

**DANIELA TATHIANA SOLTYS**

**Análise da natureza genotípica de pacientes  
Xeroderma Pigmentosum brasileiros**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Microbiologia

Orientador: Prof. Dr. Carlos Frederico Martins Menck

São Paulo

2010

## RESUMO

SOLTYS, D T. **Análise da natureza genotípica de pacientes Xeroderma Pigmentosum brasileiros**. 2010. 155 f. Tese (Doutorado em Microbiologia) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

Para preservar seu patrimônio genético, os organismos contam com uma complexa e intrincada rede de vias de reparo de DNA. Entre essas, destaca-se o NER (*Nucleotide Excision Repair*), pela sua capacidade de reparar uma ampla variedade de lesões no DNA. Participam do NER diversas proteínas, entre elas a endonuclease XPG. Pacientes que possuem essa proteína mutada apresentam a síndrome hereditária, de trato autossômico e recessivo, Xeroderma Pigmentosum (XP), ou em alguns casos XP combinada com a síndrome de Cockayne (XP/CS). No presente trabalho investigamos a natureza genética de dois pacientes XP brasileiros. Tais pacientes são irmãos, e apresentam fenótipo moderado. Através de um teste de complementação utilizando fusão celular, ambos foram diagnosticados como pertencentes ao grupo de complementação G. As linhagens celulares derivadas da biópsia da pele destes pacientes demonstraram alta sensibilidade à luz UVC, característica típica desta síndrome. Ainda, quando expostas a um agente oxidativo (azul de metileno associado à luz visível), tal sensibilidade celular não foi observada, ao contrário de células XP-G/CS, que se apresentaram sensíveis. Foi também observado que, quando tratadas com esse agente oxidativo, células XP-G/CS exibiram um bloqueio em G2/M. A expressão de XPG na célula dos pacientes brasileiros mostrou-se próxima da expressão encontrada nos controles empregados, tanto no nível transcricional como traducional. As sequências tanto do RNA mensageiro (RNAm) como do DNA genômico (DNAg) extraídos das células dos pacientes apresentaram duas mutações *missense* em heterozigose composta: c.83C>A (p.Ala28Asp), de origem paternal, e c.2904G>C (p.Trp968Cys), de origem maternal. Essas duas mutações ainda não foram descritas na literatura e a comparação com outras mutações já existentes no gene XPG é apresentada. Encontramos também alguns polimorfismos sendo um com interesse particular, c.3310G>C (p.Asp1104His), apresentado em homozigose no material genético dos pacientes e que está relacionado com o aumento da predisposição a alguns tipos de cânceres. Através da análise do impacto da substituição do aminoácido, utilizando as ferramentas *SIFT* e *PMut*, observamos que as mutações p.Ala28Asp e p.Trp968Cys possuem um impacto negativo na funcionalidade da proteína XPG. O polimorfismo p.Asp1104His apresentou divergências entre as duas análises. Construímos vetores de expressão em células de mamíferos que possuem como inserto os cDNAs de XPG que simulam algumas das formas alélicas encontradas no gene XPG. Tais vetores foram utilizados em testes de complementação através da técnica conhecida como *Host Cell Reactivation* (HCR), e a proteína contendo a mutação p.Ala28Asp apresentou uma atividade residual e deficiência na retomada dos processos de reparo de DNA em células XP-G/CS. Esses resultados indicam que o fenótipo XP-G desses pacientes é causado por duas mutações *missense* em heterozigose composta, o que correlaciona bem com o fenótipo brando apresentado, e que células portadoras dessas mutações exibem respostas diferenciadas frente aos estresses genotóxicos causados pela luz UV e pelo agente oxidativo utilizado.

**Palavras-chave:** Xeroderma Pigmentosum. Reparo de DNA. Luz ultravioleta. Danos oxidativos. Variantes alélicas.

## ABSTRACT

SOLTYS, D T. **Analysis of the genetic nature in Brazilian Xeroderma Pigmentosum patients.** 2010. 155 p. PhD Thesis (Microbiology) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

NER (Nucleotide Excision Repair) is the most flexible of all known DNA repair mechanisms. XPG is a 3'-endonuclease that participates in the final steps of NER. Mutations in this gene may result in the group G form of the human syndrome Xeroderma Pigmentosum (XP) and, in some cases, in the severe early onset Cockayne Syndrome (CS). In this work, we investigated the genetic nature in two Brazilians XP patients, siblings and mildly affected, diagnosed as XP-G by the heterodikaryon complementation test. The cells from these patients demonstrated the high UV sensitivity typical of this syndrome, but they are not sensitive to Methylene Blue plus light, an agent that causes oxidative stress. On the other hand, XP-G/CS cells are sensitive to this oxidative agent, and also display a cell cycle arrest in the G2/M phase. The *XPG* expression in cells from the Brazilian XP patients had shown the same yields of the normal control, at the transcriptional and translational levels. The possibility of exon skipping was discarded by specific mRNA exon analyses. The sequence of both mRNA and gDNA revealed two missense mutations in a compound heterozygosis manner: c.83C>A (p.Ala28Asp), located in the paternal allele, and c.2904G>C (p.Trp968Cys), in the maternal allele. These two mutations were not previously described and a comparison with other known mutations in the *XPG* gene is presented. We also found some SNP's and one of particular interest, c.3310G>C (p.Asp1104His), which has been reported as a polymorphism related to increase predisposition to some types of cancer. Analyzing the impact of the aminoacid substitution through the internet tools *SIFT* and *PMut* we confirmed that p.Ala28Asp and p.Trp968Cys have a negative impact in the protein function. The polymorphism p.Asp1104His showed discrepancies between the two analyses. We constructed mammalian expression vectors containing the cDNAs of *XPG* that mimic some of the allelic forms found in the *XPG* gene. Such vectors was used in complementation tests using the technique known as Host Cell Reactivation (HCR), and the protein harboring the mutation p.Ala28Asp exhibited residual activity and was not capable to complete restore the DNA repair deficiency in XP-G/CS cells. These results indicate that the phenotype of XP-G patients is caused by two missense mutations in a compound heterozygous manner, which correlates well with the mild phenotype presented, and that the cells carrying these mutations exhibit different responses against genotoxic stress caused by the UV light and by the oxidative agent used.

