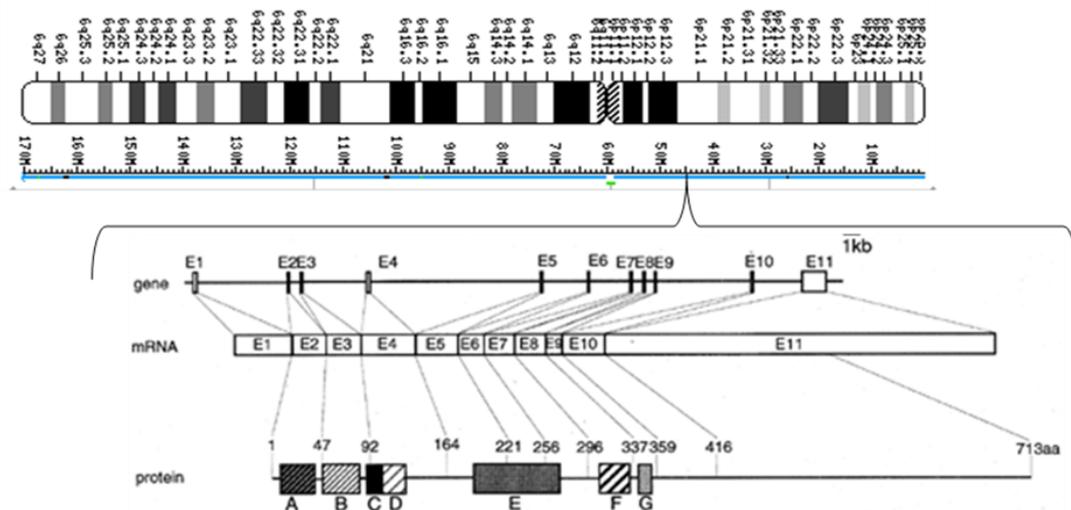


Figura 3 - Estrutura do cromossomo 6 com identificação do gene *POLH*, composto por introns e exons, RNAm e a enzima DNA Polimerase η .

A função da Pol η está associada à síntese de translesão (ato de replicar o DNA lesionado, promovendo a passagem por *cis-syn* dímeros de timina induzidos por ultravioleta (UV), com a finalidade de realizar a incorporação correta de duas adeninas oposta a lesão e, assim, se livrar do erro).

Entretanto, esta função está prejudicada nos doentes por XPV, mas, em geral, possui íntegra sua capacidade de realizar a atividade de reparo de excisão de

nucleotídeos (NER), diferente dos demais tipos de Xeroderma Pigmentosum (XP A–G) (JOHNSON, KONDRATICK, PRAKASH, & PRAKASH, 1999; MASUTANI et al., 1999a; MASUTANI et al., 1999b).

De forma simplificada, caso haja a presença de lesões no DNA decorrentes da exposição à UV, a exemplo, da pirimidina ciclobutano (CPD) ou 6-4 fotoprodutos (6-4 PP) a replicação é bloqueada e somente progredirá caso TLS ocorra, neste caso, mediada por Pol η , que por sua vez é ativada pela via ATR/CHK1.

É importante salientar que a replicação do DNA é um processo complexo, de múltiplas etapas e envolvem inúmeras moléculas, neste sentido, dando ênfase a TLS em mamíferos, a replicação conta com presença da DNA polimerase delta (δ), antígeno nuclear de células proliferativa (PCNA - complexo trimérico circular de alta afinidade com o DNA e propicia a ancoragem das polimerases durante a replicação), as proteínas Rad 6 e Rad 18 (formam um complexo capaz de transferir ubiquitina para sítios específicos em PCNA, formando o PCNA monoubiquitinado), elementos que compõem o processo de replicação do DNA.

Contudo, em caso de danos no DNA com formação de fotoprodutos, a Pol η liga-se a ubiquitina na superfície de PCNA e procede à substituição da Pol δ na parte bloqueada da forquilha de replicação, sendo capaz de passar por *cis-syn* dímeros de timina induzidos por ultravioleta (UV) e realizar a incorporação de duas adeninas oposta ao local da lesão. Após a passagem do dano, a DNA polimerase delta (δ) volta a assumir o seu papel na polimerização da molécula de DNA (SALE, LEHMANN, & WOODGATE, 2012), Figura 4.

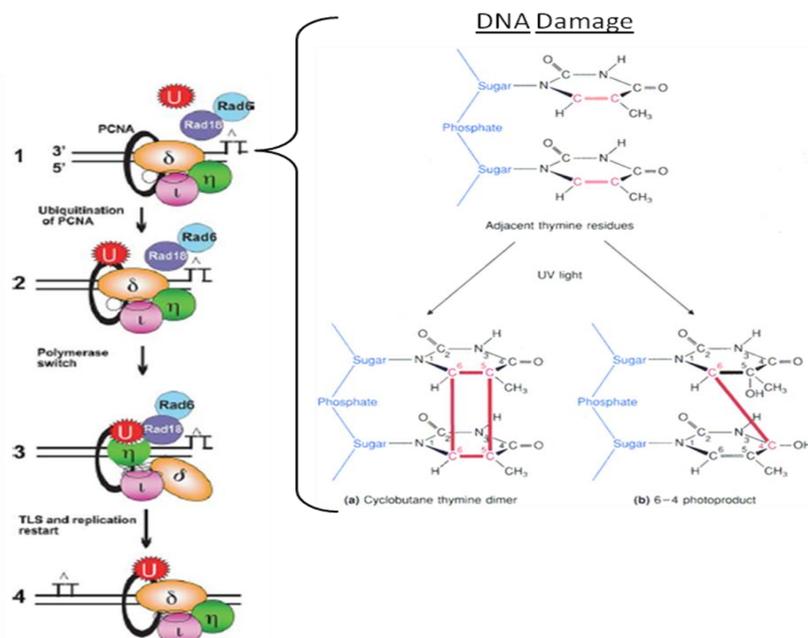


Figura 4 – Modelo para TLS em células de mamíferos. 1) Bloqueio da forquilha com atividade de Rad6-Rad18 que mono-ubiquitina PCNA (U); 2) Aumento da afinidade de PCNA por Pol η e habilitando sua função; 3) Passagem pelo dano e saída da TLS; 4) Restabelecimento da função de Pol δ .

Na ausência da função da DNA Pol η as forquilhas de replicação são bloqueadas por longos períodos, ativando as outras polimerases de translesão, porém, menos eficientes que Pol η e mais mutagênicas na presença dos dímeros de timina. Fato que conduz ao aumento cumulativo dos danos no DNA levando à instabilidade genômica e ao desenvolvimento de cânceres (JOHNSON, 1999; MASUTANI; ARAKI; et al., 1999; MASUTANI; KUSUMOTO; et al., 1999; MENCK; MUNFORD, 2014).

As mutações em *POLH* podem conduzir à desorganização molecular da DNA Polimerase η (pol eta) e levá-la a perda de função, fato que favorece o acúmulo de mutações durante a replicação pela incorporação de bases erradas frente as lesões que derivam da exposição à radiação ultravioleta do sol, a exemplo, do 6-4 fotoproduto e dos dímeros de pirimidinas (ciclobutano) [MASUTANI et al., 1999a; MASUTANI et al., 1999b]. As deficiências na capacidade de síntese translesão tornam os afetados pela XPV altamente sensíveis à luz solar, predispondo esses indivíduos ao desenvolvimento de tumores precoces e recorrentes (FRIEDBERG et al., 2005; JOHNSON, 1999; MASUTANI; ARAKI; et al., 1999; MASUTANI; KUSUMOTO; et al., 1999).

1.5 Qualidade de Vida

A escassez de dados na literatura sobre a qualidade de vida em pacientes com xeroderma pigmentosum apontam para as dificuldades e, sobretudo, os desafios de se realizar tais estudos, pois trata-se de uma doença extremamente rara, com diversas repercussões clínicas e características únicas.

Contudo, segundo HAWKINS et al.(2012), os afetados pelo XP participantes do estudo pertencem a um grupo de atendimento clínico (composto por 4 pacientes e 2 familiares com XP), e LAURENTE et al.(2010) descreve que a medida da percepção da qualidade de vida envolveu 32 pacientes com diagnóstico de XP, residentes em Cuba, na província Santa Clara, diferentemente do que se observa em Araras/Faina, onde os afetados pela XPV encontram-se agrupados vivendo em uma comunidade cujo isolamento geográfico parcial, associados aos possíveis efeitos fundadores e o surgimento de inúmeros casamentos consanguíneos, criou uma atmosfera perfeita e única para a disseminação de mutações e o surgimento da XPV.

Os resultados em ambos os estudos demonstram o impacto negativo da XP na qualidade de vida dos afetados (HAWKINS et al., 2012; LAURENTE et al., 2010). Além disso, em estudos com indivíduos com tumores de pele os dados apontam para o impacto negativo da doença na qualidade de vida (LEHTO, 2005; VINDING *et al.*, 2013, 2014).

Assim, a relevância do tema, aliado a necessidade da obtenção de dados para disponibilização na comunidade local e internacional, estimula o surgimento de novos estudos no intuito de enriquecer a literatura sobre a percepção da qualidade de vida em doenças raras como XP.

1.5.1 Descrição da Qualidade de Vida

Qualidade de vida (QV) foi definida pela Organização Mundial da Saúde (OMS/WHO) como “a percepção de sua posição na vida, no contexto da cultura e valores do lugar onde se vive, define suas metas, expectativas, padrões e preocupações”. Portanto, a percepção de um indivíduo quanto a sua doença pode afetar a qualidade de vida por interferir no seu estado de saúde e outros aspectos da vida em geral (The WHOQOL Group, 1995; FLECK, et al., 1999; FLECK, 2000a; FLECK et al., 2008).

O termo *qualidade de vida* apareceu pela primeira vez na *Medline* em 1966, no *Psychological Abstracts* em 1931 e no *Sociological Abstracts*, em 1964 (NERI, 2007). O conceito de “*qualidade de vida*” associa-se ao movimento dentro das ciências humanas e biológicas, que busca a valorização de parâmetros que transcendem o controle de sintomas, a diminuição da mortalidade ou o aumento da expectativa de vida. Assim, é considerada a terceira dimensão, ou seja, vai além da eficácia (modificação das doenças pelo efeito das drogas) e da segurança (reação adversa às drogas) [ACHUTTI & AZAMBUJA, 2004; FLECK et al., 2008].

O conceito de QV decorre dos novos paradigmas que tem influenciado as práticas em saúde. A relação dual, saúde-doença, é complexa, pois abrange aspectos econômicos, socioculturais, experiência pessoal e estilos de vida. De acordo com esses novos aspectos a melhoria da QV passa a ser uma medida efetiva das práticas assistenciais e das políticas públicas (SEIDL & ZANNON, 2004).

No Brasil, vem crescendo o interesse pelo tema qualidade de vida, como exemplo, no campo da saúde (SEIDL & ZANNON, 2004). Assim, ultimamente verifica-se

na condução da saúde coletiva e nas políticas públicas um interesse crescente pela avaliação da QV, servindo de indicador para o perfil das necessidades de cuidados e intervenções para os indivíduos, permitindo comparações entre populações e intervenções específicas à clientela. A operacionalização ocorre pela aplicação de instrumentos validados que caracterizam por incluir aspectos subjetivos e multidimensionais, geralmente não abordados por outros critérios de avaliação (FLECK, 2000a; FLECK, 2000b).

Existe um amplo acesso aos instrumentos de avaliação de QV e afins, contudo, a maioria foi desenvolvida nos Estados Unidos. Ainda hoje, há um crescente interesse em traduzir e aplica-los em outras culturas. A aplicação transcultural por meio da tradução de qualquer instrumento é um tema muito questionado, sendo que há autores que criticam a possibilidade de que o conceito de QV não se adapte a culturas específicas (ZIMPEL & FLECK, 2008). Entretanto, alguns autores entendem que existe um “universo cultural” de QV, em outras palavras, que independentemente do país, cultura ou época, é importante que as pessoas se sintam bem psicologicamente, com boas condições físicas, socialmente integradas e funcionalmente competentes (FLECK, 2000a).

Neste sentido, a OMS teve o interesse em desenvolver um instrumento que pudesse avaliar a QV dentro de uma perspectiva genuinamente internacional e fomentou um projeto colaborativo multicêntrico, cujo resultado foi a criação dos instrumentos (genéricos e específicos) de avaliação da QV, denominado WHOQOL, que tem por objetivo avaliar a percepção do indivíduo sobre vários aspectos da sua vida (capacidade funcional, aspectos físicos, dor, estado geral de saúde, vitalidade, aspectos sociais, aspectos emocionais e saúde mental) [WHOQOL Group, 1995]. As escalas avaliadas também podem ser utilizadas para verificar a eficácia de políticas e programas de saúde, a alocação de recursos a serem utilizados ou para comparar enfermidades distintas. No entanto, não há disponível na literatura um instrumento de avaliação específico para determinadas populações, talvez isto seja justificado pelo número e a complexidade das variáveis envolvidas no caso de algumas populações (The WHOQOL Group, 1995; BROUSSE & BOISAUBERT, 2007; FLECK et al., 2008).

No contexto da saúde, as novas tecnologias fomentam a ideia de que a cura das doenças ou os tratamentos eficientes e definitivos seria realidade, no entanto, apesar do conseqüente prolongamento da expectativa de vida no último século, torna-se claro que algumas doenças não são passíveis de cura (FLECK et al., 2008). Neste

contexto, destacam-se as patologias com evolução crônica, resultando em complicações e prejuízos multidimensionais na vida dos pacientes (AGUIAR et al., 2008).

Nesse sentido, as políticas em saúde, pesquisas e a própria formação dos profissionais que sempre priorizaram o controle da morbidade e mortalidade, estes, estão adotando novas perspectivas de avaliação dos resultados, não considerando apenas a dimensão médica de redução da morbimortalidade, mas a introdução do conceito de QV como desfecho em saúde (BERGNER, 1981; FLECK et al., 2008). A avaliação da QV do paciente é reconhecida como importante área do conhecimento científico, em razão do conceito de QV se interpor ao de saúde: satisfação e bem-estar nos âmbitos físico, psíquico, socioeconômico e cultural (ACHUTTI & AZAMBUJA, 2004, AGUIAR et al., 2008).

Diante desse contexto a compreensão sobre a QV do paciente influencia nas decisões e nas condutas terapêuticas das equipes de saúde. Assim, especificamente quanto à avaliação da QV dos pacientes com XP e a associação com a identificação molecular das mutações, a combinação de destes aspectos, podem oferecer subsídios importantes para os profissionais encarregados da assistência a essa população e possivelmente contribuir para a melhoria da sensação de bem-estar das pessoas afetadas pelo XP, visto que, a cura para estes pacientes afetados ainda é uma incógnita.

2 JUSTIFICATIVA

2.1 A comunidade de Araras, Faina, Goiás: um caso raro

O Distrito de Araras está localizado no Município de Faina, em Goiás, a 242 quilômetros (Km) de Goiânia, sendo 42 km por estrada de terra. Neste distrito, cerca de 900 residentes vivem basicamente da agropecuária e mantém certo isolamento genético. Isso pode ser comprovado pela alta frequência de casamentos consanguíneos (conforme reconhecem os próprios moradores) e principalmente pelo aparecimento de mais de dezoito indivíduos, com características clínicas da síndrome XP.

Esses pacientes apresentam alto grau de ceratoses actínicas e outras lesões de pele, localizadas, sobretudo nas regiões do corpo expostas à luz solar. A maior parte dos pacientes diagnosticados com essa síndrome sofreu cirurgia para remoção de lesões tumorais, e vários deles foram mutilados em decorrência das interferências cirúrgicas, sobretudo na face. Segundo moradores, mais de vinte indivíduos morreram da doença nas últimas décadas. De acordo com o relato de uma moradora com 102 anos de idade (não afetada, mas mãe de vários filhos com a doença), seu avô tinha problemas similares na pele, o que nos sugere estimar que a síndrome estivesse presente na região há, pelo menos, 150 anos.

Apesar da gravidade com que a doença é verificada em alguns pacientes (existem relatos de pacientes que morreram com menos de 20 anos), outros, mesmo que apresentem lesões sérias, possuem idades avançadas, raramente alcançadas por pacientes XP (JACOBELLI et al., 2008). Na verdade, na comunidade há pacientes de 9 a 81 anos, algo único para essa síndrome, o que indica um fenótipo mais brando no que em outros casos do mundo. Do nosso conhecimento, este é o terceiro isolado genético descrito para essa síndrome, sendo que no outro caso, trata-se de um grupo de índios guatemaltecos, nos quais cerca de 10 pacientes apresentam sintomas graves, e normalmente morrem com menos de 10 anos de idade (CLEAVER et al., 2007) e indivíduos da população negra Mahori em uma ilha no Oceano Índico (CARTAULT et al., 2011).

2.2 Relevância

Em Araras, os supostos pacientes apresentam fenótipos clínicos mais

brandos, porém, extremamente heterogêneos, o que é curioso, sobretudo por apresentarem alta consanguinidade. Por outro lado, há evidências de que o isolamento genético não é completo, uma vez que, apesar da maior parte dos pacientes serem de origem caucasiana, há pelo menos três deles que apresentam cor de pele negra, o que, infelizmente, não evita o aparecimento das lesões na pele e principalmente problemas nos olhos. É importante também insistir que boa parte daquela comunidade trabalha na lavoura, sob uma luz solar intensa, o que tende a piorar o quadro da doença, que mesmo assim é relativamente mais branda do que o observado em países de clima temperado.

Apesar da alta frequência de indivíduos com sintomas clínicos de XP, aparentemente foi há cerca de 8 anos que o termo xeroderma passou a ser conhecido entre eles. Os cuidados limitavam-se anteriormente a cirurgias de remoção de tumor, havendo entre a comunidade a crença de que a doença tinha como origem um processo infeccioso.

Em 2009, a Dra. Sulamita Costa Chaibub, dermatologista do Hospital Geral de Goiânia (HGG), examinou um garoto com apenas 5 anos (atualmente com 12 anos), e concluiu com o diagnóstico de provável XP, e em seguida tomou conhecimento da existência de outros pacientes com a mesma doença. Seguiu-se a divulgação da mídia (basicamente local - GO e DF) do problema que aflige a comunidade, o que possibilitou aos pacientes uma série de cuidados adicionais, incluindo informação sobre os efeitos da luz solar, acesso a cremes de proteção solar (com alto FPS - mínimo 60) e acesso à consulta com médico dermatologista regular (com a Dra. Chaibub, no HGG).

Para minimizar os problemas daquela população, por iniciativa da comunidade foi fundada a Associação Brasileira de Xeroderma Pigmentosum (ABRAXP), que pôde buscar assistência de forma ampla e irrestrita junto aos órgãos governamentais e, com isso, melhorar a qualidade de vida desses pacientes.

Além da existência desses pacientes em Araras, há relatos de pacientes também em Goiânia e na cidade vizinha de Hidrolândia, com sintomas que aparentam ser relativamente brandos, fato que gerou a expectativa de que esses pacientes sejam mutados no mesmo gene, provavelmente por parentesco com o grupo de Araras, devido a algum efeito fundador de mais de 150 anos.

Diante disso, o respectivo projeto foi acompanhado por constante monitoramento dermatológico da população afetada, fato que auxilia na melhoria da qualidade de vida daquela população. Além disso, forneceu dados importantes da

manifestação genética da síndrome XP no povoado e parcialmente no Estado de Goiás.

2.3 Viabilidade

Essa pesquisa foi realizada pela Universidade Federal de Goiás (Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública), Universidade de São Paulo (Laboratório de Reparo de DNA do Instituto de Ciências Biomédicas) as quais disponibilizaram suas infraestruturas para o estudo, além disso, contou com o apoio da Secretaria de Estado da Saúde de Goiás por meio do Centro de Excelência em Ensino Pesquisa e Projetos – Leide das Neves Ferreira (CEEPP-LNF), Associação Brasileira de Xeroderma Pigmentosum (ABRAXP), Laboratório de Oncogenética do Hospital Araújo Jorge/ACCG e Laboratório de Patologia da Faculdade de Odontologia/UFG. A aquisição dos insumos foi realizada por órgãos de fomento a pesquisa (Comissão Nacional de Pesquisa/CNPQ e Fundação de Amparo a Pesquisa em São Paulo/FAPESP) e das parcerias advindas deste trabalho.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

O presente estudo teve por objetivo avaliar as características moleculares e de Qualidade de Vida dos pacientes e familiares com suspeita clínica de Xeroderma Pigmentosum (XP) residentes na cidade de Faina (no Distrito de Araras), Goiás.

3.2 Específicos

Os objetivos específicos estão delineados a seguir:

- Identificar a frequência de mutações em *POLH* que estão associados ao XPV;
- Avaliar o perfil sociodemográfico e de Qualidade de Vida dos pacientes e familiares com suspeita de XP em Araras/Faina, Goiás.

4 MÉTODO(S)

Para este estudo foi realizado uma abordagem descritiva transversal dos casos de Xeroderma Pigmentosum, Araras, Faina, Goiás.

O referido estudo e todos os seus anexos foram aprovados pelo Comitê de Ética em pesquisas com seres humanos da Universidade Federal de Goiás/Reitoria de Pós-Graduação em Pesquisa sob o protocolo nº 133/12.

4.1 População do Estudo

A população de estudo foi composta por 146 selecionados, entre clinicamente doentes e seus familiares, sendo que 125 aceitaram participar. Destes, 114 eram provenientes do povoado de Araras/Faina e da cidade de Hidrolândia; além disso, foi incluída no estudo uma amostra de conveniência com 11 participantes (doentes provenientes do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás/UFG, do Hospital Geral de Goiânia/HGG, com residência nas cidades de Iporá (1), Jataí (1), Ponte Alta (1), Posse (1), Rio Verde (1), Silvânia (4) e Trindade (2). A partir da análise clínica dos participantes, 29 foram compatíveis com Xeroderma Pigmentosum, sendo que 18 são de Araras/Faina e 11 não residem ou possuem parentes em Araras/Faina, identificados como de outras localidades do Estado de Goiás.

Como critério de inclusão, determinou-se que os participantes do estudo de qualidade de vida deveriam possuir 18 anos ou mais para que pudessem assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Goiás sob o protocolo nº 133/12. Nas análises moleculares os menores de 18 anos poderiam participar caso os responsáveis assinassem o TCLE. Além disso, utilizou-se as características clínicas como meio de incluir os doentes e assim identificarmos seus familiares (hiperpigmentação na pele, cânceres precoces, e recorrentes de pele, e lesões oculares evidentes) dos participantes doentes e o grau de parentesco dos familiares. Contudo, foram excluídos aqueles que não assinaram o TCLE.