**Keywords:** Xeroderma Pigmentosum. DNA repair. Ultraviolet light. Oxidative damage. Allelic variants.

## **1 INTRODUÇÃO**

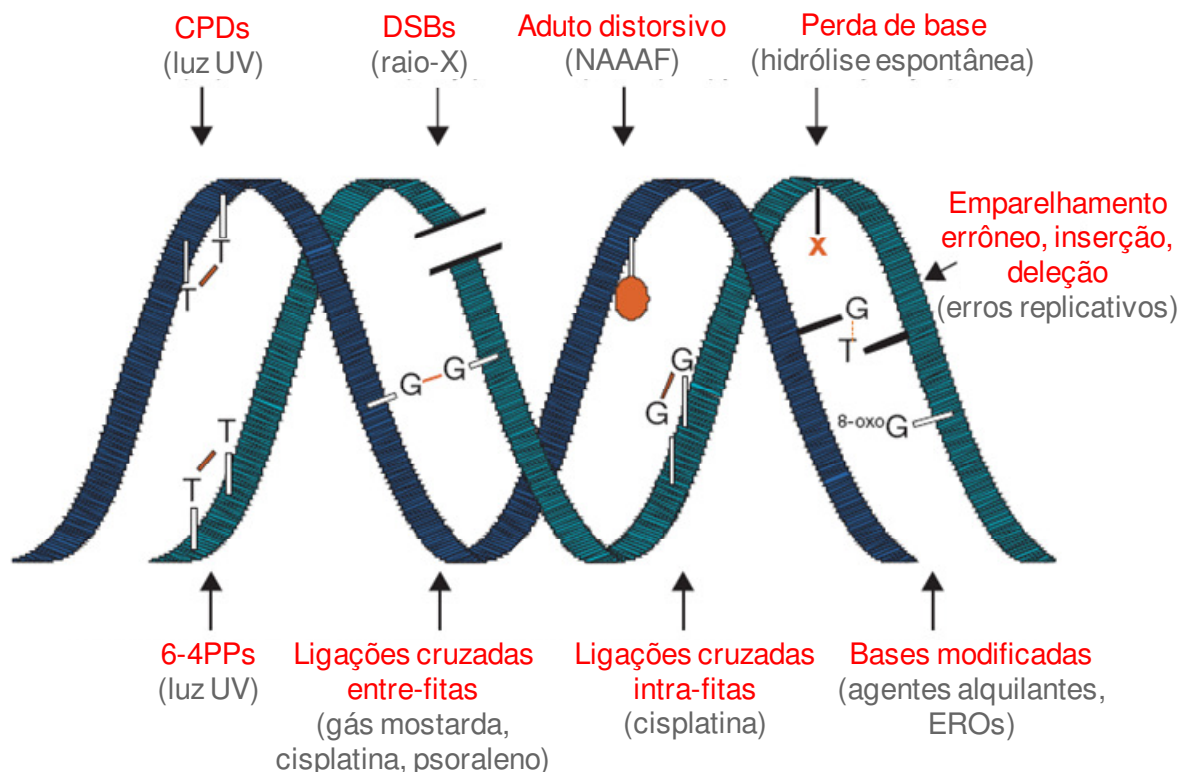
A molécula do DNA possui um papel central na vida. É a macromolécula detentora das informações genéticas, sendo estas fundamentais para o correto funcionamento e desenvolvimento do organismo, seja ele procariótico ou eucariótico. Com a informação contida no DNA, os organismos transcrevem RNA, que serão traduzidos em proteínas ou participarão de processos regulatórios e estruturais. As proteínas, por sua vez, também são moléculas-chaves na composição de estruturas, sinalizações e regulações das mais diversas naturezas, além de seu papel enzimático, essencial para que uma infinidade de reações aconteça no organismo. Todo esse cenário forma a base da complexidade existente nos seres vivos.

Além da função de armazenar as informações genéticas, o DNA é a molécula utilizada na transmissão dessas informações vitais para as futuras gerações, tendo um papel fundamental na hereditariedade. No entanto, ao contrário das outras moléculas que são renováveis, o DNA não pode ser substituído, e algum erro adquirido pode ser permanente e as consequências desastrosas. Todas essas características tornam o DNA uma molécula indispensável e insubstituível, e para manter sua integridade os organismos desenvolveram uma complexa rede de manutenção do genoma.

### **1.1 O ataque ao genoma: lesões no DNA**

Os genomas celulares estão em contato com uma variedade de agentes lesivos ao DNA, tanto de origem endógena como exógena, que levam ao dano do material genético e mutagênese (FRIEDBERG et al., 2004). Essas mutações, se por um lado são a base da evolução biológica através da seleção natural, por outro podem levar ao processo carcinogênico entre outras alterações no metabolismo normal das células e do organismo como um todo. As lesões no material genético afetam consideravelmente a funcionalidade das células, sendo no geral deletérias, causando morte celular, degeneração de tecidos e envelhecimento (LOMBARD et al., 2005; TUTEJA e TUTEJA, 2001). O DNA não é uma molécula inerte, e encontramos lesões no DNA de diferentes naturezas, que levam à alteração de sua

estrutura química, como pode ser observado na figura 1.



**Figura 1** – Lesões que podem ser encontradas no DNA, e exemplos de agentes causadores.

Fonte: Adaptada de Garinis et al., 2008.

Estima-se que milhares de quebras da fita do DNA e perdas espontâneas de bases ocorram diariamente no genoma de toda célula (LINDAHL, 1993). De fato, grande parte das lesões espontâneas é decorrente da instabilidade química inerente das ligações específicas dos nucleotídeos. A própria replicação do DNA pode ser uma fonte de alterações, caso ocorra a inserção errônea de um nucleotídeo, assim como quebras da fita de DNA podem ocorrer se as atividades das topoisomerases I e II forem abortadas (JACKSON e BARTEK, 2009). Também na classe de lesões de origem endógena, temos as originadas pelo metabolismo celular, com destaque para as espécies reativas de oxigênio, subprodutos da respiração celular.

De especial interesse são as lesões de origem ambiental, responsáveis pela mutagênese ambiental, que decorrem das interações do DNA com diferentes agentes físicos (como a radiação ionizante e a luz ultravioleta - UV) e químicos (como agentes alquilantes e a mitomicina), presentes no meio ambiente e coletivamente chamados de agentes genotóxicos (FRIEDBERG et al., 2004). Muitos

quimioterápicos atuam como agentes que lesam o DNA, como a cisplatina, o que causa a morte celular de forma direta ou após passar pela replicação do DNA, e como geralmente as células tumorais apresentam uma maior taxa de proliferação, acabam sendo um alvo dessas drogas (HELLEDAY et al., 2008).

### 1.1.1 Luz UV, o perigo que vem do sol

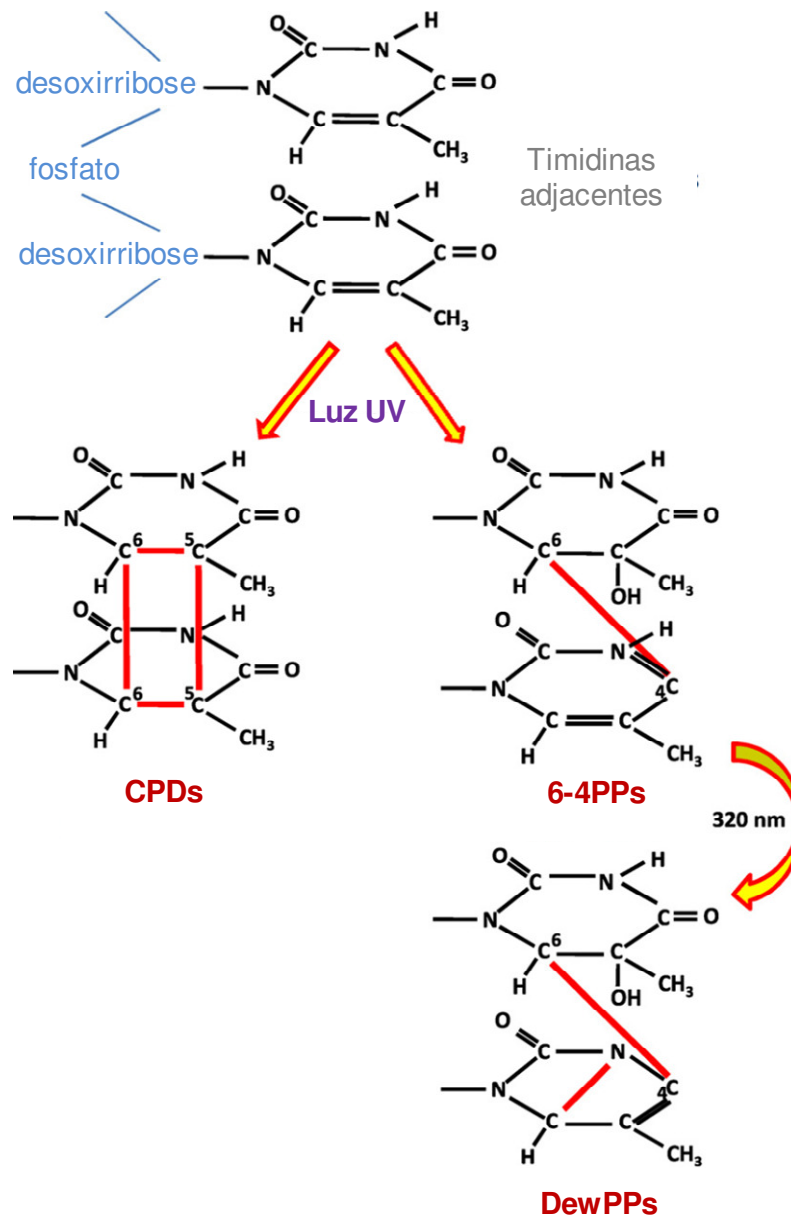
Um dos agentes lesivos do DNA mais bem estudados é a luz UV. Isso se deve em parte à sua importância ambiental, tendo em vista que praticamente todo ser vivo que se encontra na superfície terrestre está exposto a esse agente genotóxico. A principal fonte dessa radiação é a luz solar, sendo que a luz UV corresponde à faixa de menor comprimento de onda do espectro eletromagnético solar e pode ser subdividida em UVC (200-280 nm), UVB (280-315 nm) e UVA (315-400 nm). Enquanto a UVC é barrada na atmosfera pela camada de ozônio, uma porção da UVB e a totalidade da UVA, por possuírem maiores comprimentos de onda, atingem a superfície terrestre, sendo que a UVA é capaz de transpor a barreira natural da pele (MCMILLAN et al., 2008)

No entanto, a UVC é uma poderosa ferramenta em estudos científicos que visam estudar os efeitos de lesões provocadas pela luz UV na molécula do DNA, uma vez que o DNA possui um pico de absorção em 260 nm, o que leva a uma eficiente geração de danos nessa macromolécula, além da vantagem de que nesse comprimento de onda não há uma absorção eficiente pelas proteínas (BATISTA et al., 2009). Outra conveniência que podemos mencionar é a de ser uma metodologia relativamente fácil de ser implantada no laboratório, uma vez que a maioria das lâmpadas germicidas emite luz UVC. Além disso, as principais lesões geradas pela UVC são também encontradas após exposição à UVB e UVA, sendo que essas lesões, os fotoprodutos, são os principais responsáveis pelos efeitos genotóxicos após exposição a uma fonte artificial de luz UV ou à luz solar (SCHUCH e MENCK, 2010).

A luz UV causa lesões específicas no DNA, os fotoprodutos, dos quais os principais são os CPDs (do inglês *cyclobutane pyrimidine dimers*) e os fotoprodutos pirimidina (6-4) pirimidona (6-4PPs) (SCHUCH et al., 2009). A formação de CPDs

ocorre quando bases pirimidínicas adjacentes absorvem a energia da luz UV, tornando-se covalentemente ligadas pela formação de um anel ciclobutano entre os átomos de carbono C5 e C6 de ambas as bases nitrogenadas. No caso dos 6-4PPs também ocorre uma ligação covalente entre pirimidinas da mesma fita, contudo esta não é cíclica, e envolve os carbonos C6 e C4 das pirimidinas 5' e 3', respectivamente (FRIEDBERG et al., 2006). Ainda, podemos ter a formação de um terceiro fotoproduto, o isômero Dewar (DewPPs), gerado pela fotoisomerização do 6-4PP após ser exposto à luz UVA (PERDIZ et al., 2000). As estruturas químicas desses fotoprodutos podem ser encontradas na figura 2. Podemos destacar também a formação de lesões oxidativas e de quebras de simples fita (SSBs, do inglês *single strand breaks*) no DNA, especialmente quando exposto à luz UVA (SCHUCH e MENCK, 2010).

Esses fotoprodutos, uma vez que são formados através da ligação covalente de pirimidinas adjacentes, causam distorções na dupla hélice do DNA, sendo que a lesão 6-4PP apresenta-se como mais distorciva. Essas distorções tornam-se barreiras físicas para as polimerases, tanto para as RNA polimerases que agem na transcrição como para as DNA polimerases que atuam na replicação, levando ao bloqueio desses processos fundamentais para o metabolismo celular. Apresentam também diferenças quanto à proporção no genoma, sendo a lesão CPD mais abundante, uma vez que em doses equivalentes de UVC são formadas uma média de 3 a 5 CPDs para cada 6-4PP (LO et al., 2005; SAGE, 1993; VAN HOFFEN et al., 1995). Outra diferença marcante entre esses fotoprodutos é a cinética de remoção do genoma, e foi verificado que as lesões CPDs apresentam um reparo mais lento, sendo uma possível causa o menor grau de distorção apresentado por essa lesão, em relação ao 6-4PP (KOBAYASHI et al., 2001). Se não reparadas, as lesões induzidas por luz UV podem levar a mutações, com destaque para as transições de C para T e de CC para TT, conhecidas como assinaturas do espectro mutagênico induzido por UV, devido à inserção errônea de adeninas no lugar das citosinas que fazem parte dos fotoprodutos (MATSUMURA e ANANTHASWAMY, 2004).



**Figura 2** – Principais fotoprodutos formados pela luz UV.  
Fonte: Adaptada de Batista et al., 2009.

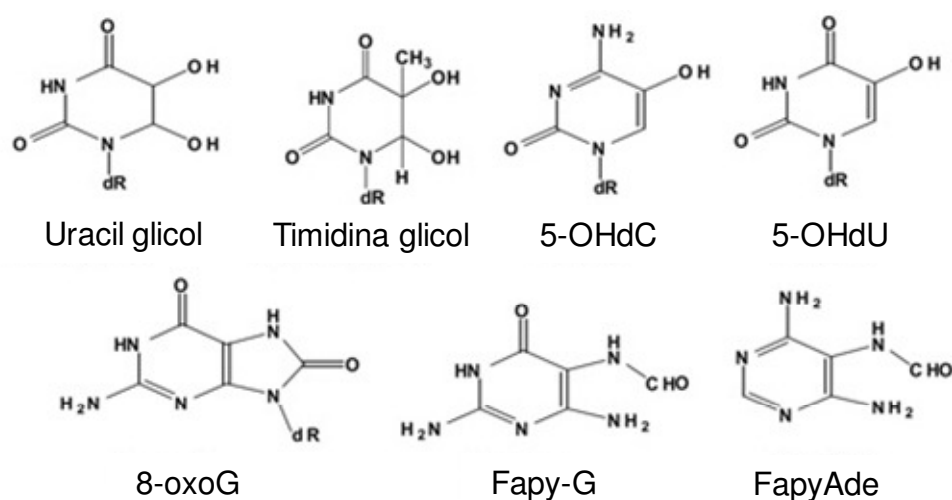
### 1.1.2 Lesões oxidativas no DNA

Espécies reativas de oxigênio (EROs) são constantemente geradas em nossas células, e podemos destacar algumas fontes de geração: 1) através da radiação pela luz UV, raios-X ou raios-gama; 2) produtos de reações de catálise mediadas por metais, como as reações de Fenton; 3) através de poluentes provenientes da atmosfera; 4) produzidos por neutrófilos e macrófagos durante a resposta inflamatória; e 5) são subprodutos das reações que ocorrem na cadeia de



transporte de elétrons, localizada na mitocôndria, durante a respiração aeróbica; entre outros mecanismos (VALKO et al., 2006). O termo EROs, bastante difundido, inclui além dos radicais de oxigênio – que tem como conceito aquelas espécies que contém um ou mais elétrons desemparelhados, como o radical hidroxila ( $\cdot\text{OH}$ ), o óxido nítrico ( $\text{NO}\cdot$ ) e o radical superóxido ( $\text{O}_2\cdot^-$ ) –, os derivados de oxigênio que não são radicais, como o peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), o ácido hipocloroso ( $\text{HOCl}$ ), o ozônio ( $\text{O}_3$ ) e o oxigênio singlete ( $^1\text{O}_2$ ) (HALLIWELL, 1999).