4.2 Coleta de dados e material biológico

Aos participantes, foi aplicado um questionário para o levantamento de dados sócio-demográficos, Qualidade de Vida - Organização Mundial de Saúde (WHOQOL -

Bref) e, na ocasião, coletou-se 5 mL de sangue periférico (BD Vacutainer® - EDTA K2) e 2mL de saliva utilizando o kit da DNA Genotek (Oragene DNA – OG 500).

4.3 Qualidade de Vida (WHOQOL - Bref)

Após o treinamento dos colaboradores, aplicou-se os questionários sócio-demográficos e o WHOQOL – Bref nos pacientes e familiares da comunidade de Araras/Faina, seguido pela verificação da completude do mesmo e, encaminhamento à coleta de 5 mL de sangue periférico (BD Vacutainer® - EDTA K2). É importante salientar que o WHOQOL-Bref compõe-se de 26 questões (facetadas) distribuídas em quatro domínios (Físico, Social, Ambiental e Psíquico), o que permite proceder com o cálculo do global e a determinação dos scores percentuais para cada domínio, além da associação com perfil genético identificado (The WHOQOL Group. 1998).

4.4 Genotipagem por Real Time PCR (RT-qPCR)

O sangue periférico foi armazenado a 4°C por 8 horas sendo encaminhado ao Laboratório de Patologia – Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Goiás para realização da extração de DNA (Thermo - GeneJet Whole Blood Genomic DNA Purification Mini Kit) e, deste, para a quantificação por Nanodrop® 2000C (NanoDrop Technologies, Wilmington, DE). Em seguida, foi realizada a genotipagem para Xeroderma Pigmentosum Variante (XPV) com pesquisa de mutações nos éxons 6, 8 e 11 do gene *POLH*, utilizando o método RT-qPCR. A saliva foi utilizada para os mesmos procedimentos, porém, realizados no Laboratório de Reparo de DNA da Universidade de São Paulo.

As informações para a construção das sondas TaqMan® (*Applied Biosystems, Foster City, CA*) para a genotipagem por RT-qPCR, e pesquisas das mutações específicas em *POLH* derivam do sequenciamento descrito no estudo de (MUNFORD *et al.*, submetido). Assim, as sondas foram construídas para identificar as mutações (transição de G para A) no primeiro nucleotídeo posterior ao exon 6 (c.768+1 G>A), na região intrônica aceptora de *splicing*, (denominada aqui de mutação no intron 6); no exon 8 (transição de C para T) no nucleotídeo na posição c.908 C>T [p.(Arg303*)], produzindo um códon de parada durante a tradução da enzima e a (transição de G para A) no nucleotídeo na posição c.1249-1 G>A do intron que antecede o exon 11 do gene *POLH* (denominado intron 10) [Quadro 2].

Quadro 2 – Descrição das Sondas e primers utilizadas na detecção de pacientes com suspeita de XP em Faina, Araras, Goiás, Brasil

Sondas	Primers	Tipo	Posição
CCATTCGCAAAATGTAAGTA	CACAGCTCTTCAGCCAAATGC	WT	Intron 6
CCATTCGCAAAATATAAGTA	GAAGTGAAATTTAACATGCTGCCTGAA	G>A	Intron 6
CAATCCCTCGGCACATG	TGCTGGTCTTATTAGGTCTTGGCTAT	WT	Exon 8
CAATCCCTCAGCACATG	GCCTGGGTTTAACTGGATCATGTT	C>T	Exon 8
ACTTTCTGTATAGGTCTCC	AGGTCACTATTTTAATCTTCTAAATTGCT AATCATCTT	WT	Intron 10
ACTTTCTGTATAAGTCTCC	TGTAGCACAGAGGAAAAGCATTGT	G>A	Intron 10

Fonte: Laboratório de Reparo de DNA – Universidade de São Paulo/USP

A RT-qPCR (Sistema *StepOne* - *Applied Biosystems*, Foster City, CA) foi realizada com 5,33 ng/dl de DNA, desnaturação inicial (*Hotstart*) 95°C por 10' minutos, Desnaturação a 92 °C por 15 segundos, anelamento e extensão a 60°C por 1:30 minutos, para 50 ciclos e, ao final, resfriamento a 4°C. As amostras, os controles positivos e negativos foram amplificados em duplicata utilizando placas de 48 poços com dois marcadores por placa.

O produto da RT-qPCR foi identificado por medida da quantidade de fluorescência quando comparada com o controle negativo, e realizado automaticamente pelo programa *StepOne* Versão 2.3 (*StepOne* - *Applied Biosystems*, Foster City, CA) que realiza a normalização da emissão de fluorescência (*Normalization Reporter* – Rn), a determinação da linha de base (Base Line) e a linha limiar da reação (*Threshold Cycle* - CT,) para em seguida identificar os casos positivos para as mutações nos alelos pesquisados e seus respectivos genótipos.

Com a finalidade de garantir à confiabilidade dos resultados, bem como a validade externa das análises moleculares, as amostras foram testadas em duplicata, em dois centros de pesquisas independentes (Laboratório de Reparo de DNA da Universidade de São Paulo e Laboratório de Oncogenética da Associação de Combate ao Câncer em Goiás), fato que permitiu avaliar a concordância por meio da aplicação do teste de Kappa.

4.5 Análise Estatística

Para as análises estatísticas construiu-se uma base de dados por meio do

IBM-SPSS - v.21 com variáveis sociodemográficas, moleculares advindas do RT-qPCR para Xeroderma Pigmentosum Variante (XPV) e do WHOQOL-Bref, que subsidiou a análise descritiva total, a determinação da frequência percentual dos perfis genéticos e dos scores estratificados da Qualidade de Vida. Adicionalmente, foi calculada a estimativa de casos de XPV na população de Araras/Faina e o impacto nas frequências de XP Goiás, para tanto, foi considerado a população do censo de 2010 (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE), respectivamente 900 pessoas para Araras/Faina e 6.003.788 de Goiás.

Como parâmetro de confiabilidade dos resultados (validade externa dos resultados moleculares) obtidos do RT-qPCR dos referidos centros de pesquisas, utilizou-se o teste de Kappa com IC=95%, $\alpha=5\%$ e, $p\leq 0,001$ para os resultados significantes.

5 ARTIGOS

Artigo 1

Investigação das Frequências de Mutações em *POLH* (nos introns 6 e 10 e no exon 8) em Pacientes e Familiares com Suspeita Clínica de Xeroderma Pigmentosum, Goiás, Brasil

Rafael Souto^{1,2,3,4,5}; Sulamita Costa Chaibub²; Lígia Pereira Castro⁶; Veridiana Munford⁶; João Bosco Siqueira Júnior¹; Carlos Frederico Martins Menck^{1,6}.

Revista: a definir

Artigo 2

Qualidade de Vida dos Pacientes com Xeroderma Pigmentosum Variante

Rafael Souto^{1,2,3,4,5}; Sulamita Costa Chaibub²; Lígia Pereira Castro⁶; Veridiana Munford⁶; Carlos Frederico Martins Menck^{1,6}; João Bosco Siqueira Júnior¹.

Revista: a definir

Artigo 3 (Anexo)

A genetic cluster of xeroderma pigmentosum variant patients with two different *POLH* mutated alleles living in a sunny country

Veridiana Munford^{1†}, Ligia Pereira Castro^{1†}, Rafael Souto², Leticia Koch Lerner¹, Juliana Brandstetter Vilar¹, Carolina Quayle¹, Huma Asif¹, André Passaglia Schuch^{1,3}, Tiago Antonio de Souza¹, Susan lenne¹, Francisco Ivanio Arruda Alves¹, Livia Maria Silva Moura¹, Pedro Alexandre Favoretto Galante⁴, Anamaria A. Camargo⁴, Raquel Liboredo⁵, Sergio Danilo Junho Pena⁵, Alain Sarasin⁶, Sulamita Costa Chaibub⁷, and Carlos Frederico Martins Menck^{1*}

Revista: Mutation Research

ARTIGO 1

INVESTIGAÇÃO DAS FREQUÊNCIAS DE MUTAÇÕES EM *POLH* (NOS INTRONS 6, EXON 8 e INTRONS 10) EM PACIENTES E FAMILIARES COM SUSPEITA CLÍNICA DE XERODERMA PIGMENTOSUM, GOIÁS, BRASIL

Rafael Souto^{1,2,3,4,5}; Sulamita Costa Chaibub²; Lígia Pereira Castro⁶; Veridiana Munford⁶; João Bosco Siqueira Júnior¹; Carlos Frederico Martins Menck^{1,6}.

1. Universidade Federal de Goiás/Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública – UFG/IPTSP
2. Secretaria de Estado da Saúde de Goiás/SES-GO
3. Pontifícia Universidade Católica de Goiás/PUC-GO
4. Laboratório de Oncogenética do Hospital Araújo Jorge/ LO-HAJ
5. Universidade Federal de Goiás/ Laboratório de Patologia da Faculdade de Odontologia
6. Depto. de Microbiologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo/USP

Contato: Rua 01, nº 800, Ap. 901, Ed. Minerva, Setor Oeste, CEP: 74115040, Goiânia, Goiás.

E-mail: rsouto.775@gmail.com

RESUMO

A Xeroderma Pigmentosum (XP) Variante é uma doença autossômica recessiva que envolve mutações em *POLH*. O estudo teve por objetivo investigar a frequência de mutações em *POLH* para os introns 6, exon 8 e o íntron 10 em pacientes e familiares com suspeita clínica de XP, residentes em Araras, Faina, Goiás, Brasil. As análises moleculares por Real Time PCR (RT-qPCR) de 125 indivíduos buscaram identificar a frequência dos alelos mutados, que podem resultar na doença. Destes, 29 foram confirmados como afetados pela síndrome XP, sendo que 18 no povoado de Araras/Faina e 11 são provenientes de outras localidades do Estado de Goiás. No povoado de Araras/Faina com 114 indivíduos analisados foram encontrados 12 pacientes homocigotos para o alelo mutado no início do intron 6 (XPV 6/6), um homocigoto para o alelo mutado no exon 8 (XPV8/8) e cinco heterocigotos compostos para os dois alelos (XPV 6/8). Além disso, 36 indivíduos foram identificados como portadores (heterocigotos) para mutação no intron 6 (XPV 6/selvagem), 12 portadores para mutação no exon 8 (XPV 8/selvagem) e 48 participantes (selvagem/selvagem) para os dois alelos. No estudo de 11 pacientes clinicamente afetados e residentes em outras regiões do Estado de Goiás, dois foram positivos para XPV com mutações no intron 10 (XPV 10/10) e os nove foram negativos para os três alelos identificados no gene *XPV*.

Em Araras/Faina, a causa de aumento na incidência de cânceres está associado ao XPV, sendo identificado 2 mutações no gene *POLH* (intron 6 e exon 8), que possivelmente conduz a alterações na DNA Polimerase eta, além disso, em Trindade as mutações em pacientes recaem sobre o intron 10 de *POLH*. Os testes moleculares vêm desvendando os casos de XP que estavam subnotificados, demonstrando as reais frequências dessa síndrome no Estado de Goiás.

Palavras Chaves: Xeroderma Pigmentosum; Xeroderma Pigmentosum Variant Type; DNA-Repair - deficiency disorders.

INTRODUÇÃO

A Xeroderma Pigmentosum (XP) é uma doença autossômica recessiva caracterizada pela hipersensibilidade da pele à luz solar e, sobretudo, pela alta frequência de cânceres, em destaque, para os de pele. A XP é classificada em oito grupos que variam de A-G e um grupo denominado de Xeroderma Pigmentosum Variante (XPV) (MENCK; MUNFORD, 2014).

Os pacientes XP apresentam deficiência na remoção das lesões do DNA induzidas pela luz ultravioleta (UV), componente da luz solar. Entretanto, o grupo definido como Xeroderma Pigmentosum Variante (XPV), em geral, apresenta capacidade normal de remoção das lesões pelas vias de Reparo por Excisão de Nucleotídeos (NER) e Reparo por Excisão por Base (BER), mas possui deficiência na capacidade de replicar o DNA lesionado, ou na síntese translesão (TLS) (JOHNSON, 1999; MASUTANI; ARAKI; et al., 1999; MASUTANI; KUSUMOTO; et al., 1999).

Os pacientes XPV apresentam mutações no gene *POLH*, localizado no cromossoma 6p21.1-p12.3, esse gene transcreve um RNA mensageiro (RNAm) com 3,464 pares de base (bp) e 11 exons, ao qual é traduzido na enzima DNA polimerase eta (Pol η), que compõem-se de 713 aminoácidos e possui o peso de 78,4 kDa (GenBank® número de acesso NM 006502).

A função da Pol η está associada à síntese de translesão (ato de replicar o DNA lesionado, promovendo a passagem por dímeros de timina induzidos por ultravioleta (UV) com a incorporação correta do nucleotídeo oposto a lesão para livra-se do erro). Na ausência da Pol η as forquilhas de replicação são bloqueadas por longos períodos, ativando outras polimerases de translesão, porém menos eficientes que Pol η e mais mutagênicas na presença dos dímeros de timina. Fato que conduz ao aumento cumulativo dos danos no DNA levando à instabilidade genômica e ao desenvolvimento

de cânceres (JOHNSON, 1999; MASUTANI; ARAKI; et al., 1999; MASUTANI; KUSUMOTO; et al., 1999; MENCK; MUNFORD, 2014).

As mutações em *POLH* podem conduzir à desorganização molecular da DNA Polimerase η (pol eta) e levá-la a perda de função, fato que favorece o acúmulo de mutações pela incorporação de bases erradas frente as lesões que derivam da exposição à radiação ultravioleta do sol (CPDs e 6-4 PPs). As deficiências na capacidade de síntese translesão tornam os afetados pela XPV altamente sensíveis à luz solar, predispondo esses indivíduos ao desenvolvimento de tumores precoces e recorrentes (FRIEDBERG *et al.*, 2005; JOHNSON, 1999; MASUTANI; ARAKI; *et al.*, 1999; MASUTANI; KUSUMOTO; *et al.*, 1999).

A distribuição de pacientes XP no mundo é extremamente heterogênea, variando entre países e continentes. Neste sentido, nota-se que a frequência média mundial é de dois a três casos por 3.000.000 de habitantes. No Japão, esta frequência é de um para cada 40.000 habitantes e nos Estados Unidos, um para cada 250.000 habitantes; na África há relatos das altas frequências, porém, sem informação populacional de danos na pele (AHMAD; HANAOKA, 2008; INUI et al., 2008; KLEIJER et al., 2008; LEHMANN et al., 2011; SOUFIR et al., 2010).

No Brasil, as frequências de XP são desconhecidas, pois os sistemas de informação em saúde não possuem dados que permitam o cálculo das frequências desses pacientes na população, caracterizando subnotificação. Os pacientes com história de cânceres de pele cuja origem é genética, a exemplo dos XP, podem estar inclusos entre os casos totais de cânceres de pele nos sistemas de registros de cânceres de base populacional.

A região de Araras/Faina, Goiás, apresenta uma alta frequência de afetados pela síndrome XP, porém, até pouco tempo atrás sem definição quanto ao grupo que pertence segundo CHAIBUB (2011).

A escolha do gene *POLH* e das mutações alvo utilizadas neste estudo decorre da pesquisa realizada por MUNFORD (submetido a publicação, anexo a esta Tese), que identifica as mutações (no íntron 6 e exon 8) e estabelece a relação com os casos de cânceres em Araras/Faina. A primeira mutação envolve alteração no sítio de *splicing* no início do intron seis e a segunda promove um códon de parada no exon oito no RNAm do *POLH* (MUNFORD *et al.*, submetido).

Neste sentido, as causas de cânceres em Araras/Faina poderiam estar associadas com o aumento das mutações em *POLH*, e assim, o aumento nas

frequências de pessoas com estas mutações justificariam os vários casos de cânceres precoces e recorrentes na população do povoado de Araras/Faina. Porém, desconhece a frequência destas mutações no povoado.

Diante do exposto, este estudo teve por objetivo investigar as frequências de mutações em *POLH* para os introns 6, exon 8 e o íntron 10 (identificado em pacientes no Estado de Minas Gerais) nos pacientes e familiares com suspeita clínica de XP, residentes no povoado de Araras, na cidade de Faina, além de outros pacientes encontrados em regiões próximas em Goiás, Brasil. Acreditamos que este estudo possibilitará não só apoio imediato aos pacientes e familiares pelo diagnóstico molecular da síndrome e de portadores (com claras implicações no aconselhamento genético), como também permitirá avaliar a distribuição desses alelos naquela população.

MATERIAL E MÉTODOS

Para o trabalho foi realizado uma abordagem descritiva transversal dos casos de Xeroderma Pigmentosum, Araras, Faina, Goiás.

População do Estudo

O referido estudo e todos os seus anexos foram aprovados pelo Comitê de ética em Pesquisas com Seres Humanos da Universidade Federal de Goiás/Reitoria de Pós-Graduação em Pesquisa sob o protocolo nº 133/12.

A população de estudo foi composta por 146 indivíduos, selecionados, entre pacientes clinicamente diagnosticados com síndrome XP e seus familiares, sendo que 125 aceitaram participar do estudo. Destes, 114 eram provenientes do povoado de Araras/Faina e da cidade de Hidrolândia; além disso, foi incluída no estudo uma amostra de 11 participantes doentes (clinicamente diagnosticados como XP) e provenientes do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás/UFG, do Hospital Geral de Goiânia/HGG com residência nas cidades de Iporá (1), Jataí (1), Ponte Alta (1), Posse (1), Rio Verde (1), Silvânia (4) e Trindade (2). A partir da análise clínica dos participantes 29 foram diagnosticados como XP, sendo que, 18 são de Araras/Faina e 11 não residem ou possuem parentes em Araras/Faina, identificados como de outras localidades do Estado de Goiás.

Como critério de inclusão utilizou-se as características clínicas de XP descritas nas diretrizes da Sociedade Brasileira de dermatologia e utilizadas por CHAIBUB (2011), como hiperpigmentação na pele, cânceres precoces e recorrentes de pele, e lesões oculares evidentes dos participantes doentes e o grau de parentesco dos familiares; além da anuência no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Goiás.

Coleta de dados e material biológico

Aos participantes, foi aplicado um questionário para o levantamento de dados sociodemográficos e, na ocasião, coletou-se 5 mL de sangue periférico (BD Vacutainer® - Edta K2) e 2mL de saliva utilizando o kit da DNA Genotek (Oragene DNA – OG 500).

Genotipagem por Real Time PCR (RT-qPCR)

O sangue periférico foi armazenado a 4°C por 8 horas sendo encaminhado ao Laboratório de Patologia – Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Goiás para realização da extração de DNA (*Thermo - GeneJet Whole Blood Genomic DNA Purification Mini Kit*), e deste para a quantificação por Nanodrop® 2000C (*NanoDrop Technologies, Wilmington, DE*). Em seguida, foi realizada a genotipagem para XPV com pesquisa de mutações no intron 6, exon 8 e intron 10 do gene *POLH*, utilizando o método de Real Time PCR (RT-qPCR). A mutação no intron 10 foi encontrada anteriormente em paciente brasileiro morador de Poços de Caldas, Minas Gerais, por nosso grupo de pesquisa (resultados não publicados). A saliva foi utilizada para os mesmos procedimentos, porém, realizados no Laboratório de Reparo de DNA da Universidade de São Paulo.

As informações para a construção das sondas TaqMan® (*Applied Biosystems, Foster City, CA*) para a genotipagem por RT-qPCR, e pesquisas das mutações específicas em *POLH* derivam do sequenciamento descritos no estudo de (MUNFORD *et al.*, 2016). Assim, as sondas foram construídas para identificar as mutações (transição de G para A) no primeiro nucleotídeo posterior ao exon 6 (c.768+1 G>A), na região intrônica aceptora de *splicing*, (denominada aqui de mutação no intron 6); no exon 8 (transição de C para T) no nucleotídeo na posição c.908 C>T [p.(Arg303*)], produzindo um códon de parada durante a tradução da enzima e a (transição de G para

A) no nucleotídeo na posição c.1249-1 G>A do intron que antecede o exon 11 do gene *POLH* (denominada mutação no intron 10) [Quadro 1].

Quadro 1 – Descrição das sondas e *primers* utilizados na detecção dos alelos de *POLH* em pacientes com suspeita de XP.

Sondas	Primers	Tipo	Posição
CCATTCGCAAAATGTAAGTA	CACAGCTCTTCAGCCAAATGC	WT	Intron 6
CCATTCGCAAAATATAAGTA	GAAGTGAAATTTAACATGCTGCCTGAA	G>A	Intron 6
CAATCCCTCGGCACATG	TGCTGGTCTTATTAGGTCTTGGCTAT	WT	Exon 8
CAATCCCTCAGCACATG	GCCTGGGTTTAACTGGATCATGTT	C>T	Exon 8
ACTTTCTGTATAGGTCTCC	AGGTCACTATTTTAATCTTCTAAATTGCTA ATCATCTT	WT	Intron 10
ACTTTCTGTATAAGTCTCC	TGTAGCACAGAGGAAAAGCATTGT	G>A	Intron 10

Fonte: Laboratório de Reparo de DNA, ICB/USP

A RT-qPCR (Sistema *StepOne* - *Applied Biosystems*, Foster City, CA) foi realizada com 5,33 ng/dl de DNA, desnaturação inicial (*Hotstart*) 95°C por 10' minutos, Desnaturação a 92 °C por 15 segundos, anelamento e extensão a 60°C por 1:5 minutos, para 50 ciclos e, ao final, resfriamento a 4°C. As amostras, os controles positivos e negativos foram amplificados em duplicata utilizando placas de 48 poços com dois marcadores por placa.

O produto da RT-qPCR foi identificado por medida da quantidade de fluorescência quando comparada com o controle negativo e realizado automaticamente pelo programa *StepOne Versão 2.3* (*StepOne* - *Applied Biosystems*, Foster City, CA) que realizou a normalização da emissão de fluorescência (*Normalization Reporter* – Rn), a determinação da linha de base (*Base Line*) e a linha limiar da reação (*Threshold Cycle* - CT,) para em seguida determinar os casos positivos para as mutações nos alelos pesquisados e seus respectivos genótipos.