Em organismos saudáveis, a produção de EROs é balanceada por sistemas de defesa antioxidante, contudo, esse balanço não é perfeito, e o excedente de EROs causa danos em moléculas como o DNA, proteínas, lipídeos e açúcares (HALLIWELL, 1999), sendo estimado que cerca de 100.000 danos ocorram diariamente, em cada célula, decorrentes da presença de EROs (FRAGA et al., 1990). Os danos oxidativos no DNA podem tanto acontecer em suas bases como na desoxirribose, assim como decorrer da formação de adutos originados pela ligação cruzada entre DNA e proteínas (EVANS et al., 2004). Alguns exemplos de bases oxidadas podem ser encontrados na figura 3. Outra classe de danos causados são as quebras de simples fita da molécula de DNA (SSBs, do inglês *single strand breaks*), que podem levar à formação de quebras de dupla fita (DSBs, do inglês *double strand breaks*) caso a forquilha de replicação encontre as SSBs. A peroxidação lipídica também pode originar danos no DNA, como demonstrado pela reação do malondialdeído (um produto da peroxidação lipídica) com as bases do DNA, o que leva a formação de adutos (VALKO et al., 2006).



**Figura 3** – Exemplos de bases oxidadas.

Fonte: Adaptada de Loft et al., 2008.

Uma das lesões oxidativas mais estudadas é a 8-oxo-7,8-dihidroguanina (8-oxoG), e a sua presença é frequentemente utilizada como um biomarcador da extensão do estresse oxidativo. Essa lesão é particularmente deletéria devido à mudança de dois átomos do nucleotídeo guanina (a introdução de um grupo hidroxila no carbono C8 e de um átomo de hidrogênio no nitrogênio N7), além da sua habilidade em realizar o pareamento errôneo G:A. As características estruturais da 8-oxoG permitem o *bypass* dessa lesão pela DNA polimerase, tornando essa lesão extremamente mutagênica (DAVID et al., 2007).

A importância das lesões oxidativas no DNA é ainda maior quando se leva em conta seu potencial mutagênico, sendo apontado como um dos agentes causais em processos como envelhecimento e câncer (LOFT et al., 2008). É importante ressaltar que, assim como o DNA genômico (DNAg), o DNA mitocondrial (DNAm) é um alvo das EROs, o que é potencializado pela sua proximidade com a cadeia de transporte de elétrons, e a instabilidade do DNAm tem sido apontada como uma das causas no desenvolvimento de doenças neurodegenerativas como Alzheimer e Parkinson (DE SOUZA-PINTO et al., 2008).

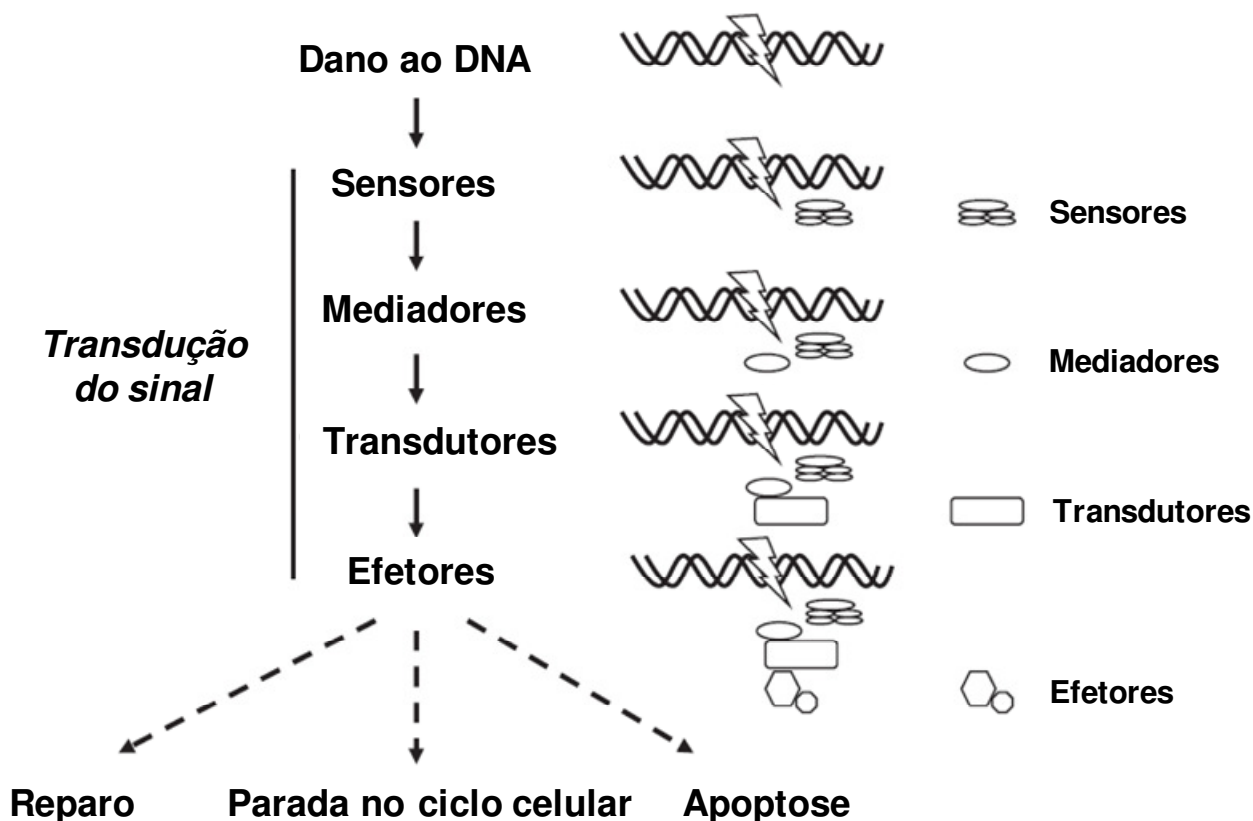
Tendo em vista o papel das lesões oxidativas na saúde humana, existe um interesse crescente da comunidade científica no estudo dessas lesões e de suas consequências em diferentes modelos. Um agente comumente utilizado para induzir esse tipo de lesões é o azul de metileno (MB, do inglês *methylene blue*). O MB é um fotossensibilizador que, após ser iluminado no comprimento de onda correto, absorve energia, levando a molécula ao estado excitado. A energia de excitação pode ser transferida para uma molécula de O<sub>2</sub>, gerando EROs como o oxigênio singlete (HALLIWELL, 1999). Foi demonstrado que o tratamento com MB e luz gera predominantemente lesões do tipo 8-oxoG em DNA plasmidial (SCHNEIDER et al., 1990), assim como em células e vírus (EPE et al., 1993; FLOYD et al., 2004). Ainda, o MB apresenta incorporação em células e tecidos, devido a sua carga positiva e o seu caráter hidrofílico, e uma baixa toxicidade quando não é fotossensibilizado (BLAZQUEZ-CASTRO et al., 2009). Tais características levaram essa substância a se tornar uma importante ferramenta nos estudos que pretendem avaliar as respostas frente aos danos genotóxicos produzidos por agentes oxidativos.

## 1.2 O contra-ataque: respostas aos agentes genotóxicos

Uma vez que a célula é exposta a agentes genotóxicos, uma série de modificações na fisiologia celular será desencadeada, seja como respostas ao dano ou como consequências dos mesmos. A amplitude dessas respostas e seu repertório são variáveis conforme o agente que provocou a lesão, a dose e o tempo de exposição. Entre essas alterações no metabolismo celular podemos destacar: 1) remoção do dano e restauração da integridade da dupla fita pelo reparo de DNA; 2) ativação de mecanismos de *checkpoint*; 3) respostas transcricionais, ocorrendo tanto modulação da expressão de genes como inibição do processo transcricional; 4) indução de mecanismos de morte celular, como a apoptose; 5) eventos mutagênicos; 6) inibição da replicação; 7) ativação de mecanismos de tolerância aos danos (SANCAR et al., 2004; YANG e ZOU, 2009).