Com a finalidade de garantir à confiabilidade dos resultados, bem como a validade externa das análises moleculares, as amostras foram testadas em duplicata, em dois centros de pesquisas independentes (Laboratório de Reparo de DNA da Universidade de São Paulo e no Laboratório de Oncogenética da Associação de Combate ao Câncer em Goiás), fato que permitiu avaliar a concordância por meio da aplicação do teste de Kappa.

Análise Estatística

Para as análises estatísticas construiu-se uma base de dados por meio do IBM-SPSS - v.21 com variáveis sociodemográficas e moleculares advindas do RT-qPCR para Xeroderma Pigmentosum Variante (XPV), fato que subsidiou a análise descritiva total. Adicionalmente, foi calculada a estimativa de casos de XPV na população de Araras/Faina e o impacto nas frequências de XP em Goiás. Para tanto, foi considerado a população do censo de 2010 (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística- IBGE), respectivamente 900 pessoas para Araras/Faina e 6.003.788 de Goiás.

Como parâmetro de confiabilidade dos resultados (validade externa dos resultados moleculares) obtidos do RT-qPCR dos referidos centros de pesquisas, utilizou-se o teste de Kappa com IC=95%, $\alpha=5\%$ e, $p\leq 0,001$ para os resultados significantes.

RESULTADO

A análise dos dados sociodemográficos dos 125 participantes do estudo apresentou as seguintes características descritivas, média de idade de 39 anos; tendo um predomínio de mulheres (56,8%). A maioria da população declarou-se casados/união consensual (52,8%), possuíam primeiro grau incompleto (40,8%) e renda familiar menor que dois salários-mínimos (80,8%). Em relação à raça/etnia apenas os indivíduos clinicamente doentes de Araras/Faina responderam o questionário (Tabela 1).

Ao considerar os pacientes clinicamente doentes, a análise dos dados sociodemográficos dos 18 indivíduos XPV residentes em Araras/Faina, obteve-se, a média de idade de 38,6 anos (12 a 79 anos) sendo que destes, 13 (72,2%) eram do sexo masculino. Além disso, sete (38,9%) declararam-se casados/união consensual, nove (50%) possuíam o primeiro grau incompleto e 13 (72,2 %) possuíam renda abaixo de dois salários-mínimos. Quanto à raça/etnia, oito (44,4%) declararam-se brancos, oito (44,4%) mulatos e dois (11,1%) negros.

Em relação à ocupação, oito (44,4 %) eram agricultores com média diária de exposição à luz solar de pelo menos oito horas (dados não apresentados em tabela). Os doentes apresentaram pele hiperpigmentada com a presença de lesões actínicas, descamativas e hipertróficas, além da constatação destas alterações, relataram cirurgias para retirada de tumores. Contudo, dois (11,1%) passaram por mais de 50 procedimentos cirúrgicos e possuem próteses faciais (Figura 1).



Considerando ainda os 18 participantes com XPV e residentes de Araras/Faina, 13 (72,2%), declararam que originam-se de pais cujos casamentos são consanguíneos e, 5 (27,8%) declararam não haver grau de parentesco envolvidos no casamento dos pais.

Tabela 1 - Características sócio-demográficas dos 125 participantes investigados para mutações no gene *POLH* associado com Xeroderma Pigmentosum Variante, residentes em Araras/Faina e outras regiões do Estado de Goiás, Brasil.

Características	N	%
Média de idade (anos): 39 (3 a 81)		
Faixa Etária		
< 18 anos	24	19,2
18-39	41	32,8
40-61	42	33,6
62-83	18	14,4
Sexo		
Masculino	54	43,2
Feminino	71	56,8
Raça/Etnia^a (18 pacientes XP)		
Branca	8	44,4
Mulata	8	44,4
Negra	2	11,1
Estado civil		
Solteiro	22	17,6
Casado/união consensual	66	52,8
Separado/viúvo	14	11,2
Não declarado	23	18,4
Escolaridade		
Primeiro grau incompleto	51	40,8
Primeiro grau completo	6	4,8
Segundo grau incompleto	13	10,4
Segundo grau completo	17	13,6
Superior completo	10	8
Não alfabetizados	3	2,4
Não Declarado	25	20
Renda familiar		
≤ 2 salários mínimos	101	80,8
2 a 4 salários mínimos	21	16,8
> 5 salários mínimos	3	2,4

^a Foram considerados os indivíduos doentes

O teste de genotipagem por RT-qPCR para detecção de mutações pontuais em *POLH* (alelos com mutações no intron 6, exon 8 ou intron 10) foi realizado na totalidade das amostras. Dos 29 (23,2%) indivíduos com características clínicas de XP, 20 (16%) tiveram o diagnóstico de XPV confirmado pela detecção das mutações avaliadas no gene *POLH*, e nove apesar de possuírem características clínicas compatíveis com XP, negativaram para as regiões testadas e ainda não se sabe o grupo a que pertencem.

É importante salientar que cinco (4%) indivíduos com XPV apresentaram simultaneamente mutações para intron 6 e exon 8 (XPV 6/8) denominados heterozigotos compostos (Tabela 2).

Tabela 2 – Descrição dos fenótipos e genótipos e as respectivas frequências dos 125 participantes investigados para os três alelos mutados em *POLH* (XPV).

Herança	Ausente Mutação <i>POLH</i>			Mutação <i>POLH</i>			Diagnóstico
	Intron 6	Exon 8	Intron 10	Intron 6	Exon 8	Intron 10	
Homozigoto Selvagem		48(38,4) ^a		--	--	--	Doença Ausente
Heterozigoto	--	--	--	36(28,8) ^b	12(9,6) ^b	--	Doença Ausente
Homozigoto Heterozigoto Composto	--	--	--	12(9,6)	1(0,8)	2(1,6)	Doença Presente
Genótipos a Confirmar	--	--	--	5(4,0) ^c			Doença Presente
Total				9(7,2) ^a			Doença Presente
				125(100,0)			

^a Homozigoto Selvagem testado para as três mutações; ^b Heterozigotos para a mutação apresentada e o alelo selvagem; ^c Heterozigotos compostos - mutação simultânea para intron 6 e exon 8.

Em relação aos indivíduos provenientes de Araras/Faina (114), foram investigados e para as mutações alélicas em *POLH* com padrão de herança recessivo condizentes com XPV. Destes, 12 (10,5%) pacientes foram diagnosticados como XPV 6/6, um (0,9%) como XPV 8/8; cinco (4,4%) como XPV 6/8 (heterozigotos compostos) que se comportam clinicamente como homozigoto. Além disso, nos participantes não doentes, 36 (31,6%) foram identificados com perfil XPV 6/Selvagem e 12 (10,5%) foram XPV 8/Selvagem, sendo considerados heterozigotos portadores. Os demais, 48 (42,1%) são XPV selvagem/selvagem caracterizando-os como homozigotos selvagens para as regiões analisadas.

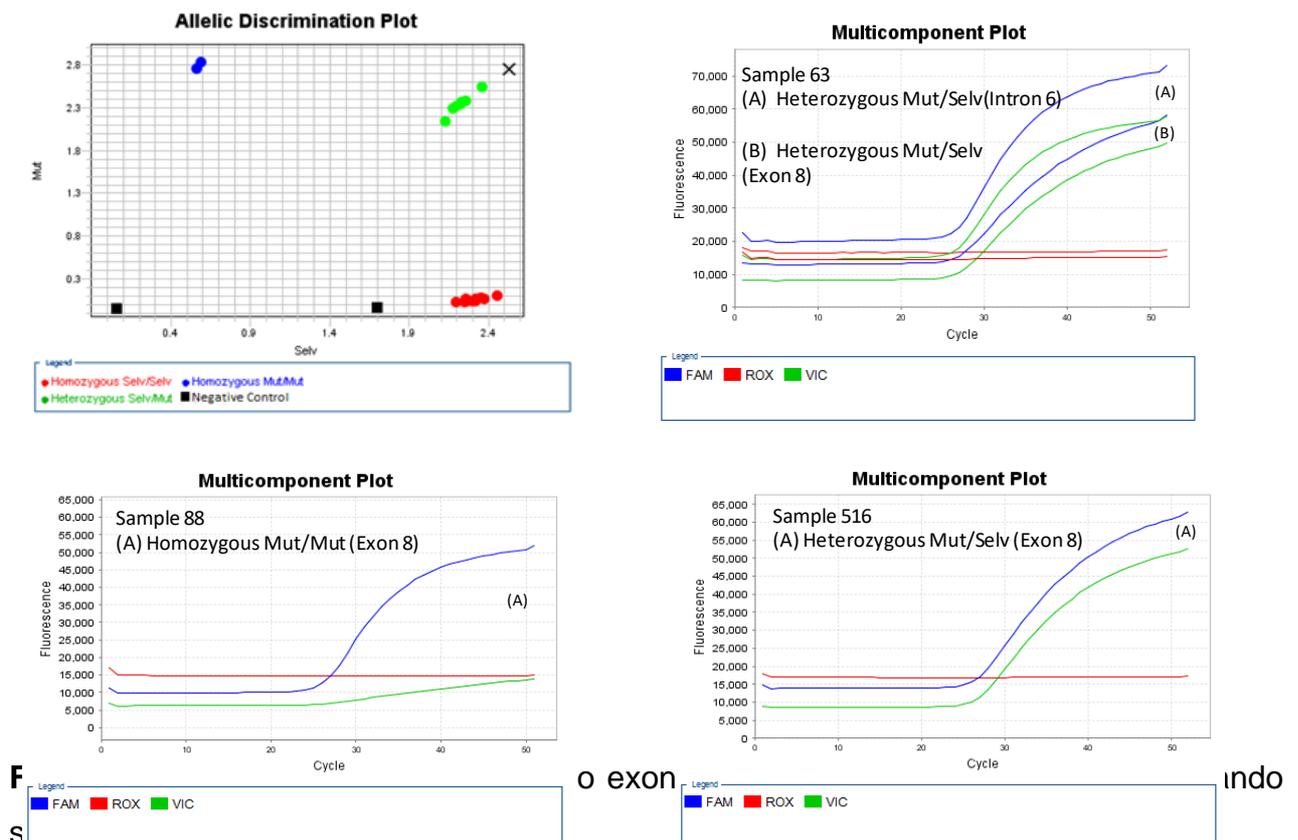
É importante notar que dos 18 pacientes clinicamente doentes, residentes em Araras/Faina e identificados como afetados pela XPV; 12 (66,7%) possuem o genótipo XPV 6/6; cinco (27,8%) XPV 6/8 e apenas um (5,6%) XPV 8/8 e, na associação dos dados de genotipagem com os sócio-demográficos (para variável denominada "Etnia", Tabela 1) observou-se que 9/12 (75%) dos participantes homozigotos (XPV 6/6) declararam-se negros/mulatos e os demais brancos; para o homozigoto (XPV 8/8), com

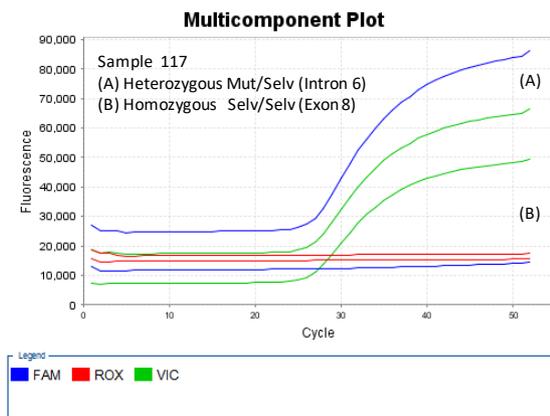
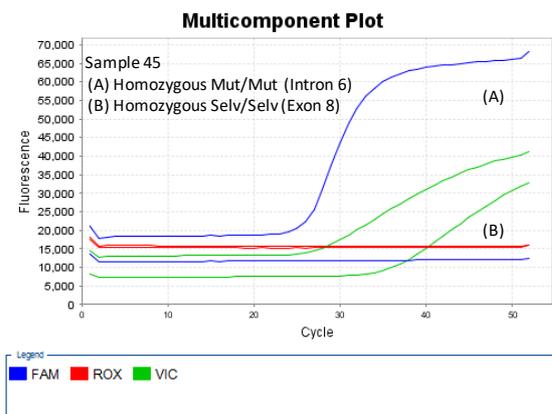
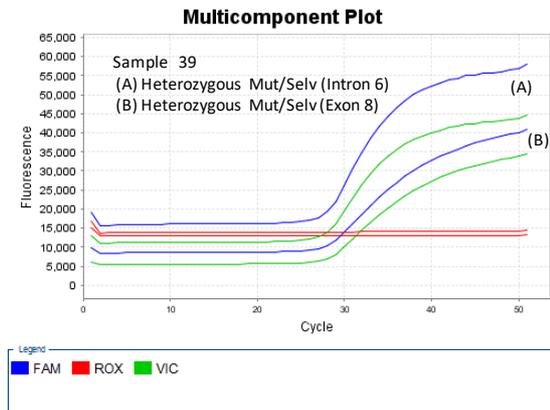
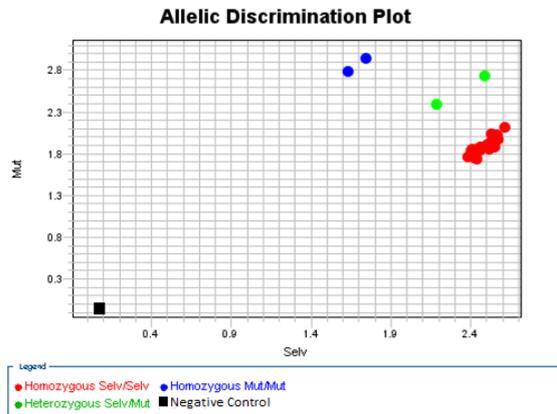
um único indivíduo, o mesmo, declarou-se caucasiano (branco), para o genótipo heterozigoto composto (XPV 6/8), 1/5 (27,8%) declarou-se mulato e os demais brancos.

Em relação à análise molecular dos 11(8,8%) pacientes que não residem ou possuem parentesco (conhecido) com os habitantes da região de Araras/Faina, todos tiveram diagnóstico clínico condizentes com XP. Entretanto, o diagnóstico molecular para XPV foi identificado em apenas dois (18,2%) deles (irmãos), residentes na cidade de Trindade, ambos com mutações no intron 10 e padrão de herança homozigoto recessivo (XPV 10/10). Para os demais, os resultados foram negativos para XPV para as regiões investigadas e, em face das diferenças entre os perfis genéticos de Araras/Faina e as demais cidades do Estado de Goiás, encaminhou-se o material biológico para o sequenciamento de nova geração (NGS), a fim de identificar a mutação responsável pelo fenótipo clínico XP desses pacientes.

As Figuras 2 e 3 ilustram os genótipos obtidos de experimentos de RT-qPCR. As sondas foram marcadas com corantes fluorescentes: VIC® (linha verde) para os genótipos selvagens e FAM® (linha Azul) para os mutados.

Figura 2 - Descriminação alélica para o intron 6 e gráficos multicomponentes utilizando sondas para os dois alelos.





Os resultados de genotipagem por RT-qPCR, obtidos de forma independente pelos centros envolvidos na pesquisa demonstram concordância a partir do cálculo do valor geral de Kappa, sendo igual a 1,0; com limite inferior de 0,826 e superior de 1,0; para um IC=95%, $\alpha=5\%$ e obteve-se um $p \leq 0,001$.

DISCUSSÃO

O diagnóstico dos alelos mutados no gene *POLH* teve por finalidade determinar a frequência desses casos de XP no âmbito regional, demonstrou a singularidade e raridade de identificar uma comunidade com inúmeros casos dessa doença, cujas frequências no povoado Araras/Faina são altíssimas; 18 casos XPV em aproximadamente 900 moradores, ou seja, 1(um) caso de XPV a cada 50 habitantes, sendo que para Goiás somente os casos de Araras/Faina representam uma frequência de 1(um) para 333.544 habitantes, contrapondo as frequências em diversos países. A considerar no estudo, os 29 casos com manifestações clínicas de XP, a frequência no estado seria de 1(um) caso para 207.027 habitantes na população do Estado de Goiás.

Ao analisar os 18 indivíduos residentes em Araras/Faina, verificou-se que a idade destes variou entre 12 e 81 anos. Sabe-se que a mutação que causa a doença (são oito grupos de complementação implicados, de XPA a XP-G, deficiência no reparo de lesões induzidas por luz solar, e o tipo variante XPV, deficiência em síntese translesão) está associada à sobrevida dos afetados pelas mutações.

Neste estudo foi confirmado que aquela comunidade apresenta dois alelos mutados diferentes do gene *POLH* (XPV) em alta frequência, sendo que mutações nesse gene resultam de fenótipos clínicos relativamente brandos, o que explica que os pacientes tenham uma sobrevida maior. As mutações nos genes que afetam pacientes XP e que levam a deficiência na via de reparo por excisão de nucleotídeos (NER), em geral, resultam em expectativa de vida menor do que 30 anos (AHMAD; HANAOKA, 2008; BHUTTO; KIRK, 2008). É curioso salientar que a longevidade de alguns pacientes dessa comunidade se observa apesar das altas intensidades de luz solar na latitude onde vivem, contrapondo as altas frequências de lesões no DNA (SCHUCH *et al.*, 2012).

Para explicar o aumento das frequências de XPV nessa comunidade, com a participação de duas diferentes mutações para o mesmo gene é necessário considerar diversos fatores diretamente correlacionados, como os geográficos pelo parcial isolamento; os históricos a partir do modelo de colonização, os sociais por meio dos casamentos consanguíneos e o impacto de possíveis efeitos fundadores na variabilidade genética presente na população desse povoado. Entretanto, esse estudo se atém apenas nas distribuições das frequências alélicas por meio de análises moleculares associadas à XPV nestes indivíduos.

O povoado está localizado a 42 quilômetros da cidade de Faina em uma região geograficamente acidentada, com estradas sem asfalto e em condições precárias, além de pontes de madeira, fatos que propiciam no período das chuvas (início de novembro a final de maio) uma dificuldade adicional em se tratando de acesso ao povoado. O possível isolamento parcial, talvez explique as dificuldades de acesso às escolas, conseqüentemente às novas tecnologias de produção, elementos que conduziram a uma baixa escolaridade e renda que, em geral, apenas propiciou o desenvolvimento da agricultura de subsistência, realidade encontrada no povoado. Adicionalmente, neste contexto é importante considerar que o acesso à saúde pública é precário, podendo dificultar ou mesmo adiar o diagnóstico e o tratamento dessa população (TAMURA *et al.*, 2010).

O outro fator preponderante para o melhor entendimento do aumento da frequência de XPV em Araras foi à descrição de que 13 (72,2%), dos 18 pacientes XP, originam-se de pais com casamentos consanguíneos, no entanto, cinco (27,8%) XPV (6/8) declararam não haver grau de parentesco envolvido no casamento dos pais. De fato, estudos para pesquisa de XP no Japão e na Índia, respectivamente, 35% e 40% dos indivíduos relataram que seus pais estavam envolvidos em casamentos consanguíneos (AHMAD; HANAOKA, 2008; BHUTTO; KIRK, 2008; INUI *et al.*, 2008; SOUFIR *et al.*, 2010).

É importante salientar que a mutação no exon 8 está ligada a pacientes cujas origens remetem à cidade de Hidrolândia e que possuem íntima relação com Araras/Faina, visto que há um paciente caucasiano com genótipo XPV (8/8), originalmente de Hidrolândia e os cinco heterozigotos compostos de Araras/Faina (XPV 6/8) relatam possuir parentes em Hidrolândia.

Na genotipagem por RT-qPCR foi possível identificar a distribuição das mutações associadas a três alelos do gene *POLH*. Em Araras/Faina, predominam apenas as mutações no intron 6 e exon 8; não apresentando outro genótipo ou quando afetados pela XPV, não negativaram para os referidos alelos analisados. Neste sentido, em Araras/Faina observou-se que todos os afetados pela XP possuem duas mutações no gene *POLH* (XPV), seja em homozigose ou heterozigose composta com possível perda de função da proteína Pol eta, propiciando deficiência em síntese translesão (MUNFORD *et al.*, submetido) e consequente aumento da instabilidade genômica que predispõem ao desenvolvimento de cânceres precoces e recorrentes, como observado nesses pacientes (BIERTÜMPFEL *et al.*, 2010; GRATCHEV *et al.*, 2003; KANNOUCHE *et al.*, 2001; MASUTANI; KUSUMOTO; *et al.*, 1999; YUASA *et al.*, 2000).

A análise molecular dos participantes permitiu identificar os genótipos presentes em Araras/Faina e discriminá-los em relação a outras regiões do Estado. Nesta amostra há 48 indivíduos que não possuem manifestações clínicas e alterações genéticas em *POLH*, essa informação tranquiliza esse grupo quanto a possibilidade de transferirem genes mutados à sua prole. Contudo, em relação indivíduos mutados, pôde-se agrupá-los segundo suas alterações moleculares e, assim, identificar o predomínio de heterozigotos com um dos dois alelos. Esses indivíduos apresentam sintomas relacionados a XP, mas potencialmente podem gerar descendentes com 25% de chance de desenvolver a XPV, quando envolvidos em casamentos com indivíduos de genótipos

com alelos mutados no mesmo gene. (INUI *et al.*, 2008; ITOH *et al.*, 2000; OPLETALOVA *et al.*, 2014; REKAYA, BEN *et al.*, 2014; TAMURA *et al.*, 2010).

A presença de dois alelos mutados para o mesmo gene é certamente um evento extremamente raro, e por isso mesmo curioso. Quais seriam as origens desses dois alelos? Duas hipóteses possíveis podem explicar esses alelos, quais sejam a origem de mutações de novo no Brasil ou a ocorrência de dois efeitos fundadores: mutação no intron 6 talvez trazida por escravos de etnia negra que trabalhavam nas extrações de ouro nos rios da região, e a mutação no exon 8 presente em caucasianos de origem europeia. É importante relatar que todos os pacientes com mutação no exon 8 alegaram ter familiares em Hidrolândia. De fato, efeitos fundadores para origem de alelos de mutações XP têm sido descritos (INUI *et al.*, 2008; OPLETALOVA *et al.*, 2014; SOUFIR *et al.*, 2010; TANIOKA *et al.*, 2007; YUASA *et al.*, 2000).

Um caso interessante é a mutação identificada no gene *XPC* cujo alelo parece ter se originado no norte da África há cerca de 1000 anos (SOUFIR *et al.*, 2010). Este alelo foi descrito em vários lugares posteriormente, incluindo na Europa, e mais recentemente foi identificado em pacientes brasileiros (LEITE *et al.*, 2009). Outro efeito fundador, para outro alelo do mesmo gene *XPC*, foi detectado em negros da ilha Maiote, localizada a leste da África, no Oceano Índico (CARTAULT *et al.*, 2011).

Existem fortes indícios de efeitos fundadores independentes para os alelos encontrados em Araras/Faina, visto que uma mutação idêntica no exon 8 foi descrita na Europa (OPLETALOVA *et al.*, 2014). Contudo, o alelo com mutação no intron 6 não foi encontrado em outros pacientes até o momento. Podemos apenas afirmar que os dois alelos mutados correspondem a eventos moleculares, sem possibilidade até o momento de determinação da temporalidade de sua ocorrência; também pouco podemos afirmar dos eventos que conduziram ao aparecimento nos pacientes residentes em Araras/Faina ou da relação estabelecida entre eles. Neste sentido, um estudo de haplótipos que permita traçar a relação dessas duas mutações, relação com alelo já descrito (no caso da mutação no exon 8) ou com etnia (no caso da mutação no intron 6) pode ajudar a responder a questão de origem dessas mutações (TAMURA *et al.*, 2010).

Na investigação genotípica de 11 participantes de diferentes localidades do Estado de Goiás as análises moleculares apontaram para perfis genéticos diferentes de Araras/Faina, porém, não exclui a possibilidade de serem XPV ou mesmo pertencerem a outros grupos de XP. Contudo, fica claro a complexidade da distribuição da XP em Goiás e a abre uma lacuna para investigar novas mutações em gene de reparo

associados a XP, fato exemplificado pelo alelo encontrado em dois irmãos afetados com mutação no intron 10 do gene *POLH*, somente possível, pela descrição em trabalhos anteriores, indicando uma provável relação familiar entre esses três pacientes. Quanto ao diagnóstico molecular dos outros nove pacientes, espera-se que análises posteriores de sequenciamento através de NGS ajudem a esclarecer melhor o perfil genético destes pacientes XP e com isso os perfis prevalentes no Estado Goiás (ORTEGA-RECALDE *et al.*, 2013; MENCK e MUNFORD, 2014).

CONCLUSÃO

As frequências de XPV no povoado de Araras/Faina se mostraram elevadas e, conseqüentemente, impactam nos casos em Goiás. O aumento da incidência de casos precoces de cânceres na população de Araras/Faina está intimamente associado com as mutações identificadas no gene *POLH*, portanto, responsáveis pela síndrome XP encontradas naquela região.

As mutações em *POLH* foram identificadas em 18 moradores de Araras/Faina que estão acometidos por XPV, envolvendo homozigoses XPV (6/6) e XPV (8/8) e, heterozigose composta XPV (6/8); eventos moleculares que alteram o transcrito e, conseqüentemente, geram proteínas pol eta truncadas devem ser responsáveis por perda da sua função em síntese translesão.

As análises por RT-qPCR confirmam a presença de diferentes genótipos responsáveis pela síndrome XPV em Goiás, sobretudo em Araras/Faina. Além disso, os pacientes apresentaram diferenças fenotípicas referentes a diferentes gravidades da doença, mesmo quando consideramos apenas a região de Araras/Faina. Além dos aspectos étnicos, que provavelmente explicam, em parte, essas diferenças clínicas, uma correlação genótipo/fenótipo poderá explicar este fato. É vital aos participantes do estudo que futuras intervenções em saúde e as ações preventivas considerem os dados moleculares e apoiem aquelas famílias, de modo a minimizar o sofrimento daquela população.

Nosso trabalho indica que, como esperado, os casamentos consanguíneos combinado com o isolamento geográfico parcial são os fatores mais concretos que explicam a alta frequência de pacientes XPV em Araras/Faina. Contudo, o surgimento das mutações ainda é uma incógnita, entretanto, há dados que sugerem a associação com dois efeitos fundadores.

Não está descartada a possibilidade de ocorrência de tipos diferentes de XP em Goiás. Foram identificados três diferentes mutações para o mesmo gene, mas as análises moleculares do genoma dos nove pacientes não diagnosticados poderão esclarecer melhor este fato.

Finalmente, o aconselhamento genético é um fator preponderante para auxiliar as novas famílias no povoado de Araras/Faina e pode contribuir para a prevenção da doença em indivíduos que possam ser identificados precocemente com a síndrome. Nosso trabalho permitiu a identificação de heterozigotos (portadores) e sem clínica aparente, o que apoia as famílias nesse sentido. Em suma, espera-se que este estudo possa auxiliar motivar novos estudo em diversas áreas correlatas como a epidemiologia, as análises das características clínicas, os trabalho de Qualidade de vida, os levantamentos históricos com possíveis análises da colonização da região de Araras/Faina, as sociais, enfim as áreas correlatas. Tudo para melhorar a qualidade de vida dos pacientes com XP e familiares nas regiões estudadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMAD, S.; HANAOKA, F. **Molecular mechanisms of xeroderma pigmentosum**. Austin, Texas, USA: Springer Science - Landes Bioscience, 2008. p. 1–166

BHUTTO, A.M.; KIRK, S.H. Population Distribution of Xeroderma Pigmentosum. In: AHMAD, S. I. FUMIO HANAOKA (Ed.). . **Molecular mechanisms of Xeroderma Pigmentosum**. 637. ed. New york: Science, Springer, 2008. p. 138–143.

BIERTÜMPFEL, C.; ZHAO, Y.; KONDO, Y.; *et al.* Structure and mechanism of human DNA polymerase eta. **Nature**, v. 465, n. 7301, p. 1044–8, 24 jun 2010.

CARTAULT, F.; NAVA, C.; MALBRUNOT, A.C.; *et al.* A new XPC gene splicing mutation has lead to the highest worldwide prevalence of xeroderma pigmentosum in black Mahori patients. **DNA Repair**, v. 10, n. 6, p. 577–585, 10 jun 2011.

CHAIBUB, S. Alta incidência de Xeroderma Pigmentosum em comunidade no interior de Goiás; High incidence of xeroderma pigmentosum in a countryside community in the state. **Surg. cosmet. dermatol.(Impr.)**, v. 3, n. 1, p. 81–83, 2011.

FRIEDBERG, E.C.; LEHMANN, A.R.; FUCHS, R.P.P. **Trading Places: How do DNA polymerases switch during translesion DNA synthesis?**. **Molecular Cell**. [S.l: s.n.]. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15916957>>. Acesso em: 5 abr. 2014. , 27 maio 2005

GRATCHEV, A.; STREIN, P.; UTIKAL, J.; SERGIJ, G. Molecular genetics of Xeroderma pigmentosum variant. **Experimental dermatology**, v. 12, n. 5, p. 529–36, out 2003.

INUI, H.; OH, K.; NADEM, C.; *et al.* Xeroderma pigmentosum-variant patients from America, Europe, and Asia. **The Journal of investigative dermatology**, v. 128, n. 8, p. 2055–2068, ago 2008.

ITOH, T.; LINN, S.; KAMIDE, R.; *et al.* Xeroderma pigmentosum variant heterozygotes show reduced levels of recovery of replicative DNA synthesis in the presence of caffeine after ultraviolet irradiation. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 115, n. 6, p. 981–985, dez 2000.

JOHNSON, R.E. hRAD30 Mutations in the Variant Form of Xeroderma Pigmentosum. **Science**, v. 285, n. 5425, p. 263–265, 9 jul 1999.

KANNOUCHE, P.; BROUGHTON, B.C.; VOLKER, M.; *et al.* Domain structure, localization, and function of DNA polymerase η , defective in xeroderma pigmentosum variant cells. **Genes and Development**, v. 15, p. 158–172, 2001.

KLEIJER, W.J.; LAUGEL, V.; BERNEBURG, M.; *et al.* Incidence of DNA repair deficiency disorders in western Europe: Xeroderma pigmentosum, Cockayne syndrome and trichothiodystrophy. **DNA Repair**, v. 7, n. 5, p. 744–750, 3 maio 2008.

LEHMANN, A.R.; MCGIBBON, D.; STEFANINI, M. Xeroderma pigmentosum. **Orphanet journal of rare diseases**, v. 6, n. 1, p. 70, jan 2011.

LEITE, R.A.; MARCHETTO, M.C.; MUOTRI, A.R.; *et al.* **Identification of XP complementation groups by recombinant adenovirus carrying DNA repair genes. The Journal of investigative dermatology.** [S.l.: s.n.]. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18685619>>. Acesso em: 1 out. 2014. , fev 2009

MASUTANI, C.; ARAKI, M.; YAMADA, A.; *et al.* Xeroderma pigmentosum variant (XP-V) correcting protein from HeLa cells has a thymine dimer bypass DNA polymerase activity. **The EMBO journal**, v. 18, n. 12, p. 3491–501, 15 jun 1999.

MASUTANI, C.; KUSUMOTO, R.; YAMADA, A.; *et al.* The XPV (xeroderma pigmentosum variant) gene encodes human DNA polymerase η . **Nature**, v. 399, n. 6737, p. 700–4, 17 jun 1999.

MENCK, C.F.M.; MUNFORD, V. DNA repair diseases: What do they tell us about cancer and aging? **Genetics and Molecular Biology**, v. 37, p. 220–233, 2014.

OPLETALOVA, K.; BOURILLON, A.; YANG, W.; *et al.* Correlation of Phenotype/Genotype in a Cohort of 23 Xeroderma Pigmentosum-Variant Patients Reveals 12 New Disease-Causing POLH Mutations. **Human Mutation**, v. 35, n. 1, p. 117–128, jan 2014.

ORTEGA-RECALDE, O.; VERGARA, J.I.; FONSECA, D.J.; *et al.* Whole-Exome

Sequencing Enables Rapid Determination of Xeroderma Pigmentosum Molecular Etiology. **PLoS ONE**, v. 8, n. 6, p. 8–11, 2013.

REKAYA, M. BEN; LAROUSSE, N.; MESSAOUD, O.; *et al.* A founder large deletion mutation in xeroderma pigmentosum-variant form in Tunisia: Implication for molecular diagnosis and therapy. **BioMed Research International**, v. 2014, 2014.

SCHUCH, A.P.; YAGURA, T.; MAKITA, K.; *et al.* DNA damage profiles induced by sunlight at different latitudes. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 53, p. 198–206, 2012.

SOUFIR, N.; GED, C.; BOURILLON, A.; *et al.* A prevalent mutation with founder effect in xeroderma pigmentosum group C from north Africa. **The Journal of investigative dermatology**, v. 130, n. 6, p. 1537–1542, jun 2010.

TAMURA, D.; DIGIOVANNA, J.J.; KRAEMER, K.H. Founder mutations in xeroderma pigmentosum. **The Journal of investigative dermatology**, v. 130, n. 6, p. 1491–1493, jun 2010.

TANIOKA, M.; MASAKI, T.; ONO, R.; *et al.* Molecular analysis of DNA polymerase eta gene in Japanese patients diagnosed as xeroderma pigmentosum variant type. **The Journal of investigative dermatology**, v. 127, n. 7, p. 1745–51, jul 2007.

YUASA, M.; MASUTANI, C.; EKI, T.; HANAOKA, F. Genomic structure, chromosomal localization and identification of mutations in the xeroderma pigmentosum variant (XPV) gene. **Oncogene**, v. 19, n. July, p. 4721–4728, 2000.

ARTIGO 2

QUALIDADE DE VIDA DOS PACIENTES E FAMILIARES COM XERODERMA PIGMENTOSUM VARIANTE NO ESTADO DE GOIÁS

Rafael Souto^{1,2,3,4,5}; Sulamita Costa Chaibub²; Lígia Pereira Castro⁶; Veridiana Munford⁶; Carlos Frederico Martins Menck^{1,6}; João Bosco Siqueira Júnior¹.

1. Universidade Federal de Goiás/Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública – UFG/IPTSP
2. Secretaria de Estado da Saúde de Goiás/SES-GO
3. Pontifícia Universidade Católica de Goiás/PUC-GO
4. Laboratório de Oncogenética do Hospital Araújo Jorge/ LO-HAJ
5. Universidade Federal de Goiás/ Laboratório de Patologia da Faculdade de Odontologia
6. Depto. De Microbiologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo/USP

Contato: Rua 01, nº 800, Ap. 901, Ed. Minerva, Setor Oeste, CEP: 74115040, Goiânia, Goiás.

E-mail: rsouto.775@gmail.com

RESUMO

A Xeroderma Pigmentosum Variante (XPV) é uma doença autossômica recessiva que envolve mutações no gene *POLH* (DNA polimerase eta), com predisposição ao surgimento de cânceres precoces. A XPV é uma doença extremamente rara, porém, no povoado de Araras/Faina, em Goiás, há uma alta prevalência da doença. Este estudo teve por objetivo descrever os aspectos sociodemográfico e de a Qualidade de Vida dos pacientes e familiares com suspeita clínica de Xeroderma Pigmentosum que residem em Araras/Faina e cidades circunvizinhas, devidamente identificadas após análise genotípica da doença por Real Time PCR (RT-qPCR) em cada participante. Os resultados obtidos previamente foram combinados com os dados de qualidade de vida (WHOQOL-Bref). Assim, na avaliação da qualidade de vida considerando os aspectos globais, bem como, as estratificações segundo genótipos e fenótipos, os resultados apontaram uma diferença estatística capaz de demonstrar o impacto de XP na diminuição da qualidade de vida, sobretudo dos doentes. Os cânceres de pele, olhos e órgãos internos provocados pelas mutações em *POLH* nos doentes residentes em Araras/Faina impactam negativamente na qualidade de vida, entretanto, é importante novos estudos para fortalecer o entendimento das relações moleculares com os aspectos da qualidade de vida.

Palavras Chave : Xeroderma Pigmentosum; Xeroderma Pigmentosum Variant Type; DNA-Repair - deficiency disorders; Quality of life.

INTRODUÇÃO

A Xeroderma Pigmentosum Variante é uma doença autossômica recessiva com presença de mutações no gene *POLH* (localizado no cromossoma 6p21.1) que codifica a enzima DNA Polimerase η (pol eta), cuja função é de realizar a síntese de translesões, ou seja, eliminação de lesões no DNA que não foram reparadas pelas vias convencionais do reparo, permitindo assim a correta replicação do DNA durante a fase S do ciclo celular. Contudo, esta função está prejudicada nos afetados pela XPV, entretanto, geralmente estes indivíduos apresentam sua capacidade de realizar a atividade de reparo pela via de excisão de nucleotídeos (NER) íntegra, diferente dos demais tipos de Xeroderma Pigmentosum (XP A–G) (JOHNSON, 1999; MASUTANI; ARAKI; et al., 1999; MASUTANI; KUSUMOTO; et al., 1999).

As mutações em *POLH* conduzem à desorganização estrutural e perda da função de pol η , favorecendo o acúmulo de mutações que derivam da exposição à radiação ultravioleta do sol, como por exemplo, 6-4 fotoproduto e os dímeros de pirimidinas (timina ciclobutano). As deficiências na capacidade de replicação do DNA lesado tornam os afetados pela XPV, altamente sensíveis à luz solar, pois predispõem estes indivíduos ao desenvolvimento de cânceres precoces e recorrentes. Além disso, estes pacientes tendem a tumores oculares, de órgãos internos, e de pele com uma frequência 1000 vezes maior quando comparado a um indivíduo sem a mutação (FRIEDBERG et al., 2005; JOHNSON, 1999; MASUTANI; ARAKI; et al., 1999; MASUTANI; KUSUMOTO; et al., 1999).

Neste contexto, em face ao desenvolvimento de múltiplos tumores, os pacientes XP (A-G) e XPV, podem apresentar mudanças significativas na qualidade de vida e na sobrevivência dos doentes (HAWKINS et al., 2012; LAURENTE et al., 2010). Em geral, os afetados pela XP passam por inúmeras cirurgias para retirada de tumores nas regiões expostas à luz solar. Essas cirurgias podem conduzir a mutilações, levando os pacientes a eventualmente utilizarem próteses faciais, criando uma imagem desfigurada (CLEAVER et al., 2009; PRADHAN et al., 2003; RAMKUMAR et al., 2011; SLOR et al., 2000; TAMHANKAR et al., 2015). Assim, a doença passa a afetar não só as características físicas, mas também a psíquica e social, pois, em geral esses indivíduos podem se excluir ou são excluídos do convívio em sociedade, dados estes relatados nos estudos de HAWKINS et al. (2012) e LAURENTE et al. (2010).

Ao visitar o povoado de Araras/Faina e acompanhar as descrições clínicas

dos pacientes, realizada por CHAIBUB (2011), surgiu a hipótese que os pacientes afetados pela XP poderiam apresentar uma possível diminuição da qualidade de vida, o que motivou a realização deste trabalho. Além disso, espera-se que este possa auxiliar na implantação de políticas públicas voltadas aos pacientes com XP, na ampliação de estudos para esta população e até influenciar o estudo de outras doenças raras. O estudo teve por objetivo avaliar os aspectos sociodemográfico e de Qualidade de Vida dos pacientes e familiares com suspeita clínica de Xeroderma Pigmentosum que residem em Araras/Faina e cidades circunvizinhas, após a identificação genotípica da doença por Real Time PCR (RT-qPCR) em cada participante.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado sob uma abordagem descritiva transversal dos casos de Xeroderma Pigmentosum e familiares residentes no Distrito de Araras/Faina e cidades circunvizinhas, no Estado de Goiás. Foi avaliado a qualidade de vida e os possíveis impactos decorrentes dos cânceres induzidos pela exposição à radiação solar (UV) dos participantes com mutações no gene *POLH* no período de setembro de 2012 a dezembro de 2014, com parceria entre a Universidade de São Paulo e a Universidade Federal de Goiás.

O referido estudo e seus anexos foram aprovados pelo Comitê de Ética do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás sob o protocolo nº 133/12.

População do Estudo

Para o cálculo da amostra do estudo, foi utilizada a prevalência da doença descrita nos Estados Unidos da América (visto que no Brasil esse dado é desconhecido) sendo um pacientes XP por 250.000 habitantes, utilizou um Intervalo de Confiança (IC) de 95% e $\alpha=5\%$ e, $p\leq 0,05$. A população utilizada para compor o cálculo amostral no Estado de Goiás segundo IBGE para o ano de 2010, foi de 6003.788 habitantes. O resultado apontou que 24 indivíduos afetados pela XP deveriam compor a amostra caso o estudo abrangesse todo o estado. Contudo, foi dada ênfase à população de Araras/Faina que era de aproximadamente 900 habitantes.

Na população foram identificados potencialmente 146 indivíduos, entre clinicamente doentes e familiares provenientes do povoado de Araras/Faina e da cidade

de Trindade, entretanto, apenas 88 indivíduos aceitaram participar deste estudo. Em seguida, foi realizada a anamnese e análise clínica, segundo as diretrizes da Sociedade Brasileira de Dermatologia, onde foram identificados 15 participantes clinicamente compatíveis com Xeroderma Pigmentosum. Destes, 13 são residentes de Araras/Faina, e 2 em Trindade (identificados como de outras localidades do Estado de Goiás).

Como critério de inclusão, os participantes deveriam possuir 18 anos ou mais, para que pudessem assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), de possuírem grau de parentesco entre os doentes e, além disso, nos casos suspeitos de XP, possuírem as características clínicas (hiperpigmentação na pele, cânceres precoces e recorrentes de pele e lesões oculares evidentes) descritas por CHAIBUB (2011). Foram excluídos os indivíduos com prejuízo cognitivo, os que negaram a participar das análises moleculares por meio da RT-qPCR (devido a inviabilidade de associar a qualidade de vida com os dados moleculares) e aqueles que não assinaram o TCLE.

Coleta de dados e grupos de comparações

Aos participantes foram aplicados dois questionários, um para o levantamento de dados sociodemográficos e o outro para a avaliação da percepção da Qualidade de Vida, segundo a Organização Mundial de Saúde (WHOQOL - Bref). As informações foram coletadas através de questionários pré-codificados, onde foram consideradas variáveis, a) aspectos sócio-demográfico como idade, sexo, cor (etnia), estado civil, nível de escolaridade e renda familiar; b) WHOQOL-Bref e dados moleculares.

Estes dados moleculares advém de SOUTO et al. (ARTIGO 1 - a ser submetido) e MUNFORD et al. (submetido - Anexo). Segundo SOUTO et al. (ARTIGO 1 - a ser submetido), foram coletados 5 mL de sangue periférico (BD Vacutainer® - EDTA K2) e 2mL de saliva utilizando o kit da DNA Genotek (Oragene DNA – OG 500) para extração de DNA. Em seguida, foi realizado o teste de *Real Time* (RT-qPCR) para investigação das mutações específicas em *POLH* [(transição de G para A) no primeiro nucleotídeo posterior ao exon 6 (c.768+1 G>A), na região intrônica aceptora de *Splicing*, (denominada aqui de mutação no intron 6); no exon 8 (transição de C para T) no nucleotídeo na posição c.908 C>T [p.(Arg303*)], produzindo um códon de parada durante a tradução da enzima e a (transição de G para A) no nucleotídeo na posição c.1249-1 G>A do intron que antecede o exon 11 do gene *POLH*].

Os resultados moleculares de SOUTO et al. (ARTIGO 1 - a ser submetido) dos 88 participantes sugeriram os seguintes perfis, oito (9,1 %) pacientes XPV 6/6, um (1,1%) foi XPV 8/8; quatro (4,5%) XPV 6/8 foram heterozigotos compostos (cl clinicamente comporta-se como homozigoto). Além disso, nos participantes não doentes (73), 28 (31,8%) foram considerados Heterozigotos com perfil XPV 6/Selvagem, 10 (11,3%) foram XPV 8/Selvagem e 35 (40%) XPV selvagem/selvagem caracterizando-os com homozigotos selvagens tanto para o intron 6 quanto para o exon 8.

O teste de genotipagem por RT-qPCR para detecção de mutações pontuais em *POLH* identificou em 15 (17,0%) pacientes que apresentavam características clínicas de XP, e mutações condizentes com XPV. Estes 15 considerados doentes, dois (2,2%) eram residentes na cidade de Trindade sem qualquer parentesco com os pacientes da região de Araras/Faina, e foram diagnosticados com Xeroderma Pigmentosum Variante com mutações no intron 10 e padrão de herança homozigoto recessivo (XPV 10/10).