Uma das respostas celulares aos danos genotóxicos ocorre através da ativação de mecanismos de *checkpoint*. Os *checkpoints* de danos ao DNA constituem vias bioquímicas que são ativadas em resposta ao dano, que culminam na parada do ciclo celular. Originalmente, o termo se refere a pontos específicos onde as células são checadas quanto à integridade do DNA, e, caso exista dano, há uma parada no ciclo, permitindo a ação das vias de reparo de DNA e das polimerases de síntese translesão, para então poderem prosseguir no ciclo celular, evitando a formação de células contendo mutações e aberrações cromossômicas (SANCAR et al., 2004). Caso a extensão do dano seja muito elevada, haverá o disparo dos mecanismos de morte celular, como a apoptose.

As proteínas de *checkpoint* são recrutadas para os sítios contendo lesões, frequentemente pelos próprios complexos de reparo que geram intermediários que funcionam como sinais para ativar tal resposta, ou por proteínas sensoras, como Rad9, Rad1, Hus1 e Rad17. Após a ativação, os transdutores (como ATM e ATR) transmitem e amplificam o sinal através de uma cascata de sinalização envolvendo principalmente fosforilação de proteínas que participam desse processo (por exemplo, Chk1, Chk2 e p53), até chegar aos alvos, que geralmente são as maquinarias de reparo de DNA e de ciclo celular (BRANZEI e FOIANI, 2008; NAKANISHI et al., 2006). Uma visualização conceitual da transdução de sinal que ocorre no *checkpoint* pode ser encontrada na figura 4.



**Figura 4** – *Transdução de sinal que ocorre na ativação de mecanismos de checkpoint.*  
 Fonte: Adaptada de Nakanishi et al., 2006.

Outra importante resposta das células é a parada da replicação. Uma vez que encontramos danos no DNA, como os fotoprodutos, a célula precisa primeiramente lidar com estes danos, para então prosseguir no ciclo e assim evitar a mutagênese, ou, como já mencionado, caso a extensão dos danos celulares seja muito elevada, outro destino possível é a morte celular. Sendo assim, a replicação no DNA é interrompida, tanto para evitar a fixação da mutação, como pelo próprio bloqueio físico da forquilha frente às lesões (NIKOLAISHVILI-FEINBERG e CORDEIRO-STONE, 2001). Ainda, temos como fatores que influenciam nesta interrupção o atraso na progressão do ciclo gerado pela ativação dos mecanismos do *checkpoint*, além da inibição do surgimento de novas origens de replicação (HEFFERNAN et al., 2002).

Porém, no repertório da maquinaria de replicação, as células também contam com um mecanismo conhecido como síntese translesão (TLS, do inglês *translesion synthesis*), no qual participam polimerases passíveis de erro, que são especializadas em realizar o *bypass* de lesões, evitando a parada da replicação (LEHMANN, 2002). Com relação às lesões causadas por UV, destacam-se duas DNA polimerases para

a TLS: DNA polimerase  $\eta$  e  $\zeta$ . Enquanto a pol $\eta$  está envolvida principalmente com o *bypass* de lesões como o CPD (MASUTANI et al., 1999), foi demonstrado que a pol $\zeta$  é a polimerase envolvida na tolerância frente às lesões do tipo 6-4PPs (NAKAJIMA et al., 2004).

### **1.3 Reparo de DNA: o guardião do genoma**

O reparo do DNA é fundamental para a manutenção do equilíbrio da vida, e os organismos, tanto procariotos como eucariotos, contam com uma complexa e intrincada rede de vias de reparo de DNA. A ampla variedade de lesões, e a necessidade de uma acurada correção, tornam necessária a existência de uma ampla gama de mecanismos para corrigi-las, e que muitas vezes funcionam como um *backup* entre si, garantindo a integridade do genoma. Devido ao seu papel o reparo de DNA é conhecido como “guardião do genoma”, e os genes que codificam as proteínas que participam desse processo celular são classificados como supressores de tumor. Diversos estudos têm observado a participação de proteínas de uma via atuando em outras vias de reparo (SUGASAWA, 2008), o que demonstra a característica de rede na qual é organizada essa importante estratégia de sobrevivência celular.

O mecanismo de reparo que será ativado depende, primeiramente, do tipo de lesão. Além do tipo de lesão, outro fator importante é o tipo celular e a etapa do ciclo celular ou diferenciação na qual a célula se encontra. Um exemplo são as células com diferenciação terminal, como os neurônios, que apresentam modulação da atividade de suas vias de reparo, mantendo ativa principalmente a via que repara genes que estão sendo transcritos, enquanto outras vias estão reguladas negativamente (NOUSPIKEL, 2007). Outra característica marcante que se tornou um recente objeto de estudo é a organização espacial e temporal da maquinaria de reparo, demonstrando que a arquitetura do núcleo, com a estrutura e a dinâmica da cromatina, em uma organização não-randômica do genoma, são aspectos importantes na manutenção do genoma (MISTELI e SOUTOGLOU, 2009).

Algumas lesões são objetos de reparo por reversão direta, e a fotorreativação, que será melhor discutida na próxima seção, é um exemplo desse mecanismo

simples e direto. Outro exemplo é a proteína metil-guanina-metil-transferase (MGMT), que atua de forma “suicida”, transferindo o grupo alquil de uma base metilada para um resíduo de cisteína da própria proteína de reparo, que se torna inativa (SHRIVASTAV et al., 2010). No reparo conhecido como *Mismatch Repair* (MMR) a detecção de emparelhamentos errôneos ou de inserções/deleções, que podem ocorrer devido a erros replicativos ou alterações da base, leva à incisão da fita lesionada que depois é resolvida por nucleases, polimerases e ligases (JIRICNY, 2006).

Para o reparo de duplas quebras da fita de DNA (DSBs), existem dois mecanismos principais: o NHEJ (*Non Homologous End Joining*) e o HR (*Homologous Recombination*). No reparo conhecido como NHEJ, as duplas quebras são reconhecidas pela proteína Ku, que por sua vez ativa as quinases DNA-PKcs, e estas levam ao recrutamento e ativação de proteínas de processamento, polimerases e DNA ligase IV (LIEBER, 2008). Esse é um mecanismo passível de erro, mas com a vantagem de possibilitar o reparo independente da fase do ciclo na qual a célula se encontra. Já o HR é um mecanismo mais acurado, porém, devido à dependência de mecanismos de recombinação, acontece somente em células que estejam em fase S ou G2, uma vez que apenas nessas células é possível utilizar a sequência da cromátide-irmã para a realização do reparo. Existem diversas subvias de HR, mas basicamente, o processo ocorre da seguinte forma: acontece a geração de DNAsf (DNA simples fita); essa extremidade é utilizada na invasão da fita não danificada que possui a sequência homóloga; segue-se a ação de polimerases, helicases entre outros componentes para a resolução da junção do tipo *Holliday* formada; finaliza-se com a ligação do DNA e restauração da integridade da dupla fita. É importante ressaltar que a maquinaria de HR não é somente utilizada no reparo, uma vez que também participa da resolução de forquilhas de replicação bloqueadas, da segregação cromossômica que ocorre durante a meiose, assim como da manutenção dos telômeros (SUNG e KLEIN, 2006).

Outras vias de reparo são o NER (*Nucleotide Excision Repair*), que juntamente com as fotoliasas é um dos principais mecanismos para a remoção de fotoprodutos do genoma, e o BER (*Base Excision Repair*), que participa do reparo de bases modificadas e de sítios AP. Esses mecanismos serão detalhados nas próximas seções.