A partir dos resultados obtidos foi possível separar dos participantes em três grupos; o primeiro, Desfecho/Doentes (composto por homozigotos [XPV 6/6; XPV 8/8 e XPV 10/10] e heterozigotos compostos [XPV 6/8]); o segundo, Heterozigoto/Não doente (XPV 6/selvagem; XPV8/selvagem) e, por último, Homozigoto Selvagem/Não doente (XPV Selv/Selv).

Qualidade de Vida (WHOQOL-Bref)

O instrumento utilizado para avaliar a qualidade de vida foi o questionário *World Health Organization Quality of Life (WHOQOLBREF)*, desenvolvido pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e validado no Brasil por FLECK et al. (2008). Composto por 26 perguntas, duas questões gerais de qualidade de vida – a primeira referiu-se à autopercepção da qualidade de vida e a outra sobre a satisfação com a saúde. As demais questões estavam distribuídas em quatro domínios: físico, psicológico, relações sociais e meio ambiente. Os domínios são representados por facetas e suas perguntas seguem uma escala de respostas do tipo Likert (1 a 5), semelhantes a uma escala de resposta psicométrica, habitualmente utilizada em questionários de pesquisas de opinião.

Nessa escala foi solicitado aos entrevistados que indicassem o seu grau de concordância ou discordância com a informação que estava sendo medida. Atribuiu valores numéricos e/ou sinais às respostas, com intuito de refletir a força e a direção da

reação do entrevistado às declarações. As concordâncias devem receber valores positivos ou altos, e as declarações das quais discordavam receberam valores negativos ou baixos.

A pontuação total das respostas de cada respondente foi dada pela somatória das pontuações obtidas para cada afirmação (Backer, 1995). O valor mínimo dos escores de cada domínio do WHOQOL-Bref foi zero e o máximo 100. O escore de cada domínio foi obtido em uma escala positiva, ou seja, quanto mais alto o escore, melhor a qualidade de vida naquele domínio (GROUP *et al.*, 1998; FLECK *et al.*, 2000; S. CRUZ FUINI, R. SOUTO, G. FRANCISCO AMARAL, 2013).

A escolha do WHOQOL-Bref como instrumento de avaliação da qualidade de vida dos pacientes com suspeita clínica de XPV teve como base à robustez do instrumento, às referências mundiais em sua utilização, a tradução e validação do instrumento por pesquisadores brasileiros, por ser um instrumento de livre utilização (sem ônus), por possuir grupos especializados capaz de oferecer suporte adequado em sua utilização e análise, e por não haver instrumentos específicos para doenças raras apesar de haver instrumento específico para alterações dermatológicas.

Análise da Qualidade de vida e Estatística

Para as análises estatísticas construiu-se uma base de dados por meio do IBM-SPSS-v.21 com variáveis sociodemográficas, moleculares e contendo os dados do WHOQOL-Bref, possibilitando assim, a análise descritiva total, a determinação da frequência percentual dos perfis genéticos e dos *scores* estratificados da Qualidade de Vida (por meio da sintaxe do WHOQOL-Bref), além do teste de Kolmogorov/Smirnov (K-S) para avaliar a normalidade dos dados e proceder as análises comparativas a exemplo do Teste t - *Student* e ANOVA. Foi considerado como nível de significância o valor de IC=95%, $\alpha=5\%$ e, $p\leq 0,05$.

RESULTADO

A análise dos dados sociodemográficos dos 88 participantes evidenciou que a média da idade foi de 45 anos, no grupo Desfecho/Doentes, sete (46,7%) estavam na faixa etária de 29-39 anos, 10 (66,7%) eram do sexo masculino, sete (46,6%) eram mulatos, oito (53,4%) eram casados/união consensual e estável, oito (53,3%) possuíam

primeiro grau incompleto e 9 (60%) recebiam ≤ 2 salários mínimos. As características dos demais grupos estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1 – Características sócio-demográficas dos 88 participantes investigados para mutações no gene *POLH* associado com Xeroderma Pigmentosum Variante, residentes em Araras/Faina e outras regiões do Estado de Goiás, Brasil.

Características								
Média de idade (anos): 45 (18 a 73)	Desfecho (Doentes)			Homozigoto (Não doentes)			Heterozigotos (Normais)	
	N	%	Valor p	N	%	Valor p	N	%
Faixa Etária								
18-28	1	6,7		5	14,3		8	21,1
29-39	7	46,7		7	20		7	18,4
40-50	1	6,7	0,5	7	20	0,5	9	23,7
51-61	1	6,7		10	28,6		7	18,4
62-72	3	20		5	14,3		5	13,2
73-83	2	13,3		1	2,9		2	5,3
Sexo								
Masculino	10	66,7	0,5	7	20	0,5	22	57,9
Feminino	5	33,7		28	80		16	42,1
Raça/Etnia^a (15 pacientes XP)								
Branca	6	40		*	*		*	*
Mulata	7	46,6		*	*		*	*
Negra	2	13,4		*	*		*	*
Estado civil								
Solteiro	5	33,2		4	11,4		4	10,5
Casado/união consensual e estável	8	53,4	0,5	27	77,2	0,5	28	73,7
Separado/viúvo/divorciado	2	13,4		4	11,4		6	15,8
Escolaridade								
Primeiro grau incompleto	8	53,3		17	48,6		19	50
Primeiro grau completo	1	6,7		1	2,9		2	5,3
Segundo grau incompleto	2	13,3	0,5	3	8,6	0,5	6	15,8
Segundo grau completo	3	20		7	20		6	15,8
Superior completo	1	6,7		5	14,3		4	10,5
Não alfabetizados	0	0		2	5,7		1	2,6
Renda familiar								
≤ 2 salários mínimos	9	60		28	80		29	76,3
2 a 4 salários mínimos	5	33	0,5	5	14,3	0,5	9	23,7
> 5 salários mínimos	1	6,7		2	5,7		0	0

^a Foram considerados os indivíduos doentes; * Dados não coletados, Valor p: *Student Test t*

As análises entre o grupo Desfecho/Doente comparado com os demais grupos, considerando os scores de qualidade de vida dos indivíduos que possuíam entre

18-28 anos em relação aos maiores de 40 anos, quando da utilização do teste T (*Student's*) unicaudal para amostras independentes, indicou um $p \leq 0,01$ para o domínio psicológico; um $p \leq 0,03$ para o domínio físico na variável Sexo e um $p \leq 0,01$ para o meio ambiente na variável Renda, (Tabela 2).

Tabela 2 – Comparação dos grupos utilizando variáveis descritivas para os domínios do WHOQOL-Bref.

Grupos Comparados com Desfecho/Doente	Variáveis Comparadas	N	Média	Domínios Significantes	Valor p
Faixa Etária					
Heterozigoto/não doentes e Homozigoto Selvagem/não doentes	18 - 28 anos	14	64,9	Psicológico	0,01
	40 - 50 anos	17	75,0		
Sexo					
Heterozigoto/não doentes e Homozigoto Selvagem/não doentes	Masculino	39	70,7	Físico	0,03
	Feminino	49	63,7		
Renda					
Heterozigoto/não doentes e Homozigoto Selvagem/não doentes	Até 2 salários	66	62,3	Meio Ambiente	0,01
	de 2 a 4 salários	19	54		

Clinicamente, os pacientes doentes apresentaram pele hiperpigmentada com presença de lesões actínicas, descamativas e hipertróficas, além da constatação destas alterações relataram inúmeras cirurgias para retirada de tumores. Contudo, dois (13,4%) passaram por mais de 50 procedimentos cirúrgicos e possuíam próteses faciais (Figura 1).

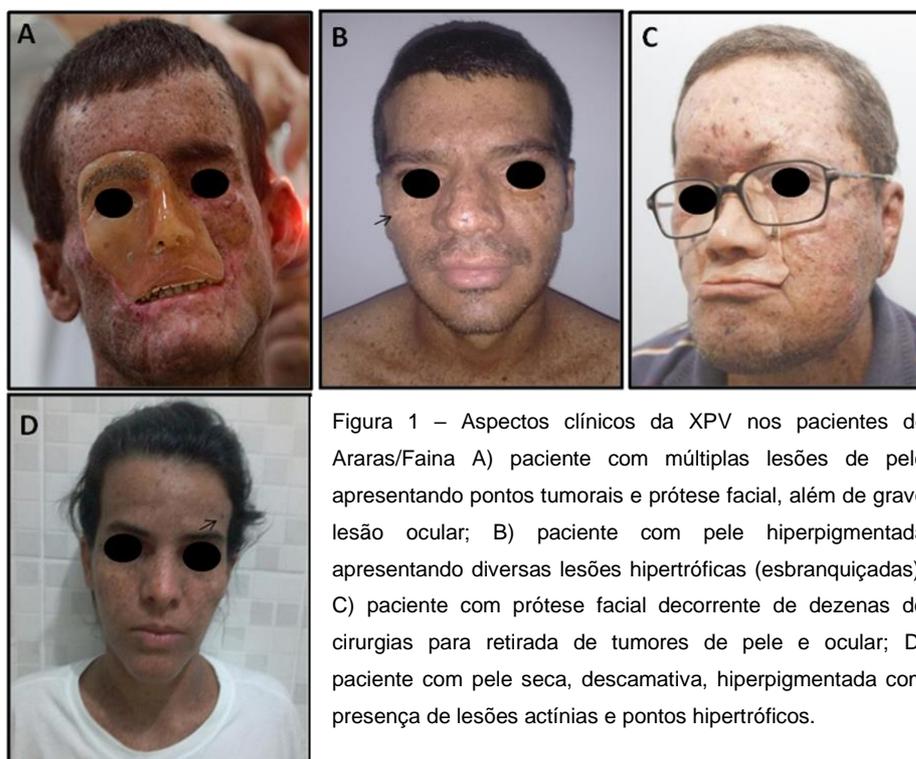


Figura 1 – Aspectos clínicos da XPV nos pacientes de Araras/Faina A) paciente com múltiplas lesões de pele apresentando pontos tumorais e prótese facial, além de grave lesão ocular; B) paciente com pele hiperpigmentada apresentando diversas lesões hipertróficas (esbranquiçadas); C) paciente com prótese facial decorrente de dezenas de cirurgias para retirada de tumores de pele e ocular; D) paciente com pele seca, descamativa, hiperpigmentada com presença de lesões actínicas e pontos hipertróficos.

Em relação ao grupo Desfecho/Doentes e as questões genéricas do WHOQOL-BREF foi observada, na primeira questão – em que os indivíduos avaliaram a própria qualidade de vida – 53,3% como “boa”; 13,3% “muito boa”; e 33,3% responderam como “nem ruim, nem boa”, Tabela 3. Quanto à segunda questão, que mensura a satisfação dos sujeitos em relação à própria saúde, 46,7% disseram estar “satisfeitos”; 0,0% “muito satisfeitos”; e 6,7% consideravam-se “insatisfeitos”. O restante, 46,7%, disse estar “nem satisfeito, nem insatisfeito”. Os demais grupos de comparações estão descritos na Tabela 4.

Tabela 3 – Descrição das respostas da primeira questão do WHOQOL-Bref em que os participantes avaliaram a própria qualidade de vida.

	Desfecho/Doente	Homozigotos Selvagem (não doentes)	Heterozigotos (não doentes)
Categorização	N(%)	N(%)	N(%)
ruim	0(0%)	1(2,9%)	0(0%)
nem ruim nem boa	5(33,3%)	16(45,7%)	9(23,7%)
boa	8(53,3%)	15(42,8%)	25(65,8%)
muito boa	2(13,3%)	3(8,6%)	4(10,5%)
Total	15(100%)	35(100%)	38(100%)

Tabela 4 – Descrição das respostas da segunda questão do WHOQOL-Bref em que os participantes descrevem a satisfação em relação à própria saúde.

	Desfecho/Doente	Homozigotos Selvagem (não doentes)	Heterozigotos (não doentes)
Categorização	N(%)	N(%)	N(%)
insatisfeito	1(6,7%)	5(14,3%)	4(10,5%)
nem satisfeito nem insatisfeito	7(46,7%)	15(42,9%)	13(34,2%)
satisfeito	7(46,7%)	11(31,4%)	17(44,7%)
muito satisfeito	0(0%)	4(11,4%)	4(10,5%)
Total	15(100%)	35(100%)	38(100%)

Em relação aos *scores* de Qualidade de Vida, para os doentes (A), observou os menores valores para os domínios físico e meio ambiente, considerando, respectivamente, 60,8 % e 56,6%. Para os não doentes -, heterozigotos (B), verificou-se 70,1% no domínio psicológico e 61,7% no meio ambiente. Já para os não doentes-

homozigotos (C), 64,5% e 60,7% para físico e meio ambiente (Tabela 4). Contudo, a medida do intervalo de variação (subtração entre os domínios dos grupos [A menos B e A menos C]) apontaram para uma diferença de variação maior entre os domínios Físico, Relações Sociais e Meio Ambiente (Tabela 5).

A Análise de Variância (ANOVA), quando da ponderação entre os scores de qualidade vida nos grupos de comparações, demonstraram significância para as os domínios Físico ($p \leq 0,05$) e Relação Social ($p \leq 0,03$).

Tabela 5 – Descrição Percentual dos Scores de Qualidade de Vida, considerando os Genótipos para XPV

Domínios	Percentual dos Scores em Qualidade de Vida Considerando os Genótipos					
	XPV 6/6;8/8;10/10 e XPV 6/8 (A)	Int. Var AeB	XPV 6/selv; XPV 8/selv (B)	Int. Var AeC	XPV selv/selv (C)	
Físico	60,8	9,90	70,7	3,7	64,5	
Psicológico	66,9	3,20	70,1	1,8	68,7	
Relação Social	68,3	8,20	76,5	3,6	71,9	
Meio Ambiente	56,6	5,10	61,7	4,1	60,7	

(A) Desfecho/Doentes; (B) heterozigotos/não doentes; (C) homozigotos selvagens/não doentes; Int. Var: Intervalo de Variação

Na subestratificação, (observando as respostas de cada domínio) a ANOVA demonstrou significância para o domínio Físico e Relação Social segundo dados apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 – Anova na comparação dos grupos utilizando as respostas em cada domínio do WHOQOL-Bref.

Domínios e Respostas		Soma dos Quadrados	df	Quadrado Médio	F	Sig.
Domínio Físico						
Em que medida você acha que sua dor (física) impede você de fazer o que você precisa?	Entre Grupos	9,098	2	4,549	3,593	,032
	Nos grupos	107,618	85	1,266		
	Total	116,716	87			
O quanto você precisa de algum tratamento médico para levar sua vida diária?	Entre Grupos	8,506	2	4,253	3,333	,040
	Nos grupos	108,482	85	1,276		
	Total	116,989	87			
Domínio Relações Sociais						
Quão satisfeito(a) você está com sua vida sexual?	Entre Grupos	10,430	2	5,215	4,910	,010
	Nos grupos	89,225	84	1,062		

Total	99,655	86
-------	--------	----

Grupos comparados: (A) Desfecho/Doentes; (B) heterozigotos/não doentes; (C) homozigotos selvagens/não doentes

DISCUSSÃO

Analisado as características sociodemográficas e estabelecendo a comparação entre os dados dos grupos Desfecho/Doente com os demais grupos, para as variáveis, faixa etária, sexo, raça/etnia, estado civil, escolaridade e renda familiar os resultados não apresentaram diferenças significativas. Contudo, é interessante destacar que foram observados pacientes XPV com idade acima de 70 anos. Este fato é raro em se tratando desta doença, cuja expectativa de vida é baixa, em torno de 30 anos de idade. Isto talvez esteja associado à presença de fenótipos mais brandos nos pacientes XPV do que naqueles com XP clássicos (deficiência no sistema de reparo por excisão de nucleotídeos (NER) [AHMAD; HANAOKA, 2008; BHUTTO; KIRK, 2008].

Apesar da XPV ser descrita como branda esta ideia deve ser considerada com parcimônia, pois as repercussões clínicas da doença são severas, multilantes e por vez letal.

Em uma análise inicial, com base apenas nos aspectos clínicos dos pacientes doentes e residentes em Araras/Faina, foram observadas inúmeras alterações dermatológicas, cânceres e mutilações. Diante deste cenário, considerou-se uma hipótese de qualidade de vida muito ruim, influenciada por todos esses aspectos. Contudo, considerando o aspecto global e os respectivos domínios do WHOQOL-Bref, essa hipótese foi desconstruída, pois na primeira questão, 66,6% dos doentes acometido por XPV avaliaram a própria qualidade de vida como boa a muito boa. Já, na segunda questão, onde descrevem a satisfação em relação à própria saúde, 46,7% se declararão satisfeitos e 46,7% nem satisfeito nem insatisfeito.

Apesar da gravidade da XPV e os possíveis impactos na QV dos doentes e familiares, a médias dos scores de QV obtidas para cada grupo de comparação foram relativamente altos quando comparados com estudos de outras doenças raras, a exemplo: Síndrome de Tourette, doenças de Wilson's e Talassemia Maior (JALENQUES et al., 2012; KOMAL KUMAR et al., 2008; SH et al., 2014), ou mesmo quando comparado ao descrito por LAURENTE et al. (2010) onde 81,2% dos pacientes com XP de várias localidades declaram uma QV ruim.

Ao comparar a média dos *scores* de QV nos grupos por meio da ANOVA, no combinado, não apresentou significância, contudo, com dados ponderados houve significância entre os grupos Desfecho/Doentes e os Heterozigotos/não doentes para os domínios Físico ($p \leq 0,05$) e Relação Social ($p \leq 0,03$). Os dados do grupo Desfecho/Doentes demonstraram menores *scores* para os domínios Físico e Meio Ambiente, contudo, a maior variação ocorre entre os *scores* dos grupos Desfecho/Doentes e os Heterozigotos/não doentes para o domínio Físico (9,9%) e Relação Social (8,2%). Em cada grupo foi possível identificar os menores *scores*, estes devem ser considerados mesmo não apresentando significância entre grupos, mas possuem seu valor intergrupo, pois na sub-estratificação podem informar os fatores impactantes relacionados com a diminuição do mesmo, e assim, servir para possíveis intervenções em saúde.

A ANOVA, considerando as respostas de cada domínio, confirma os resultados obtidos por meio dos dados ponderados e apontou as respostas cujo valor de p foi estatisticamente significante considerando os domínios apresentados na Tabela 6. Para os domínios Físico e Relações Sociais, em resumo, as respostas estão associadas a dor, necessidade de tratamento e satisfação com a vida sexual. Estes resultados podem auxiliar nas práticas de intervenção e manejo com os pacientes XPV, seja por meio da Secretaria de Estado da Saúde ou do Município de Araras/Faina.

CONCLUSÃO

As análises de Qualidade de Vida por meio do WHOQOL-Bref combinadas com variáveis advindas das análises moleculares demonstram diferenças estatísticas significantes entre a Qualidade de Vida dos pacientes afetados pela XPV quando comparados com não afetados. Assim, a XPV afeta a QV dos pacientes principalmente para os domínios Físicos e Relações Sociais.

É possível que os pacientes que residam na comunidade de Araras/Faina se sintam integrados e acolhidos naquele ambiente, mesmo com as diferenças físicas entre doentes e não doentes. Esta é uma situação vivenciada por inúmeras famílias deste povoado, o que talvez explique a maior aceitação por parte dos não doentes em relação aos doentes o que favorece uma menor discriminação e maior integração, acolhimento, compreensão e senso de coletividade, elementos que provavelmente favoreceram uma

maior homogeneidade na percepção da Qualidade de Vida. Contudo, não se pode dizer o mesmo quando os doentes residem em outras localidades ou situações.

Os dados a despeito de pacientes com doenças raras em uma condição diferenciada (*sui generis*) podem contribuir para o desenvolvimento do conhecimento nas áreas moleculares, epidemiológicas, sociais, históricas, além de outras áreas correlatas. Além disso, existe a necessidade de integração de esforços em diversas áreas do conhecimento para subsidiar a compreensão dos fatos ocorridos em Araras/Faina.

As análises estatísticas em doenças raras é um desafio e em muitos aspectos pode levar a fragilidade do estudo, por isso, em sua maioria, são apresentados de forma descritiva o que pode limitar o controle de determinados aspectos como por exemplo o “N” amostral.

A interação entre as áreas moleculares, epidemiologias e de qualidade de vida podem auxiliar no aconselhamento genético que por sua vez é um fator preponderante para a diminuição de novos casos de XPV no povoado de Arara/Faina, considerando principalmente os heterozigotos (portadores) e sem clínica aparente.

Em acordo com o apresentado serão necessários estudos para melhor compreensão dos eventos associados à distribuição da XPV em Araras/Faina.

REFERÊNCIAS

AHMAD, S.; HANAOKA, F. **Molecular mechanisms of xeroderma pigmentosum**. Austin, Texas, USA: Springer Science - Landes Bioscience, 2008. p. 1–166

BACKER, P. *Gestão ambiental: administração verde*. Rio de Janeiro: Qualitymark; 1995.

BHUTTO, A.M.; KIRK, S.H. Population Distribution of Xeroderma Pigmentosum. In: AHMAD, S. I. FUMIO HANAOKA (Ed.). **Molecular mechanisms of Xeroderma Pigmentosum**. 637. ed. New York: Science, Springer, 2008. p. 138–143.

BIERTÜMPFEL, C.; ZHAO, Y.; KONDO, Y.; *et al.* Structure and mechanism of human DNA polymerase eta. **Nature**, v. 465, n. 7301, p. 1044–8, 24 jun 2010.

CHAIBUB, S. Alta incidência de Xeroderma Pigmentosum em comunidade no interior de Goiás; High incidence of xeroderma pigmentosum in a countryside community in the state. **Surg. cosmet. dermatol.(Impr.)**, v. 3, n. 1, p. 81–83, 2011.

CLEAVER, J.E.; LAM, E.T.; REVET, I. Disorders of nucleotide excision repair: the genetic and molecular basis of heterogeneity. **Nature reviews. Genetics**, v. 10, n. 11, p. 756–68,

nov 2009.

FÖLSTER-HOLST, R.; SCHUBERT, C.; CHRISTOPHERS, E. **Multiple melanoma in xeroderma pigmentosum. Der Hautarzt; Zeitschrift für Dermatologie, Venerologie, und verwandte Gebiete.** [S.l.: s.n.], 1994

FLECK, M.P.A., O. FACHEL, S. LOUZADA. Aplicação da versão em português do instrumento de avaliação de qualidade de vida WHOQOL-Bref. **Revista Saúde Pública**, 34(2)178-183, 2000.

FLECK, M.P.A.; J.C.R. PIRES DE SOUZA; N.H. DE SOUZA BARROS. A avaliação da qualidade de vida: guia para profissionais de saúde. **Porto Alegre: Artmede.** 2008.

FRIEDBERG, E.C.; LEHMANN, A. R.; FUCHS, R.P.P. **Trading Places: How do DNA polymerases switch during translesion DNA synthesis?. Molecular Cell.** [S.l.: s.n.]. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15916957>>. Acesso em: 5 abr. 2014. , 27 maio 2005

GRATCHEV, A.; STREIN, P.; UTIKAL, J.; SERGIJ, G. Molecular genetics of Xeroderma pigmentosum variant. **Experimental dermatology**, v. 12, n. 5, p. 529–36, out 2003.

GROUP, T.W.H.E.W.; THE WHOQOL GROUP; NULL, T.H.E.W.G.; GROUP, T.W.H.E.W. Development of the World Health Organization WHOQOL-Bref Quality of Life Assessment. **Psychological Medicine**, v. 28, n. 03, p. 551–558, 1998.

HENGGE, U.R.; EMMERT, S. Clinical features of xeroderma pigmentosum. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 637, p. 10–18, jan 2008.

INUI, H.; OH, K.; NADEM, C.; *et al.* Xeroderma pigmentosum-variant patients from America, Europe, and Asia. **The Journal of investigative dermatology**, v. 128, n. 8, p. 2055–2068, ago 2008.

JALENQUES, I.; GALLAND, F.; MALET, L.; *et al.* Quality of life in adults with Gilles de la Tourette Syndrome. **BMC psychiatry**, v. 12, n. 1, p. 109, jan 2012.

JOHNSON, R.E. hRAD30 Mutations in the Variant Form of Xeroderma Pigmentosum. **Science**, v. 285, n. 5425, p. 263–265, 9 jul 1999.

KANNOUCHE, P.; BROUGHTON, B.C.; VOLKER, M.; *et al.* Domain structure, localization, and function of DNA polymerase ??, defective in xeroderma pigmentosum variant cells. **Genes and Development**, v. 15, p. 158–172, 2001.

KHATRI, M.L.; SHAFI, M.; MASHINA, A. Xeroderma pigmentosum. A clinical study of 24 Libyan cases. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 26, p. 75–78, 1992.

KOMAL KUMAR, R.N.; TALY, A.B.; NAIR, K.P.S.; *et al.* Quality of life in Wilson's disease. **Annals of Indian Academy of Neurology**, v. 11, n. 1, p. 37–40, jan 2008.

KRAEMER, K.H.; LEE, M.M.; SCOTTO, J. DNA repair protects against cutaneous and internal neoplasia: evidence from xeroderma pigmentosum. **Carcinogenesis**, v. 5, p. 511–514, 1984.

KRAEMER KH, LEE MM, S.J. Xeroderma Pigmentosum: Cutaneous, Ocular, and Neurologic Abnormalities in 830 Published Cases. **Archives of Dermatology**, v. 123, n. 2, p. 241, 1 fev 1987.

MASUTANI, C.; ARAKI, M.; YAMADA, A.; *et al.* Xeroderma pigmentosum variant (XP-V) correcting protein from HeLa cells has a thymine dimer bypass DNA polymerase activity. **The EMBO journal**, v. 18, n. 12, p. 3491–501, 15 jun 1999.

MASUTANI, C.; KUSUMOTO, R.; YAMADA, A.; *et al.* The XPV (xeroderma pigmentosum variant) gene encodes human DNA polymerase eta. **Nature**, v. 399, n. 6737, p. 700–4, 17 jun 1999.

OPLETALOVA, K.; BOURILLON, A.; YANG, W.; *et al.* Correlation of Phenotype/Genotype in a Cohort of 23 Xeroderma Pigmentosum-Variant Patients Reveals 12 New Disease-Causing POLH Mutations. **Human Mutation**, v. 35, n. 1, p. 117–128, jan 2014.

ORTEGA-RECALDE, O.; VERGARA, J.I.; FONSECA, D.J.; *et al.* Whole-Exome Sequencing Enables Rapid Determination of Xeroderma Pigmentosum Molecular Etiology. **PLoS ONE**, v. 8, n. 6, p. 8–11, 2013.

PRADHAN, E.; PADHYE, S.B.; MALLA, O.K.; KARKI, K.J. Case of xeroderma pigmentosum with well differentiated squamous cell carcinoma in the eye. **Kathmandu University medical journal (KUMJ)**, v. 1, n. 4, p. 278–283, 2003.

RAMKUMAR, H.L.; BROOKS, B.P.; CAO, X.; *et al.* Ophthalmic manifestations and histopathology of xeroderma pigmentosum: two clinicopathological cases and a review of the literature. **Survey of ophthalmology**, v. 56, n. 4, p. 348–61, 2011.

S. CRUZ FUINI, R. SOUTO, G. FRANCISCO AMARAL, R.G.A. Qualidade de vida dos indivíduos expostos ao césio-137, em Goiânia, Goiás, Brasil. **Cad. Saúde Pública**, v. 29, n. 7, p. 1301–1310, jul 2013.

SCHUCH, A.P.; YAGURA, T.; MAKITA, K.; *et al.* DNA damage profiles induced by sunlight at different latitudes. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 53, p. 198–206, 2012.

SH, A.; BAGHERSALIMI, A.; AZARKEIVAN, A.; NOJOMI, M.; A.H.R. Original Article Quality of life in patients with thalassemia major. v. 4, p. 57–63, 2014.

SLOR, H.; BATKO, S.; KHAN, S.G.; *et al.* Clinical, cellular, and molecular features of an Israeli xeroderma pigmentosum family with a frameshift mutation in the XPC gene: Sun protection prolongs life. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 115, p. 974–980, 2000.

SOUFIR, N.; GED, C.; BOURILLON, A.; *et al.* A prevalent mutation with founder effect in xeroderma pigmentosum group C from north Africa. **The Journal of investigative dermatology**, v. 130, n. 6, p. 1537–1542, jun 2010.

TAMHANKAR, P.M.; IYER, S.V; RAVINDRAN, S.; *et al.* Clinical profile and mutation analysis of xeroderma pigmentosum in Indian patients. **Indian journal of dermatology, venereology and leprology**, v. 81, n. 1, p. 16–22, 1 jan 2015.

TAMURA, D.; DIGIOVANNA, J.J.; KRAEMER, K.H. Founder mutations in xeroderma pigmentosum. **The Journal of investigative dermatology**, v. 130, n. 6, p. 1491–1493, jun 2010.

TANIOKA, M.; MASAKI, T.; ONO, R.; *et al.* Molecular analysis of DNA polymerase eta gene in Japanese patients diagnosed as xeroderma pigmentosum variant type. **The Journal of investigative dermatology**, v. 127, n. 7, p. 1745–51, jul 2007.

YUASA, M.; MASUTANI, C.; EKI, T.; HANAOKA, F. Genomic structure, chromosomal localization and identification of mutations in the xeroderma pigmentosum variant (XPV) gene. **Oncogene**, v. 19, n. July, p. 4721–4728, 2000.

6 DISCUSSÃO

Na genotipagem por RT-qPCR possibilitou a identificação das mutações associadas a três alelos do gene *POLH*, favorecendo a determinação de suas frequências no povoado. Em Araras/Faina, predominam as mutações no intron 6 e exon 8; não apresentando outro genótipo ou mesmo negativos para os referidos alelos analisados nos pacientes XP. Em Araras/Faina identificou que os pacientes doentes possuem duas mutações no gene *POLH*, seja em homozigose ou heterozigose composta, com possível perda de função da proteína Pol eta, propiciando deficiência em síntese translesão (MUNFORD et al, em preparação) e consequente aumento da instabilidade genômica que predispõem ao desenvolvimento de cânceres precoces e recorrentes, como observado nesses pacientes (BIERTÜMPFEL et al., 2010; GRATCHEV et al., 2003; KANNOUCHE et al., 2001; MASUTANI; KUSUMOTO; et al., 1999; YUASA et al., 2000).

Neste estudo foi confirmado que aquela comunidade apresenta dois alelos mutados diferentes do gene *POLH* (XPV) em alta frequência, sendo que mutações nesse gene resultam de fenótipos clínicos relativamente brandos, o que explica que os pacientes tenham uma sobrevida maior comparada a outros grupos de XP. De fato, mutações nos genes que afetam pacientes XP com deficiência em reparo excisão de nucleotídeos (NER) tem expectativa em geral menor do que 30 anos (AHMAD; HANAOKA, 2008; BHUTTO; KIRK, 2008). É curioso salientar que a alta sobrevida de alguns pacientes dessa comunidade se observa apesar das altas intensidades de luz solar da latitude onde vivem, que deve produzir uma alta frequência de lesões no DNA (SCHUCH et al., 2012).

As análises de Qualidade de Vida por meio do WHOQOL-Bref combinadas com variáveis advindas das análises moleculares demonstram diferenças estatísticas significantes entre a Qualidade de Vida dos pacientes afetados pela XPV quando comparados com não afetados. Assim, a XPV afeta a QV dos pacientes principalmente para os domínios Físicos e Relações Sociais.

O possível isolamento geográfico parcial, talvez explique às dificuldades de acesso as escolas, consequentemente às novas tecnologias de produção, elementos que conduziram a uma baixa escolaridade e renda que, em geral, apenas propiciou o desenvolvimento da agricultura de subsistência, realidade encontrada no povoado. Adicionalmente, neste contexto é importante considerar que o acesso à saúde pública é

precário, dificultando e adiando o diagnóstico e o tratamento dessa população (TAMURA *et al.*, 2010).

O outro fator preponderante para o melhor entendimento do aumento da frequência de XPV em Araras é a descrição de 13 (86,6%), dos 15 pacientes XP, originam-se de pais com casamentos consanguíneos e 2 (13,4) declararam não haver grau de parentesco envolvido no casamento dos pais. É importante salientar que a mutação no exon 8 está intimamente ligada a pacientes cujas origens remetem a cidade Hidrolândia e, que possuem íntima relação com Araras/Faina, visto que há 1 paciente caucasiano com genótipo XPV (8/8), originalmente de Hidrolândia, bem como, os heterozigotos compostos em Araras (XPV 6/8) relatam possuir parentes em Hidrolândia. De fato, estudos para pesquisa de XP no Japão e na Índia, respectivamente, 35% e 40% dos indivíduos relataram que seus pais estavam envolvidos em casamentos consanguíneos (AHMAD; HANAOKA, 2008; BHUTTO; KIRK, 2008; INUI *et al.*, 2008).

A presença de dois alelos mutados para o mesmo gene é certamente um evento extremamente raro e, por isso mesmo curioso. Quais seriam as origens desses dois alelos? Duas hipóteses possíveis podem explicar esses alelos, ou a origem de mutações de novo no Brasil, ou a ocorrência de dois efeitos fundadores: mutação no intron 6 talvez trazida por escravos de etnia negra que trabalhavam nas extrações de ouro nos rios da região e a mutação no exon 8 presente em caucasianos de origem europeia. É importante relatar que todos os pacientes com mutação no exon 8 alegaram ter familiares em Hidrolândia. De fato, efeitos fundadores para origem de alelos de mutações XP tem sido descritos (INUI *et al.*, 2008; OPLETALOVA *et al.*, 2014; SOUFIR *et al.*, 2010; TANIOKA *et al.*, 2007; YUASA *et al.*, 2000).

Existem fortes indícios de efeitos fundadores independentes para os alelos encontrados em Araras/Faina, visto que uma mutação idêntica no exon 8 foi descrita na (OPLETALOVA *et al.*, 2014). Contudo, o alelo com mutação no intron 6 não foi encontrado em outros pacientes até o momento. Podemos apenas afirmar que os dois alelos mutados correspondem a eventos moleculares, sem possibilidade até o momento de determinação da temporalidade de sua ocorrência; também pouco podemos afirmar dos eventos que conduziram ao aparecimento nos pacientes residentes em Araras/Faina ou da relação estabelecida entre eles. Neste sentido, um estudo de haplótipos que permita traçar a relação dessas duas mutações, relação com alelo já descrito (no caso da mutação no exon 8) ou com etnia (no caso da mutação no intron 6) pode ajudar a responder a questão de origem dessas mutações (TAMURA *et al.*, 2010).

Na investigação genotípica de 02 participantes de diferentes localidades do Estado de Goiás, não mais encontramos as mesmas mutações. O alelo encontrado em dois irmãos afetados com mutação no intron 10 do gene *POLH* só foi possível uma vez que essa mutação foi identificada anteriormente em outro paciente brasileiro, indicando uma provável relação familiar entre esses três pacientes (ORTEGA-RECALDE *et al.*, 2013; MENCK e MUNFORD, 2014).

7 CONCLUSÕES

As frequências de XPV no povoado de Araras/Faina se mostraram elevadas e, conseqüentemente, impactam nos casos em Goiás. O aumento da incidência de casos precoces de cânceres na população de Araras/Faina está intimamente associado com as mutações no gene *POLH*, cuja alteração condiciona ao desenvolvimento da doença Xeroderma Pigmentosum Variante, porém, há uma dependência da exposição aos raios ultravioleta da luz solar.

As mutações em *POLH* foram identificadas em 15 moradores de Arara/Faina que estão acometidos por XPV, em especial, envolvendo homozigoses XPV (6/6) e XPV (8/8) e, heterozigose composta XPV (6/8); eventos moleculares que alteram o transcrito e, conseqüentemente, a estrutura quaternária da DNA Polimerase η (η) que, por sua vez perde a função de síntese de translesões, acumulando mutações, aumentando suas frequências e condicionando ao desenvolvimento precoce de tumores.

As análises de Qualidade de Vida por meio do WHOQOL-Bref combinadas com variáveis advindas das análises moleculares demonstram diferenças estatísticas significantes entre a Qualidade de Vida dos pacientes afetados pela XPV quando comparados com não afetados. Assim, a XPV afeta a QV dos pacientes principalmente para os domínios Físicos e Relações Sociais.

As análises por RT-qPCR confirmam a presença de diferentes genótipos para XPV em Goiás, sobretudo em Araras/Faina, além disso, os participantes apresentaram diferenças fenotípicas. É vital aos participantes do estudo que futuras intervenções em saúde e as ações preventivas considerem tais diferenças para que não haja maiores danos à saúde desta população.

Os casamentos consanguíneos combinado com o isolamento geográfico parcial são os fatores mais concretos que auxiliaram no aumento de XPV em Araras/Faina, contudo, o surgimento das mutações é uma incógnita, entretanto, há dados que sugerem a associação com dois efeitos fundadores.

Não esta descartada a possibilidade de ocorrência de tipos diferentes de Xeroderma Pigmentosum em Goiás. No entanto, foram identificados 3 diferentes mutações para o mesmo alelo (XPV 6/6), (XPV 8/8) e (XPV 11/11) foram identificadas e, as análises moleculares do genoma dos 11 doentes residentes de outras localidades do Estado podem esclarecer melhor este fato.

Existe a necessidade de realizar estudos que possam associar os aspectos

clínicos com os genéticos na tentativa de desvendar os fatores que possam ter influenciados na diferença numérica entre a distribuição das mutações no exon 6 em relação ao 8 na população do povoado Araras/Faina pois, não se conhece a causa deste fato.

O aconselhamento genético é um fator preponderante para a diminuição de novos casos de XPV no povoado de Arara/Faina, considerando principalmente os heterozigotos (portadores) e sem clínica aparente. Em acordo com o apresentado serão necessários estudos para melhor compreensão dos eventos associados à distribuição da XPV em Araras/Faina.

REFERÊNCIAS

- ACHUTTI, A.; M.I.R. Azambuja. Doenças crônicas não-transmissíveis no Brasil: repercussões do modelo de atenção à saúde sobre a seguridade social. *Ciência & Saúde Coletiva*, 9(4):833-840, 2004.
- AGUIAR, C.C.T., VIEIRA, A.P.G.F.; CARVALHO, A.F.; MONTENEGRO-JUNIOR, R.M. Instrumentos de avaliação de qualidade de vida relacionada à saúde no diabetes melito. *Arq Bras Endocrinol Metab* 52(6) 931-939, 2008.
- AHMAD, S.; HANAOKA, F. **Molecular mechanisms of xeroderma pigmentosum**. Austin, Texas, USA: Springer Science - Landes Bioscience, 2008. p. 1–166
- AHMAD, S.; HANAOKA, F. *Molecular mechanisms of xeroderma pigmentosum*. Austin, Texas, USA: Springer Science - Landes Bioscience, 2008. p. 1–166
- BACKER, P. *Gestão ambiental: administração verde*. Rio de Janeiro: Qualitymark; 1995.
- BARTELS, C.L.; LAMBERT, M.W. 2007. Domains in the XPA protein important in its role as a processivity factor. *Biochem Biophys Res Commun* 356:219-25.
- BATISTA, L.F.; KAINA, B.; MENEHINI, R.; MENCK, C.F.M. How DNA lesions are turned into powerful killing structures: insights from UV-induced apoptosis. *Mutat Res* 681:197-208, 2009.
- BEIGUELMAN, B. A interpretação genética da variabilidade humana. *Soc Bras Genet* 153p., 2008.
- BERGNER, R.; BOBBITT, R.A.; CARTER, W.B.; GILSON, B.S. The sickness impact profile: development and final revision of a health status measure. *Medical Care* 19:787-805, 1981.
- BHUTTO, A.M.; KIRK, S.H. Population Distribution of Xeroderma Pigmentosum. In: AHMAD, S. I. FUMIO HANAOKA (Ed.). **Molecular mechanisms of Xeroderma Pigmentosum**. 637. ed. New York: Science, Springer, 2008. p. 138–143.
- BIERTÜMPFEL, C.; ZHAO, Y.; KONDO, Y.; *et al.* Structure and mechanism of human DNA polymerase ϵ . **Nature**, v. 465, n. 7301, p. 1044–8, 24 jun 2010.
- BRADFORD, P.T.; GOLDSTEIN, A.M.; TAMURA, D.; KHAN, S.G. *et al.*, Cancer and neurologic degeneration in xeroderma pigmentosum: long term follow-up characterises the role of DNA repair. *J Med Genet* 48:168-176, 2011.
- BROUSSE, C.; BOISAUBERT, B. Quality of life and scales measuring. *R. Méd. Int* 28: 58-462, 2007.
- _____. Historical aspects of xeroderma pigmentosum and nucleotide excision repair. *Adv Exp Med Biol* 637:1-9.b, 2008.
- CADET, J.; DOUKI, T.; RAVANAT, J.L. Oxidatively generated base damage to cellular DNA. *Free Radic Biol Med* 49:9-21, 2010.

CARTAULT, F.; NAVA, C.; MALBRUNOT, A.C.; *et al.* A new XPC gene splicing mutation has lead to the highest worldwide prevalence of xeroderma pigmentosum in black Mahori patients. **DNA Repair**, v. 10, n. 6, p. 577–585, 10 jun 2011.

CHAIBUB, S. Alta incidência de Xeroderma Pigmentosum em comunidade no interior de Goiás; High incidence of xeroderma pigmentosum in a countryside community in the state. **Surg. cosmet. dermatol.(Impr.)**, v. 3, n. 1, p. 81–83, 2011

CLEAVER, J.E. Defective repair replication of DNA in xeroderma pigmentosum. *Nature* 218(5142): 652-656.a, 1968.

CLEAVER, J.E. Diagnosis of Xeroderma and related DNA repair-deficient cutaneous diseases. *Curr Med Lit Dermatol* 13(2): 41-48.b, 2008.

CLEAVER, J.E.; FEENEY, L.; TANG, J.Y.; TUTTLE, P. Xeroderma pigmentosum group C in an isolated region of Guatemala. *J Invest Dermatol* 127:493-6., 2007.

CLEAVER, J.E.; LAM, E.T.; REVET, I. Disorders of nucleotide excision repair: the genetic and molecular basis of heterogeneity. **Nature reviews. Genetics**, v. 10, n. 11, p. 756–68, nov 2009.

COSTA, R.M.; CHIGANCAS, V.; GALHARDO, S.R.; CARVALHO, H.; MENCK, C.F.M. The eukaryotic nucleotide excision repair pathway. *Biochimie* 85:1083-99., 2003.

CRUZ FUINI, S.; SOUTO, R.; FRANCISCO AMARAL, G.R.G.A. Qualidade de vida dos indivíduos expostos ao céσιο-137, em Goiânia, Goiás, Brasil. *Cad. Saúde Pública*, v. 29, n. 7, p. 1301–1310, jul 2013.

DIGIOVANNA, J.; KRAEMER, K. Shining a light on xeroderma pigmentosum. *Journal of Investigative Dermatology*, v. 132, n. 3, p. 785–796, mar 2012.

FLECK, M.P.A. O instrumento de avaliação de qualidade de vida da Organização Mundial da Saúde (WHOQOL-100): características e perspectivas. *Revista Ciência e Saúde Coletiva* 5 (1)33-38a., 2000.

FLECK, M.P.A., O. FACHEL, S. LOUZADA. Aplicação da versão em português do instrumento de avaliação de qualidade de vida WHOQOL-Bref. **Revista Saúde Pública**, 34(2)178-183, 2000.

FLECK, M.P.A., SOUZA, J.C.R.P.; BARRO, N.H.S. A avaliação da qualidade de vida: guia para profissionais de saúde. Porto Alegre: Artmede, 2008.

FLECK, M.P.A.; FACHEL, O.; LOUZADA, S.; XAVIER, M.; CHACHAMOVICH, E.; VIEIRA, G.; SANTOS, L.; PINZON, V. Desenvolvimento da versão em português do instrumento de avaliação de qualidade de vida da organização mundial da saúde (WHOQOL-100). *Rev Bras Psiquiatria* 21:19-28, 1999.

FLECK, M.P.A.; J.C.R. PIRES DE SOUZA; N.H. DE SOUZA BARROS. A avaliação da qualidade de vida: guia para profissionais de saúde. **Porto Alegre: Artmede**. 2008.

FÖLSTER-HOLST, R.; SCHUBERT, C.; CHRISTOPHERS, E. **Multiple melanoma in xeroderma pigmentosum. Der Hautarzt; Zeitschrift für Dermatologie, Venerologie, und verwandte Gebiete.** [S.l.: s.n.], 1994

FRIEDBERG, E.C. Suffering in silence: the tolerance of DNA damage. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 6(12), 943–953. doi:10.1038/nrm1781, 2005.