### 1.3.1 BER, uma via frequente

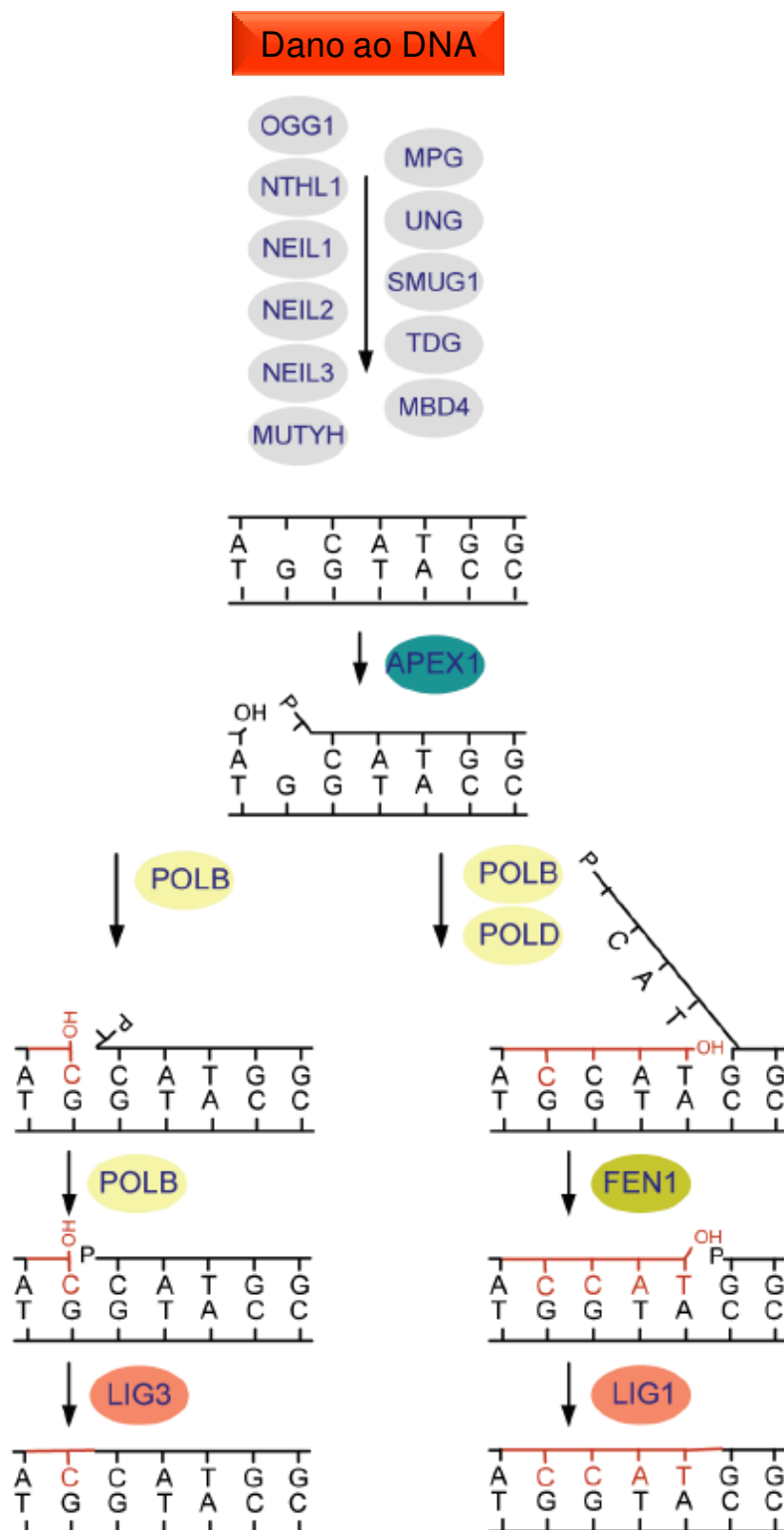
Uma vez que a célula é exposta aos agentes oxidativos, diversos tipos de lesões no DNA podem ser gerados. Algumas dessas lesões podem levar a disfunções celulares, o que por sua vez pode levar a célula ao processo de morte ou senescência (CHEN et al., 2007). Podemos ter ainda o pareamento errôneo de bases modificadas, que se não forem reparadas, resultam na incorporação de uma base incorreta pela DNA polimerase, causando mutações (ROBERTSON et al., 2009). É importante ressaltar que o DNA não pode ser substituído quando danificado, e os organismos desenvolveram uma série de mecanismos para preservar o DNA dos efeitos danosos gerados pelo estresse oxidativo, sendo que a principal via de reparo de DNA que lida com essas injúrias ao material genético é conhecida como *Base Excision Repair* (BER).

O BER é provavelmente a via de reparo utilizada com maior frequência, e é responsável pela restauração de diversos tipos de lesão, incluindo bases modificadas e sítios AP (FRIEDBERG et al., 2006). Essa via de reparo foi descoberta por Lindahl há mais de três décadas, que, em sua procura por alguma atividade catalítica capaz de remover a base mutagênica uracila do DNA, identificou uma atividade enzimática que catalisa a remoção da uracila como uma base livre (LINDAHL, 1974), levando à descoberta da uracil DNA glicosilase. Diversas glicosilases foram reveladas desde então, e elas participam do cerne que permeia esse mecanismo de reparo, juntamente com AP endonucleases (ou AP liases), DNA polimerases e DNA ligases.

O mecanismo de BER é iniciado pelo reconhecimento e remoção da base modificada pela DNA glicosilase, gerando um sítio AP. Existem diversas glicosilases, que reconhecem tipos específicos de lesões, sendo que algumas lesões são reconhecidas por mais de uma glicosilase, conferindo um grau de redundância ao processo (MAYNARD et al., 2009). Um exemplo de glicosilase é a OGG1, responsável pelo reconhecimento e excisão da base modificada 8-oxoG (DAVID et al., 2007). O passo seguinte é a clivagem do DNA no sítio AP, que pode ser realizado pela AP endonuclease ou pela atividade de AP liase que é encontrada em DNA glicosilases bifuncionais, sendo que essas excisões geram diferentes intermediários que devem ser processados.

Os passos seguintes podem ser realizados por duas maneiras: pela via curta (*Short-Patch Repair*) que remove apenas um nucleotídeo, ou pela via longa (*Long-Patch Repair*) que remove de 2-8 nucleotídeos (figura 5). Existe uma grande discussão na literatura sobre a decisão entre essas duas vias, existindo hipóteses como a disponibilidade de ATP próximo ao sítio AP ser um fator decisivo, assim como ser definido pelo tipo de intermediário que é gerado após a incisão que ocorre próximo ao sítio AP (o que é dependente da glicosilase e do tipo de lesão), entre outras proposições. Na via curta, a DNA polimerase  $\beta$  realiza o processamento do intermediário gerado, e posteriormente ocorre a ligação da cadeia de DNA pela ação da DNA ligase III. Já na via longa, existe a participação da DNA polimerase  $\beta$  ou  $\delta$ , que polimerizam mais que um nucleotídeo, gerando um substrato que é resolvido pela endonuclease FEN1, e a junção ocorre pela atividade da DNA ligase I (MAYNARD et al., 2009; ROBERTSON et al., 2009).





**Figura 5** – *Vias utilizadas no BER.* Ocorre o reconhecimento e remoção da base modificada pela DNA glicosilase, sendo seguida pela incisão da cadeia nucleotídica. Os passos seguintes podem ser realizados através da via curta (esquerda) ou pela via longa (direita). Há o processamento do intermediário pelas DNA polimerases (entre outras proteínas), com posterior ligação da fita do DNA. Maiores detalhes podem ser encontrados no texto.

Fonte: Adaptada de Robertson et al., 2009.

### 1.3.2 Fotorreativação, um mecanismo simples e sem erro

A fotorreativação foi o primeiro mecanismo de reparo descrito, sendo descoberta simultaneamente por Kelner (1949) e Dulbecco (1949). É um mecanismo direto e envolve a participação de uma única proteína, denominada fotoliase. Devido a essa natureza, ele é um processo mais rápido e econômico, e menos passível de erros. Diferentes fotoliasas removem especificamente as fotolesões com o auxílio da luz visível, sendo classificadas como CPD fotoliase ou 6-4 fotoliase. Ambas mostram uma extrema eficiência no que diz respeito à discriminação de ligação aos respectivos alvos de reparo, comparável ao que é visto para as proteínas que ligam DNA de maneira sequência específica (ESSEN, 2006; SANCAR, 2003).

Seu mecanismo de ação envolve a ligação da fotoliase ao dímero (num passo independente de luz) e, após absorver um fóton de luz azul (cujo comprimento varia de 350 a 450 nm), cliva as ligações covalentes formadas entre as pirimidinas adjacentes, restaurando os nucleotídeos a sua forma nativa e então se dissocia do DNA (DEISENHOFER, 2000; HEARST, 1995; MEDVEDEV e STUCHEBRUKHOV, 2001). Essas enzimas apareceram precocemente na evolução, sendo encontradas nos três domínios da vida: Arquéia, Bactéria e Eucaria. Porém, durante a evolução, essa preciosa enzima foi perdida, não sendo encontrada em mamíferos placentários, incluindo o homem (MENCK, 2002). Nesses organismos foram encontrados parálogos das fotoliasas, os criptocromos, que estão envolvidos na regulação do ritmo circadiano (LUCAS-LLEDO e LYNCH, 2009). Para lidar com as fotolesões, esse grupo de organismos conta principalmente com o mecanismo de reparo conhecido como NER.

### 1.3.3 NER, a flexibilidade

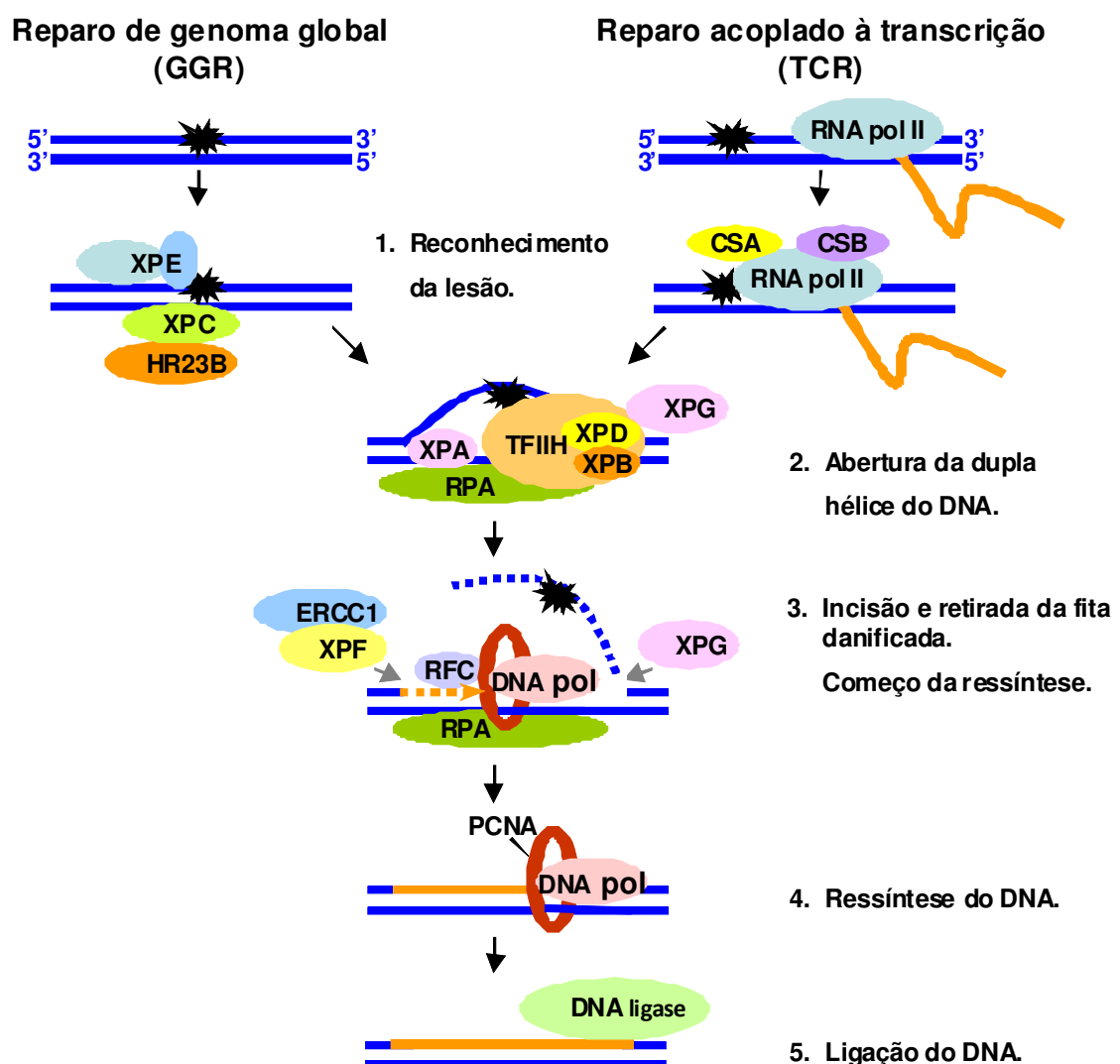
Após a descoberta da fotorreativação, diversos grupos passaram a estudar o reparo que acontecia na ausência de luz, que foi denominado *dark repair*. Experimentos conduzidos no começo dos anos 60 levaram à revelação de aspectos fundamentais associados a esse reparo independente de luz, e em 1964 Hanawalt e Pettijon demonstraram a síntese de DNA ligada ao reparo que ocorre nas células

após exposição à luz UV, definindo o processo que hoje conhecemos como *Nucleotide Excision Repair* – NER (FRIEDBERG et al., 2006).

O NER é capaz de lidar com uma grande variedade de lesões, uma vez que o substrato para esse mecanismo de reparo são danos capazes de provocar distorções na dupla hélice do DNA, ocorrência comum a uma ampla gama de agentes genotóxicos (como a luz UV). Ele pode ser subdividido em duas subvias: o GGR (reparo de genoma global) e o TCR (reparo acoplado à transcrição). O GGR é responsável por remover lesões do genoma como um todo, e remove predominantemente 6-4PPs, que distorcem mais a dupla-hélice do DNA que os CPDs. Essas últimas fotolesões são removidas principalmente pelo TCR (HANAWALT e SPIVAK, 2008), que reparam fitas que estão sendo transcritas no genoma e exibe uma taxa de reparo mais veloz e eficiente. A primeira evidência desse reparo preferencial foi documentada por Bohr et al. (1985), que demonstraram que a remoção de dímeros de pirimidina ocorre de forma muito mais eficiente em um gene ativamente transcrito do que em domínios não transcritos do genoma.

Em resumo, os passos sequenciais da via NER são: reconhecimento da lesão, abertura da dupla hélice, incisão da fita danificada, retirada do oligonucleotídeo contendo a lesão, ressíntese e ligação (figura 6). No GGR o reconhecimento da lesão e recrutamento das demais proteínas envolvidas no reparo é realizado pelos complexos protéicos XPC-HR23B e DDB-XPE (DDB - *Damaged DNA Binding protein*). Já no TCR, a parada da RNA polimerase II durante a transcrição, devido ao encontro com a lesão, é o sinal de reconhecimento do dano ao DNA, e nesse estágio dois fatores específicos do TCR são requeridos: CSA e CSB, para o deslocamento da polimerase bloqueada, permitindo assim o acesso da maquinaria de reparo ao sítio da lesão. Os estágios subsequentes parecem ser semelhantes em GGR e TCR. O próximo passo dessa via é a formação do complexo de relaxamento do DNA ao redor da lesão, e para atingir essa conformação contamos com duas DNA helicases, XPB e XPD, que fazem parte de TFIIH (um fator de transcrição da RNA Polimerase II), além do complexo RPA-XPA, responsável pela estabilização das proteínas do reparo no sítio da lesão. Prossegue-se então à excisão da região na qual se encontra a lesão, realizada pelas endonucleases específicas XPG (incisão 3') e ERCC1-XPF (incisão 5'), sendo que, apesar de ocorrerem quase que sincronicamente, a incisão 5' precede a incisão 3'. Antes que

se finalize o processo de incisão pelas endonucleases, a ressíntese do DNA tem início, minimizando a quantidade de DNA simples fita exposto durante o processo. O estágio final do NER é promovido pela ação dos fatores de replicação RPA, RFC, PCNA e DNA polimerase  $\delta$  e  $\epsilon$  para o reparo, que sintetizam um novo fragmento, tendo a fita complementar intacta como molde, preenchendo assim a região lesada que foi excisada e restabelecendo a integridade do DNA (COSTA et al., 2003; NOUSPIKEL, 2009; STARESINCIC et al., 2009).