FRIEDBERG, E.C., LEHMANN, A.R.; FUCHS, R.P.P. (2005, May 27). Trading Places: How do DNA polymerases switch during translesion DNA synthesis? *Molecular Cell*. doi:10.1016/j.molcel.2005.03.032

FRIEDBERG, E.C.; LEHMANN, A. R.; FUCHS, R.P.P. **Trading Places: How do DNA polymerases switch during translesion DNA synthesis?. Molecular Cell.** [S.l.: s.n.]. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15916957>>. Acesso em: 5 abr. 2014. , 27 maio 2005

FRIEDBERG, E.C.; WAGNER, R.; RADMAN, M. Specialized DNA polymerases, cellular survival, and the genesis of mutations. *Science (New York, N.Y.)*, 296(5573), 1627–1630. doi:10.1126/science.1070236, 2002.

GRATCHEV, A.; STREIN, P.; UTIKAL, J.; SERGIJ, G. Molecular genetics of Xeroderma pigmentosum variant. **Experimental dermatology**, v. 12, n. 5, p. 529–36, out 2003.

GROSSMAN, L.; RIAZUDDIN, S.; HASELTINE, W.A.; LINDAN, C. Nucleotide excision repair of damaged DNA. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 43 Pt 2:947-55, 1979.

GROUP, T.W.H.E.W.; THE WHOQOL GROUP; NULL, T.H.E.W.G.; GROUP, T.W.H.E.W. Development of the World Health Organization WHOQOL-Bref Quality of Life Assessment. **Psychological Medicine**, v. 28, n. 03, p. 551–558, 1998.

GUO, C.; KOSAREK-STANCEL, J.N.; TANG, T.S.; FRIEDBERG, E.C. Y-family DNA polymerases in mammalian cells. *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS*, 66(14), 2363–81. doi:10.1007/s00018-009-0024-4, 2009.

HANAWALT, P.C. Subpathways of nucleotide excision repair and their regulation. *Oncogene* 21:8949-56, 2002.

HAWKINS, D. M.; EIDE, M. J.; LIM, H. W. Perception of xeroderma pigmentosum support group members of xeroderma pigmentosum lifestyle impact. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine*, v. 28, n. 6, p. 338–339, 1 dez 2012.

HENGGE, U.R.; EMMERT, S. Clinical features of xeroderma pigmentosum. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 637, p. 10–18, jan 2008.

HIRAI, Y.; KODAMA, S.; MORIWAKI, A.; NODA, H.M. et al., Heterozygous individuals bearing a founder mutation in the XPA DNA repair gene comprise nearly 1% of the Japanese population. *Mutat Res* 601:171-178, 2006.

HOEIJMAKERS, J.H. DNA damage, aging, and cancer. *N Engl J Med* 361:1475-85, 2009.

INUI, H.; OH, K.; NADEM, C.; et al., Xeroderma pigmentosum-variant patients from

America, Europe, and Asia. *The Journal of investigative dermatology*, v. 128, n. 8, p. 2055–2068, ago 2008.

ITOH, T.; LINN, S.; KAMIDE, R.; *et al.* Xeroderma pigmentosum variant heterozygotes show reduced levels of recovery of replicative DNA synthesis in the presence of caffeine after ultraviolet irradiation. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 115, n. 6, p. 981–985, dez 2000.

JACOBELLI, S.; SOUFIR, N.; LACAPERE, J.J.; REGNIER, S. *et al.*, Xeroderma pigmentosum group C in a French Caucasian patient with multiple melanoma and unusual long-term survival. *Br J Dermatol* 159:968-73, 2008.

JALENQUES, I.; GALLAND, F.; MALET, L.; *et al.* Quality of life in adults with Gilles de la Tourette Syndrome. **BMC psychiatry**, v. 12, n. 1, p. 109, jan 2012.

JOHNSON, R.E. hRAD30 Mutations in the Variant Form of Xeroderma Pigmentosum. *Science*, v. 285, n. 5425, p. 263–265, 9 jul 1999. doi:10.1126/science.285.5425.263.

KANNOUCHE, P.; BROUGHTON, B.C.; VOLKER, M.; *et al.* Domain structure, localization, and function of DNA polymerase η , defective in xeroderma pigmentosum variant cells. **Genes and Development**, v. 15, p. 158–172, 2001.

KHATRI, M.L.; SHAFI, M.; MASHINA, A. Xeroderma pigmentosum. A clinical study of 24 Libyan cases. *Journal of the American Academy of Dermatology*, v. 26, p. 75–78, 1992.

KLEIJER, W.J.; LAUGEL, V.; BERNEBURG, M.; *et al.* Incidence of DNA repair deficiency disorders in western Europe: Xeroderma pigmentosum, Cockayne syndrome and trichothiodystrophy. **DNA Repair**, v. 7, n. 5, p. 744–750, 3 maio 2008.

KOMAL KUMAR, R.N.; TALY, A.B.; NAIR, K.P.S.; *et al.* Quality of life in Wilson's disease. **Annals of Indian Academy of Neurology**, v. 11, n. 1, p. 37–40, jan 2008.

KRAEMER KH, LEE MM, S.J. Xeroderma Pigmentosum: Cutaneous, Ocular, and Neurologic Abnormalities in 830 Published Cases. *Archives of Dermatology*, v. 123, n. 2, p. 241, 1 fev 1987.

KRAEMER R.; LEE, M.; ANDREWS, A.; LAMBERT, C. The role of sunlight and DNA repair in melanoma and nonmelanoma skin cancer. *Arch Dermatol* 130: 1018-21, 1994.

KRAEMER, K.H. Sunlight and skin cancer: another link revealed. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 94, n. January, p. 11–14, 1997.

KRAEMER, K.H.; LEE, M.M.; SCOTTO, J. DNA repair protects against cutaneous and internal neoplasia: evidence from xeroderma pigmentosum. **Carcinogenesis**, v. 5, p. 511–514, 1984.

LAURENTE, J.; REMUZGO, F.; GALLARDO, J.; *et al.* Calidad de vida percibida por los pacientes con xeroderma pigmentoso en villa clara. *Medicentro*, v. 14, n. 1, p. 1–7, 2010.

LEHMANN, A.R.; MCGIBBON, D.; STEFANINI, M. Xeroderma pigmentosum. **Orphanet**

journal of rare diseases, v. 6, n. 1, p. 70, jan 2011.

LEHTO, U.-S. Predictors of quality of life in newly diagnosed melanoma and breast cancer patients. *Annals of Oncology*, v. 16, n. 5, p. 805–816, 7 abr 2005.

LEITE, R.A.; MARCHETTO, M.C.; MUOTRI, A.R.; *et al.* **Identification of XP complementation groups by recombinant adenovirus carrying DNA repair genes. The Journal of investigative dermatology.** [S.l: s.n.]. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18685619>>. Acesso em: 1 out. 2014. , fev 2009

LEWIN, B. *Genes VII*. New York: Oxford University Press: 1, 2000.

LIMA-BESSA, K.M.; ARMELINI, M.G.; CHIGANCAS, V.; JACYSYN, J.F. *et al.*, CPDs and 6-4PPs play different roles in UV-induced cell death in normal and NER-deficient human cells. *DNA Repair (Amst)* 7:303-12, 2008.

LIMA-BESSA, K.M.; CHIGANCAS, V.; STARY, A.; KANNOUCHE, P. *et al.*, Adenovirus mediated transduction of the human DNA polymerase eta cDNA. *DNA Repair (Amst)* 5:925-34, 2006.

LIMA-BESSA, K.M.; SOLTYS, D.T.; MARCHETTO, M.C.; Menck, C.F.M. Xeroderma pigmentosum: living in the dark but with hope in therapy. *Drugs of the Future* 34 (8): 665-672, 2009.

MASUTANI, C.; ARAKI, M.; YAMADA, A.; KUSUMOTO, R. *et al.*, Xeroderma pigmentosum variant (XP-V) correcting protein from HeLa cells has a thymine dimer bypass DNA polymerase activity. *EMBO Journal*, 18(12), 3491–3501. doi:10.1093/emboj/18.12.3491(a), 1999.

MASUTANI, C.; KUSUMOTO, R.; YAMADA, A.; DOHMAE, N. *et al.*, The XPV (xeroderma pigmentosum variant) gene encodes human DNA polymerase eta. *Nature*, 399(6737), 700–704. doi:10.1038/21447(b), 1999.

MCMILLAN, T.J.; LEATHERMAN, E.; RIDLEY, A.; SHORROCKS, J.; *et al.*, Cellular effects of long wavelength UV light (UVA) in mammalian cells. *J Pharm Pharmacol* 60:969-76, 2008.

MENCK, C.F.M.; MUNFORD, V. DNA repair diseases: What do they tell us about cancer and aging? **Genetics and Molecular Biology**, v. 37, p. 220–233, 2014.

MENEGHINI, R. Gaps in DNA synthesized by ultraviolet light-irradiated WI38 human cells. *Biochim Biophys Acta* 425:419-27, 1976.

MOCQUET, V.; LAINE, J.P.; RIEDL, T.; YAJIN, Z.; *et al.* Sequential recruitment of the repair factors during NER: the role of XPG in initiating the resynthesis step. *EMBO J* 27:155-67, 2008.

MOURET, S.; PHILIPPE, C.; GRACIA-CHANTEGREL, J.; BANYASZ, A. *et al.*, UVA-induced cyclobutane pyrimidine dimers in DNA: a direct photochemical mechanism? *Org Biomol Chem* 8:1706-11, 2010.

NAEGELI, H. Mechanisms of DNA damage recognition in mammalian nucleotide excision repair. *FASEB Journal* 9:1043-1050, 1985.

NERI, L.A. Qualidade de vida In: REBELLATO, R.J.; MORELLI, S.G.J. *Fisioterapia Geriátrica*. São Paulo: Manole 2, 2007.

NORUSIS, M.J. SPSS/Version 21.0 Chicago, Illinois, 2011. <www.spss.com>

NOUSPIKEL, T. DNA repair in mammalian cells: Nucleotide excision repair: variations on versatility. *Cell Mol Life Sci* 66:994-1009., 2009.

OPLETALOVA, K.; BOURILLON, A.; YANG, W.; *et al.* Correlation of Phenotype/Genotype in a Cohort of 23 Xeroderma Pigmentosum-Variant Patients Reveals 12 New Disease-Causing POLH Mutations. **Human Mutation**, v. 35, n. 1, p. 117–128, jan 2014.

ORTEGA-RECALDE, O.; VERGARA, J.I.; FONSECA, D.J.; *et al.* Whole-Exome Sequencing Enables Rapid Determination of Xeroderma Pigmentosum Molecular Etiology. **PLoS ONE**, v. 8, n. 6, p. 8–11, 2013.

OVERMEER, R.M.; GOURDIN, A.M.; GIGLIA-MARI, A.; KOOL, H.; *et al.*, RFC recruits DNA polymerase {delta} to sites of NER but is not required for PCNA recruitment. *Mol Cell Biol.*, 2010.

PRADHAN, E.; PADHYE, S.B.; MALLA, O.K.; KARKI, K.J. Case of xeroderma pigmentosum with well differentiated squamous cell carcinoma in the eye. *Kathmandu University medical journal (KUMJ).*, v. 1, n. 4, p. 278–283, 2003.

RAMKUMAR, H.L.; BROOKS, B.P.; CAO, X.; *et al.* Ophthalmic manifestations and histopathology of xeroderma pigmentosum: two clinicopathological cases and a review of the literature. **Survey of ophthalmology**, v. 56, n. 4, p. 348–61, 2011.

REKAYA, M. BEN; LAROUCI, N.; MESSAOUD, O.; *et al.* A founder large deletion mutation in xeroderma pigmentosum-variant form in Tunisia: Implication for molecular diagnosis and therapy. **BioMed Research International**, v. 2014, 2014.

ROBBINS, J.H.; KRAEMER, K.H.; LUTZNER, M.A.; FESTOFF, B.W.; COON, H.G. Xeroderma pigmentosum: an inherited disease with sun-sensitivity, multiple cutaneous neoplasms, and abnormal DNA repair. *Annals Internal Med* 80:221-248, 1974.

SALE, J.E.; LEHMANN, A.R.; WOODGATE, R. Y-family DNA polymerases and their role in tolerance of cellular DNA damage. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 13(3), 141–52. doi:10.1038/nrm3289, 2012.

SCHUCH, A.P.; GALHARDO, R.S.; LIMA-BESSA, K.M.; SCHUCH, N.J. *et al.*; Development of a DNA-dosimeter system for monitoring the effects of solar-ultraviolet radiation. *Photochemical & Photobiological Sciences: Official Journal of the European Photochemistry Association and the European Society for Photobiology*, 8, 111–120. doi:10.1039/b810085c, 2009.

SCHUCH, A.P.; MENCK, C.F.M. The genotoxic effects of DNA lesions induced by artificial UV-radiation and sunlight. *Journal of Photochemistry and Photobiology. B, Biology*, 99,

111–116. doi:10.1016/j.jphotobiol.2010.03.004, 2010.

SCHUCH, A.P.; YAGURA, T.; MAKITA, K.; *et al.* DNA damage profiles induced by sunlight at different latitudes. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 53, p. 198–206, 2012.

SEIDL, E.M.F.; ZANNON, C.M.L.C. Qualidade de vida e saúde: aspectos conceituais e metodológicos. *Cad. Saúde Públ* 20: 2:580-8, 2004.

SH, A.; BAGHERSALIMI, A.; AZARKEIVAN, A.; NOJOMI, M.; A, H. R. Original Article Quality of life in patients with thalassemia major. v. 4, p. 57–63, 2014.

SLOR, H.; BATKO, S.; KHAN, S.G.; *et al.* Clinical, cellular, and molecular features of an Israeli xeroderma pigmentosum family with a frameshift mutation in the XPC gene: Sun protection prolongs life. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 115, p. 974–980, 2000.

SOUFIR, N.; GED, C.; BOURILLON, A.; *et al.* A prevalent mutation with founder effect in xeroderma pigmentosum group C from north Africa. **The Journal of investigative dermatology**, v. 130, n. 6, p. 1537–1542, jun 2010.

STEFANINI M.; KRAEMER, K.H. Xeroderma pigmentosum. In: *Neurocutaneous Diseases* Edited by: Ruggieri M, Pascual-Castroviejo I, Di Rocco C, Chapter 51:771-792., 2008

SUGASAWA, K. Xeroderma pigmentosum genes: functions inside and outside DNA repair. *Carcinogenesis* 29(3)455:465, 2008.

TAMHANKAR, P.M.; IYER, S.V; RAVINDRAN, S.; *et al.* Clinical profile and mutation analysis of xeroderma pigmentosum in Indian patients. **Indian journal of dermatology, venereology and leprology**, v. 81, n. 1, p. 16–22, 1 jan 2015.

TAMURA, D.; DIGIOVANNA, J.J.; KRAEMER, K.H. Founder mutations in xeroderma pigmentosum. **The Journal of investigative dermatology**, v. 130, n. 6, p. 1491–1493, jun 2010.

TANIOKA, M.; MASAKI, T.; ONO, R.; *et al.* Molecular analysis of DNA polymerase eta gene in Japanese patients diagnosed as xeroderma pigmentosum variant type. **The Journal of investigative dermatology**, v. 127, n. 7, p. 1745–51, jul 2007.

The WHOQOL Group. Development of the World Health Organization WHOQOL-bref. *Quality of Life Assessment*. *Psychol Med*. 28:551-8, 1998.

The WHOQOL Group. The World Health Organization Quality of Life assessment (WHOQOL): position paper from the World Health Organization. *Social Science & Medicine*, 41, 1403–1409. doi:10.1016/0277-9536(95)00112-K, 1995.

VINDING, G. R.; CHRISTENSEN, K. B.; ESMANN, S.; OLESEN, A. B.; JEMEC, G. B. E. Quality of Life in Non-Melanoma Skin Cancer—The Skin Cancer Quality of Life (SCQoL) Questionnaire. *Dermatologic Surgery*, v. 39, n. 12, p. 1784–1793, dez 2013.

VINDING, G. R.; ESMANN, S.; OLESEN, A. B.; et al. Interpretation of the Skin Cancer Quality of Life Score: A Validated Quality of Life Questionnaire for Non-Melanoma Skin Cancer. *Dermatology*, v. 229, n. 2, p. 123–129, 2014.

YUASA, M.; MASUTANI, C.; EKI, T.; HANAOKA, F. Genomic structure, chromosomal localization and identification of mutations in the xeroderma pigmentosum variant (XPV) gene. *Oncogene*, v. 19, n. July, p. 4721–4728, 2000.

ZIMPEL, R., M.P.A. FLECK. WHOQOL-HIV: desenvolvimento, aplicação e validação. A avaliação de qualidade de vida: guia para profissionais de saúde. *Artmed* 83-92, 2008.

ZOTTER, A.; LUIJSTERBURG, M.S.; WARMERDAM, D.O.; IBRAHIM, S. et al., Recruitment of the nucleotide excision repair endonuclease XPG to sites of UV-induced dna damage depends on functional TFIIH. *Mol Cell Biol* 26:8868-79, 2006.

ANEXO

Anexo 1

Parecer Consubstanciado do Projeto



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



Goiânia, 20 de agosto de 2012.

PARECER CONSUBSTANCIADO DE PROJETO DE PESQUISA
Protocolo nº 133/12

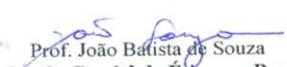
I. Identificação:

1. *Título do Projeto:* **Distribuição do alelo mutado em pacientes e familiares com suspeitas com suspeitas clínicas de Xeroderma Pigmentosum residentes na cidade de Faina, Goiás**
2. *Pesquisador Responsável:* Rafael Souto
3. *Orientador:* Carlos Frederico Martins Menck
4. *Unidade/Órgão:* Instituto de Patologia Tropical e Saúde Coletiva/IPTSP-UFV
5. *Data de apresentação do protocolo ao CEP:* 17/05/12
6. *Data do Relato:* 18/06/12
7. *Data de Atendimento das Pendências:* 07/08/12

II - Parecer do CEP:

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Goiás, após análise das adequações solicitadas, **Aprovou**, em 20 de agosto de 2012, o projeto acima referido, e o mesmo foi considerado em acordo com os princípios éticos vigentes.

O pesquisador responsável deverá encaminhar ao CEP/UFV, relatórios da pesquisa, encerramento, conclusão(ões) e publicação(ões) de acordo com as recomendações da Resolução 196/96.


Prof. João Batista de Souza
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa/CEP
Prof. João Batista de Souza
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação/UFV

Comitê de Ética em Pesquisa/CEP
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação/PRPPG-UFV, Caixa Postal: 131, Prédio da Reitoria, Piso 1,
Campus Samambaia (Campus II) - CEP:74001-970, Goiânia – Goiás, Fone: (55-62) 3521-1215.
Email: cep.prppg.ufv@gmail.com

Anexo 2

Termo de consentimento livre e esclarecido

Você está sendo convidado (a) a participar, como voluntário(a), de uma pesquisa. Meu nome é **Rafael Souto**, sou o pesquisador responsável e minha área de atuação é análises moleculares e epidemiológicas aplicadas ao sistema de reparo de DNA. Após receber os esclarecimentos e as informações a seguir, no caso de aceitar a fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de recusa, você **não** será penalizado (a) de forma alguma.

Em caso de dúvida **sobre a pesquisa**, você poderá entrar em contato com o(s) pesquisador (es) responsável(is), **Rafael Souto** e **Carlos Frederico Martins Menck** nos telefones: (62) 92076406/32014231 e (11) 30917499, inclusive por ligações a cobrar. Em casos de dúvidas **sobre os seus direitos** como participante nesta pesquisa, você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Goiás, nos telefones: 3521-1075 ou 3521-1076.

I. Título da Pesquisa

“Distribuição do alelo mutado em pacientes e familiares com suspeita clínica de Xeroderma Pigmentosum residentes na cidade de Faina, Goiás.”

Pesquisador-Responsável: Rafael Souto Mestre em Genética e pesquisador do Centro de Excelência em Ensino Pesquisa e Projetos – Leide das Neves Ferreira e aluno de Doutorado na Pós Graduação da UFG/IPTSP/Epidemiologia e orientado por Dr. Carlos Frederico Martins Menck – Professor Titular do Departamento de Microbiologia – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, SP e Pesquisador Cadastrado no Programa de Pós-Graduação do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Publica da Universidade Federal de Goiás.

II. Explicações do pesquisador ao paciente ou representante legal (responsável)

1. Objetivos da pesquisa: Identificar danos no material genético que estão ligados a Doença Xeroderma Pigmentosum (XP) em moradores de Faina (no Distrito de Araras), Goiás

2. Procedimentos utilizados:

Será realizado um exame médico pelos profissionais do Hospital Geral de Goiânia (HGG) onde vocês participantes deverão ser analisados para ver se existe uma associação entre o que estão sentindo no corpo e se os seus familiares também possuem os mesmos sintomas.

O pessoal da Associação Brasileira de Xeroderma Pigmentosum (ABRAXP) ajudará na entrevista e no preenchimento dos questionários, nas fotos e na coleta de informações (sócio-demográficos, informações sobre os sintomas e de sua qualidade de vida), historia da doença na família utilizando o questionário que estão sendo distribuídos para vocês (Anexo II), além disso, pegaremos informações em seu prontuário no HGG e Hospital do Câncer e, além disso, a equipe do laboratório Rômulo Rocha (UFG/Faculdade de Farmácia) auxiliará na coleta de 5mL de células sanguíneas em tubos Vacutainer®, para posterior extração de DNA e realização do teste genético da doença para pesquisa se você tem ou não Xeroderma Pigmentosum.

3. Complicações e riscos:

Na coleta de sangue você poderá sentir uma pequena dor da agulhada mas este ato é comum igual ao do laboratório, assim, poderá ter pequenos regiões rochas no local da coleta mas se aplicarmos gelo isso passa. A dor se ocorrer é muito pequena ou nem tem, e é raro o uso de remédio para passar a dor (analgésico). Caso haja tais desconfortos a nossa equipe do Laboratório Rômulo Rocha poderá seguir com o encaminhamento para as unidades parceiras como Hospital Geral de Goiânia ou até mesmo Hospital das Clínicas.

4. Formas de acompanhamento:

Vocês poderão receber nossas visitas de vez em quando, podemos ligar para vocês da comunidade de Araras ou mesmo mandar um e-mail quando for informado no questionário. E por

atendimento de rotina no HGG nas quartas-feiras quando se deslocam de Araras para realizarem as consultas.

5. Informe sobre o direito de pleitear indenização:

O direito de pleitear indenização em caso de danos decorrentes de sua participação na pesquisa somente se dará após comprovação da Verdade Real que será obtida pela relação direta entre o evento que deu causa e as consequências decorrentes geradas por este evento. cabendo neste caso a.

6. Informe que não haverá nenhum tipo de pagamento ou ajuda em dinheiro na sua participação:

Em se tratando desta pesquisa científica não há pagamento em dinheiro pela participação no projeto.

7. Informe de garantia de Sigilo:

Suas informações não serão passadas para ninguém fora do projeto e ficarão guardadas por 5 anos e os resultados da pesquisa pertence a você e não poderão ser passados a outras pessoas sendo que só os pesquisadores podem ter acesso. As informações das revistas de ciências não terão os dados que identifiquem vocês.

8. Informe sobre a garantia expressa de recusa de participação no projeto:

Informo que a qualquer momento você poderá desistir de participar da pesquisa e retirar suas informações e esta autorização da realização da pesquisa em qualquer dia e horário sem nenhum problema.

9. Informe sobre armazenamento de materiais biológicos da pesquisa:

A doença que estamos pesquisando em vocês pode ser rara e difícil do laboratório identificar, assim, pode haver necessidade de coletar mais sangue e de guarda-lo para repetir o exame no tempo de realização da pesquisa, porém, não serão abandonados em qualquer momento os preceitos da resolução 196/96.

10. Informe sobre ressarcimento das despesas decorrentes da participação da pesquisa:

Será garantida ao participante da pesquisa quando houver gastos pelo transporte e alimentação a devolução do dinheiro que foi gasto.

III. CONSENTIMENTO PÓS-INFORMADO

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO SUJEITO DA PESQUISA

Eu, _____, RG/ CPF/ n.º de prontuário/ n.º de matrícula _____, abaixo assinado, concordo em participar da pesquisa "**Distribuição do alelo mutado em pacientes e familiares com suspeita clínica de Xeroderma Pigmentosum residentes na cidade de Faina, Goiás**", como sujeito. Fui devidamente informado(a) e esclarecido(a) pelo pesquisador(a) _____ sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade (ou interrupção de meu acompanhamento/ assistência/tratamento, se for o caso).

Local e data: _____

Nome e Assinatura do sujeito: _____

ATENÇÃO: para pesquisas envolvendo crianças e adolescentes, portadores de perturbação mental ou doença mental e sujeitos em substancial diminuição em suas capacidades de consentimento, cujo Termo de Consentimento será assinado por seus representantes legais:

Eu, _____,
RG/ CPF _____, abaixo assinado, responsável por
_____, autorizo sua participação no
estudo **“Distribuição do alelo mutado em pacientes e familiares com suspeita clínica de XerodermaPigmentosum residentes na cidade de Faina, Goiás”**, como sujeito. Fui devidamente informado(a) e esclarecido(a) pelo pesquisador(a) _____ sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes da sua participação. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção do acompanhamento/ assistência/tratamento prestado ao sujeito pesquisado.

Local e data

Nome e Assinatura do responsável: _____

Anexo 3**Questionário aplicado aos participantes do estudo**

「 ID 』



**Instrumento de pesquisa
para a execução do projeto**

**Distribuição do alelo mutado em
pacientes e familiares com suspeita
clínica de Xeroderma Pigmentosum
residentes na cidade de Faina, Goiás.**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado (a) a participar, como voluntário (a), de uma pesquisa. Meu nome é **Rafael Souto**, sou o pesquisador responsável e minha área de atuação é análises moleculares e epidemiológicas aplicadas ao sistema de reparo de DNA. Após receber os esclarecimentos e as informações a seguir, no caso de aceitar a fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de recusa, você **não** será penalizado (a) de forma alguma.

Em caso de dúvida **sobre a pesquisa**, você poderá entrar em contato com o(s) pesquisador (es) responsável(is), **Rafael Souto** e **Carlos Frederico Martins Menck** nos telefones: (62) 92076406/32014231 e (11) 30917499, inclusive por ligações a cobrar. Em casos de dúvidas **sobre os seus direitos** como participante nesta pesquisa, você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Goiás, nos telefones: 3521-1075 ou 3521-1076.

I. Título da Pesquisa

“Distribuição do alelo mutado em pacientes e familiares com suspeita clínica de Xeroderma Pigmentosum residentes na cidade de Faina, Goiás.”

Pesquisador-Responsável: Rafael Souto Mestre em Genética e pesquisador do Centro de Excelência em Ensino Pesquisa e Projetos – Leide das Neves Ferreira e aluno de Doutorado na Pós Graduação da UFG/IPTSP/Epidemiologia e orientado por Dr. Carlos Frederico Martins Menck – Professor Titular do Departamento de Microbiologia – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, SP e Pesquisador Cadastrado no Programa de Pós-Graduação do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Publicada Universidade Federal de Goiás.

II. Explicações do pesquisador ao paciente ou representante legal (responsável)

1. Objetivos da pesquisa: Identificar danos no material genético que estão ligados a Doença Xeroderma Pigmentosum (XP) em moradores de Faina (no Distrito de Araras), Goiás .

2. Procedimentos utilizados:

Será realizado um exame médico pelos profissionais do Hospital Geral de Goiânia (HGG) onde vocês participantes deverão ser analisados para ver se existe uma associação entre o que estão sentindo no corpo e se os seus familiares também possuem os mesmos sintomas.

O pessoal da Associação Brasileira de Xeroderma Pigmentosum (ABRAXP) ajudarão na entrevista e no preenchimento dos questionários, nas fotos e na coleta de informações (sócio-demográficos, informações sobre os sintomas e de sua qualidade de vida), história da doença na família utilizando o questionário que estão sendo distribuídos para vocês (Anexo II), além disso, pegaremos informações em seu prontuário no HGG e Hospital do Câncer e, além disso, a equipe do laboratório Rômulo Rocha (UFG/Faculdade de Farmácia) auxiliará na coleta de 5mL de células sanguíneas em tubos vacutainer[®], para posterior extração de DNA e realização do teste genético da doença para pesquisa se você tem ou não Xeroderma Pigmentosum.

3. Complicações e riscos:

Na coleta de sangue você poderá sentir uma pequena dor da agulhada mas este ato é comum igual ao do laboratório, assim, poderá ter pequenos regiões rochas no local da coleta mas se aplicarmos gelo isso passa. A dor se ocorrer é muito pequena ou nem tem, e é raro o uso de remédio para passar a dor (analgésico). Caso haja tais desconfortos a nossa equipe do Laboratório Rômulo Rocha poderá seguir com o encaminhamento para as unidades parceiras como Hospital Geral de Goiânia ou até mesmo Hospital das Clínicas.

4. Formas de acompanhamento:

Vocês poderão receber nossas visitas de vez em quando, podemos ligar para vocês da comunidade de Araras ou mesmo mandar um e-mail quando for informado no questionário. E por atendimento de rotina no HGG nas quartas-feiras quando se deslocam de Araras para realizarem as consultas.

5. Informe sobre o direito de pleitear indenização:

O direito de pleitear indenização em caso de danos decorrentes de sua participação na pesquisa somente se dará após comprovação da Verdade Real que será obtida pela relação direta entre o evento que deu causa e as consequências decorrentes geradas por este evento. cabendo neste caso a.

6. Informe que não haverá nenhum tipo de pagamento ou ajuda em dinheiro na sua participação:

7. Informe de garantia de Sigilo:

Em se tratando desta pesquisa científica não há pagamento em dinheiro pela participação no projeto. Suas informações não serão passadas para ninguém fora do projeto e ficarão guardadas por 5 anos e os resultados da pesquisa pertence a você e não poderão ser passados a outras pessoas sendo que só os pesquisadores podem ter acesso. As informações das revistas de ciências não terão os dados que identifiquem vocês.

8. Informe sobre a garantia expressa de recusa de participação no projeto:

Informo que a qualquer momento você poderá desistir de participar da pesquisa e retirar suas informações e esta autorização da realização da pesquisa em qualquer dia e horário sem nenhum problema.

9. Informe sobre armazenamento de materiais biológicos da pesquisa:

A doença que estamos pesquisando em vocês pode ser rara e difícil do laboratório ver assim pode haver necessidade de coletar mais material de sangue e de guardar o sangue para repetir o exame no tempo de realização da pesquisa, porém, não serão abandonados em qualquer momento os preceitos da resolução 196/96.

10. Informe sobre ressarcimento das despesas decorrentes da participação da pesquisa:

Será garantida ao participante da pesquisa quando houver gastos pelo transporte e alimentação a devolução do dinheiro que foi gasto.

III. CONSENTIMENTO PÓS-INFORMADO

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO SUJEITO DA PESQUISA

Eu, _____, RG/ CPF/ n.º de prontuário/ n.º de matrícula _____, abaixo assinado, concordo em participar da pesquisa "Distribuição do alelo mutado em pacientes e familiares com suspeita clínica de Xeroderma Pigmentosum residentes na cidade de Faina, Goiás", como sujeito. Fui devidamente informado(a) e esclarecido(a) pelo pesquisador(a) _____ sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade (ou interrupção de meu acompanhamento/ assistência/tratamento, se for o caso).

Local e data: _____

Nome e Assinatura do sujeito: _____

ATENÇÃO: para pesquisas envolvendo crianças e adolescentes, portadores de perturbação mental ou doença mental e sujeitos em substancial diminuição em suas capacidades de consentimento, cujo Termo de Consentimento será assinado por seus representantes legais:

Eu, _____, RG/
CPF _____, abaixo assinado, responsável por

_____, autorizo sua participação no estudo “Distribuição do alelo mutado em pacientes e familiares com suspeita clínica de Xeroderma Pigmentosum residentes na cidade de Faina, Goiás”, como sujeito. Fui devidamente informado(a) e esclarecido(a) pelo pesquisador(a) _____ sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes da sua participação. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção do acompanhamento/ assistência/tratamento prestado ao sujeito pesquisado.

Local e data

Nome e Assinatura do responsável: _____



GPS: coordenadas latitude
coordenadas longitude

Perfil Sócio-Demográfico



___ / ___ / ___
data da entrevista

1. Local da entrevista

(1) Capital / Região Metropolitana (2) Entorno do DF (3) Interior

Parte I - Informações Gerais

2. Local de Nascimento (Pergunta: Em qual cidade e estado você nasceu?)

Cidade: _____

Estado: _____

3. Data de Nascimento (Pergunta: Qual sua data de nascimento?)

___ / ___ / ___

4. Idade (Pergunta: Qual sua idade?)

_____ anos

5. Sexo

(1) Masculino (2) Feminino

6. Pais vivos (pergunta: Seus pais ainda são vivos?)

(0) Não (1) Sim, ambos (2) Somente pai (3) Somente mãe

7. Quantidade de irmãos (Pergunta: Quantos irmãos você tem, de cada sexo?)

_____ homens _____ mulheres

8. Doenças na família (Pergunta: Alguma doença na família? Em caso afirmativo qual(is) doença(s)?)

(0) Não (1) Sim. Qual (is)? _____

9. Estado Civil (Pergunta: Qual seu atual estado civil?)

(1) Solteiro(a) (2) Viúvo(a) (3) Divorciado(a) / Separado(a)

(4) Casado(a) (5) Regime de união estável

Marcar '0' nas
questões 12 e 13

10. Duração do estado civil (Pergunta: Há quanto tempo está nesta condição?)

Tempo: _____

11. Trabalho do cônjuge (Pergunta: Seu / Sua esposo(a) / companheiro(a) trabalha fora?)

(0) Não (1) Sim

12. Doença do cônjuge (Pergunta: Seu/Sua esposo(a) / companheiro(a) tem algum problema de saúde? Em caso afirmativo, qual(is) doença(s)?)

(0) Não (1) Sim. Quais? _____

13. Quantidade de filhos (Pergunta: Quantos filhos você tem?)

Próprios:

Enteados:

Adotivos:

14. Doença do(s) filho(s) (Pergunta: Seu(s) filho(s) tem algum problema de saúde? Em caso afirmativo, qual(is) doença(s)?)

(0) Não (1) Sim. Quais? _____

15. Dependentes (Pergunta: Quantas pessoas moram com você? Em caso de filho(s), qual a idade dele(s)?)

Idade de cada filho _____

16. Renda (Pergunta: Qual a renda estimada de sua família?)

(1) Até 2 salários mínimos

(2) De 2 a 4 salários mínimos

(3) De 4 a 10 salários mínimos

(4) De 10 a 20 salários mínimos

(5) Acima de 20 salários mínimos

17. Renda (Pergunta: Seu(s) filho(s) ajuda(m) nas despesas da casa?)

(0) Não (1) Sim

18. Escolaridade (Pergunta: Você estudou até que série? Em caso de ensino superior, qual o curso de graduação?)

(1) 1º grau incompleto

(2) 1º grau completo

Qual curso de graduação?

(2) 2º grau incompleto

(4) 2º grau completo

(5) curso superior incompleto

(6) curso superior completo

19. Pós-graduação (Pergunta: Fez pós-graduação? Em caso afirmativo, qual(is)?)

(0) Não

(1) Sim. Qual(is)? _____

20. Religião (Pergunta: Você tem religião? Em caso afirmativo, qual a sua?)

(0) Não

(1) Sim. Qual? _____

21. Praticante (Pergunta: É praticante? Em caso afirmativo, com que frequência?)

(0) Não

(1) Sim. Frequência: _____

22. Moradia (Pergunta: A sua residência é ... ?)

(1) Própria

(2) Alugada

(3) Financiada

(4) Outros _____

23. Companhia (Pergunta: Você mora com quem?)

(1) Pais

(2) Esposo(a) e/ou filho(s)

(3) Sozinho

(4) Outros _____

24. Atividade extra (Pergunta: O que você faz quando não está no trabalho?)

Atividade _____

25. Lazer (Pergunta: O que você faz gosta de fazer nos seus momentos de lazer?)

Atividade _____

26. Transporte (Pergunta: Você utiliza para se locomover na maioria das vezes?)

(1) Transporte Público

(3) Carro próprio

(5) Outro _____

(2) Carro funcional

(4) Motocicleta

27. Atividade física (Pergunta: Pratica alguma atividade física? Em caso afirmativo, qual(is) atividade(s) e com que frequência?)

(0) Não

(1) Sim. Qual(is)? _____

Frequência: _____

Parte II - Informações Profissionais

28. Trabalho (Pergunta: No momento, você está empregado?)

(0) Não (1) Sim

29. Em caso de negativo, por que você não está empregado?

(0) Aposentado (1) Falta capacitação (2) Falta oportunidade (3) Outros _____

30. Regime (Pergunta: Você é servidor público?)

(0) Não (1) Sim

31. Duração na instituição (Pergunta: Você está na instituição há quanto tempo?)

Tempo: _____

32. Cargo (Pergunta: Qual o seu cargo? Há quanto tempo está nesse cargo?)

Cargo: _____

Tempo: _____

33. Função (Pergunta: Qual a sua função atual? Há quanto tempo está nessa função?)

(1) Administrativa (interno) (2) Operacional (externo)

Tempo: _____

Para as questões 31 e 32:
RESPONDER APENAS A QUESTÃO 31
RESPONDER AS DUAS QUESTÕES
NÃO RESPONDER NENHUMA DAS DUAS

34. Cobertura (Pergunta: O local onde trabalha é protegido de luz solar?)

(0) Não (1) Sim

Em caso negativo, qual o tempo estimado de exposição por dia? _____

37. Satisfação (Pergunta: Você está satisfeito com o emprego que possui?)

35 Proteção (Pergunta: Quando você está trabalhando você utiliza os equipamentos de proteção à sua saúde?)

(0) Não (1) Sim Qual? _____

36 Satisfação (Pergunta: Você está satisfeito com o emprego que possui?)

(0) Não (1) Sim Caso negativo, por que? _____

37. Mudança (Pergunta: Caso tivesse oportunidade de mudar de emprego, você estaria disposto a mudar?)

(0) Não (1) Sim

38. Qualificação (Pergunta: Você está disposto a se qualificar para obter novo emprego?)

(0) Não (1) Sim

40 Saúde (Pergunta: Você possui um plano de saúde?)

(0) Não (1) Sim Qual? _____



WHOQOL - ABREVIADO

versão em Português

PROGRAMA DE SAÚDE MENTAL
ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE
GENEBRA

Coordenação do GRUPO WHOQOL no Brasil

Dr. Marcelo Pio de Almeida Fleck
Professor Adjunto
Departamento de Psiquiatria e Medicina Legal
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre - RS - Brasil



Instruções

Este questionário é sobre como você se sente a respeito de sua qualidade de vida, saúde e outras áreas de sua vida. **Por favor, responda a todas as questões.** Se você não tem certeza sobre que resposta dar em uma questão, por favor, escolha entre as alternativas a que lhe pareça mais apropriada. Esta, muitas vezes, poderá ser sua primeira escolha.

Por favor, tenha em mente seus valores, aspirações, prazeres e preocupações. Nós estamos perguntando o que você acha da sua vida, tomando como referência as **duas últimas semanas**. Por exemplo, pensando nas últimas duas semanas, uma questão poderia ser:

	nada	muito pouco	médio	muito	completamente
Você recebe dos outros o apoio que necessita?	1	2	3	4	5

Você deve circular o número que melhor corresponde ao quanto você recebeu dos outros o apoio que necessita nestas últimas duas semanas. Portanto, você deve circular o número 4 se recebeu 'muito' apoio. Como abaixo.

	nada	muito pouco	médio	muito	completamente
Você recebe dos outros o apoio que necessita?	1	2	3	4	5

Você deve circular o número 1 se você recebeu 'nada' de apoio.

Por favor, leia cada questão e circule o número que lhe parecer a resposta mais adequada.

	muito ruim	ruim	nem ruim nem boa	boa	muito boa		
1	Como você avaliaria sua qualidade de vida?	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>

	muito ruim	ruim	nem ruim nem boa	boa	muito boa		
2	Quão satisfeito(a) você está com sua saúde?	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>

As seguintes são sobre o quanto você tem sentido algumas coisas nas últimas duas semanas.

	nada	muito pouco	mais ou menos	bastante	totalmente		
3	Em que medida você acha que sua dor (física) impede você de fazer o que você precisa?	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>
4	O quanto você precisa de algum tratamento médico para levar sua vida diária?	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>
5	O quanto você aproveita a vida?	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>
6	Em que medida você acha que sua vida tem sentido?	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>
7	O quanto você consegue se concentrar?	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>
8	Quão seguro(a) você se sente em sua vida diária?	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>
9	Quão saudável é o seu ambiente físico (clima, barulho, poluição, atrativos)?	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>

As questões seguintes são sobre como tem se sentido ou é capaz de fazer nas últimas duas semanas.

	nada	muito pouco	médio	muito	completamente		
10	Você tem energia suficiente para seu dia a dia?	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>
11	Você é capaz de aceitar sua aparência física?	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>
12	Você tem dinheiro suficiente para satisfazer suas necessidades?	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>
13	Quão disponíveis para você estão as informações que precisa no seu dia a dia?	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>
14	Em que medida você tem oportunidades de atividades de lazer?	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>

As perguntas a seguir são sobre quão bem ou satisfeito você se sentiu a respeito de vários aspectos da sua vida nas últimas duas semanas.

	muito ruim	ruim	nem ruim nem bom	bom	muito bom		
15	Quão bem você é capaz de se locomover?	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>

		muito insatisfeito	insatisfeito	neutro	satisfeito	muito satisfeito	
16	Quão satisfeito(a) você está com o seu sono?	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>
17	Quão satisfeito(a) você está com sua capacidade de desempenhar as atividades do seu dia a dia?	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>
18	Quão satisfeito(a) você está com sua capacidade para o trabalho?	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>
19	Quão satisfeito você está consigo mesmo?	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>
20	Quão satisfeito você está com suas relações pessoais (amigos, parentes, conhecidos, colegas)?	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>
21	Quão satisfeito(a) você está com sua vida sexual?	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>
22	Quão satisfeito(a) você está com o apoio que recebe de seus amigos?	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>
23	Quão satisfeito(a) você está com as condições do local onde mora?	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>
24	Quão satisfeito(a) você está com seu acesso aos serviços de saúde?	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>
25	Quão satisfeito(a) você está com seu meio de transporte?	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>

A questão seguinte refere-se a com que frequência você sentiu ou experimentou sentimentos nas últimas duas semanas

	nunca	algumas vezes	frequentemente	muito frequentemente	sempre		
26	Com que frequência você tem sentimentos negativos tais como mau humor, desespero, ansiedade, depressão?	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>

Alguém lhe ajudou a preencher este questionário? _____

Quanto tempo você levou para preencher este questionário? _____

Você tem algum comentário sobre o questionário? _____

Obrigado pela sua colaboração.

Anexo 4

Artigo de Identificação das Mutações em POLH

<https://doi.org/10.1111/bjd.15084>

Wiley Online Library

 [Login / Register](#)



Translational Research

A genetic cluster of patients with variant xeroderma pigmentosum with two different founder mutations

V. Munford, L.P. Castro, R. Souto, L.K. Lerner, J. B. Vilar, C. Quayle, H. Asif, A.P. Schuch, T.A. de Souza, S. lenne, F.J.A. Alves, L.M.S. Moura, P.A.F. Galante ... [See all authors](#) ▾

First published: 24 September 2016 | <https://doi.org/10.1111/bjd.15084> | Citations: 18

Funding sources:

This work was supported by São Paulo Research Foundation (FAPESP, Brazil; Grants #2014/15982-6 and #2013/08028-1), National Counsel of Technological and Scientific Development (CNPq) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES; Brasília, DF, Brazil), and Centre national de la recherche scientifique (CNRS; Paris, France).

Conflicts of interest:

None declared.

V.M. and L.P.C. contributed equally to this work.

[Plain language summary](#) available online



[Volume 176, Issue 5](#)
May 2017
Pages 1270-1278



Related



Information

Recommended

[Molecular genetics of Xeroderma pigmentosum variant](#)

Alexei Gratchev, Pamela Strein, Jochen Utikal, Sergij Goerdit

[Experimental Dermatology](#)

[Xeroderma Pigmentosum](#)

DNA Repair and Mutagenesis, [1]