**Figura 6** – *Mecanismo do NER*. Esse mecanismo de reparo é constituído de duas subvias: GGR e TCR, que basicamente diferem quanto ao modo de reconhecimento da lesão, sendo realizado pelo complexo XPC-HR23B no GGR e pelo bloqueio da RNA polimerase devido ao encontro com a lesão no TCR. Os passos sequenciais da via NER são: reconhecimento da lesão, abertura da dupla hélice, incisão da fita danificada, retirada do oligonucleotídeo contendo a lesão, ressíntese e ligação.

Fonte: Adaptada de Lima-Bessa e Soltys et al., 2009.

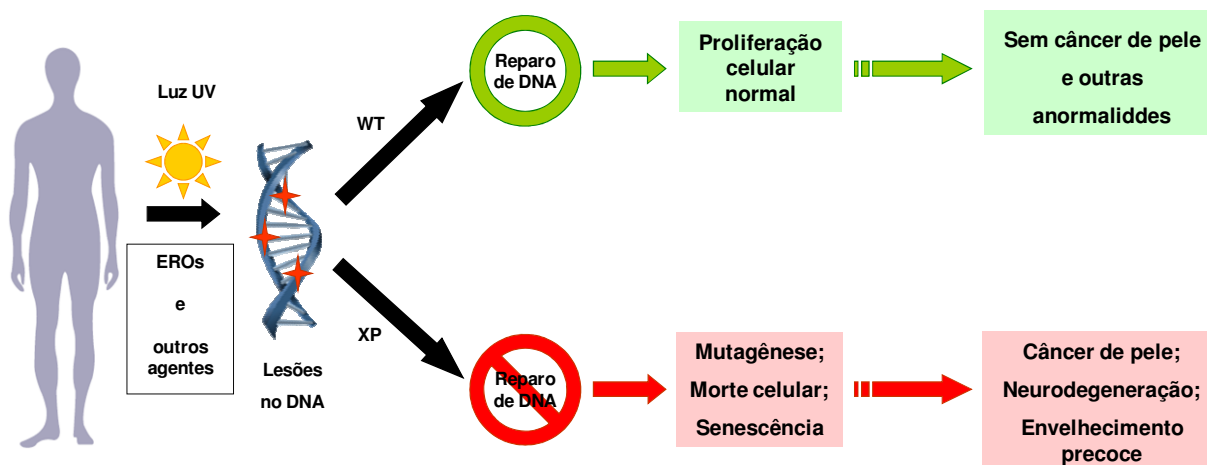
### **1.4 Síndromes ligadas ao NER**

Deficiências no NER levam ao reparo defectivo do DNA e ao desenvolvimento de doenças autossômicas recessivas, como Xeroderma Pigmentosum (XP), síndrome de Cockayne (CS), tricotiodistrofia (TTD), síndrome cérebro-óculo-fácio-esquelética (COFS), síndrome XP combinada com de Sanctis-Cacchione (XP-DSC), síndrome UV-sensível (UVSS), além da síndrome XPF-ERCC1 (XFE), que apresentam em comum a fotossensibilidade, além de serem síndromes raras (ANDRESSOO e HOEIJMAKERS, 2005; CLEAVER et al., 2009; NOUSPIKEL, 2009; SCHUMACHER et al., 2009).

Xeroderma pigmentosum foi originalmente reportada em 1874 pelos dermatologistas Hebra e Kaposi, que batizaram a síndrome, e em 1932 de Sanctis e Cacchione foram os primeiros a associar XP com anormalidades neurológicas (CLEAVER, 2008). Foi somente no final nos anos 60, quase um século após a primeira descrição da síndrome, que o então estudante de medicina James Cleaver verificou que as células desses pacientes, após exposição à luz UV, apresentavam deficiência na replicação que ocorre em decorrência do reparo (CLEAVER, 1968). Essa foi a primeira vez que uma síndrome humana foi relacionada com deficiências no reparo de DNA, e abriu o caminho para o promissor campo de investigação que procura estabelecer a relação entre danos no DNA, reparo, mutagênese e câncer.

Os anos que se seguiram à descoberta da deficiência de reparo em XP foram marcados por grandes avanços na área de reparo de DNA. Uma das fases importantes foi a determinação dos grupos de complementação, realizado através de ensaios que envolviam a fusão de células em cultura e verificação da capacidade dessas células fusionadas em recuperar o fenótipo proficiente em reparo (DE WEERD-KASTELEIN et al., 1972). Através desses estudos, e com a posterior clonagem dos genes de reparo, verificou-se que defeitos em sete diferentes genes que codificam para proteínas que participam do NER (grupos de complementação XP-A a G), e mais um grupo variante (XP-V), que codifica para uma polimerase de síntese translesão, a pol  $\eta$  (MASUTANI et al., 1999), levam ao fenótipo clínico de XP. Pesquisas com as células desses pacientes ajudaram a elucidar diversas respostas aos estresses genotóxicos, assim como as consequências das mesmas

para o organismo, e uma visão resumida pode ser encontrada na figura 7.



**Figura 7** – *XP e as conseqüências do reparo defectivo do DNA.* Pacientes XP apresentam um reparo defectivo devido às mutações encontradas nos genes que codificam para proteínas que participam da via NER, assim como em um gene que codifica uma polimerase de síntese translesão. Isso ocasiona sensibilidade à luz solar, com severas manifestações cutâneas incluindo câncer de pele. Alguns pacientes também apresentam outras características clínicas, como envelhecimento precoce e neurodegeneração, que podem ter sua causa na exposição a outros agentes genotóxicos, como as espécies reativas de oxigênio.

Fonte: Adaptada de Lima-Bessa e Soltys et al., 2009.

XP é uma síndrome rara e hereditária, transmitida por um trato autossômico e recessivo. A frequência varia ao redor do mundo, tendo a estimativa de 1:1 milhão na Europa e EUA (MORIWAKI e KRAEMER, 2001) e com incidências maiores em algumas regiões, como o Japão, onde a estimativa é de 1:100.000 (TAKEBE et al., 1987). Os primeiros sinais de XP aparecem precocemente na infância, quando os indivíduos apresentam severas queimaduras após uma mínima exposição solar. Um ponto crítico para os pacientes XP é evitar a luz solar devido à sua baixa capacidade de reparar as lesões genotóxicas geradas pela ação da UV, e esta prevenção pode incluir a mudança das atividades para o período noturno, motivo pelo qual muitas vezes são chamados de “crianças da lua”. O diagnóstico precoce é de extrema importância para a prevenção da exposição à luz solar, o que pode minimizar os efeitos na pele.

As características clínicas usadas no diagnóstico de XP são a severa fotossensibilidade, hiperpigmentação da pele (poiquilodermia), pele excessivamente seca (xerose), envelhecimento precoce da pele, presença de tumores (carcinomas baso e espino celulares, e em menor frequência os melanomas), além de alguns

casos apresentarem outros sintomas como manifestações neurológicas e oftalmológicas (HENGGE e EMMERT, 2008). A incidência de câncer de pele é cerca de 1.000 vezes maior que a média da população, e muitos pacientes XP morrem de neoplasia, diminuindo a expectativa de vida em cerca de 30 anos (CLEAVER, 2000), além de apresentarem um aumento de 10 a 20 vezes no risco de desenvolver diversos tipos de câncer internos antes de completarem 20 anos (DE BOER e HOEIJMAKERS, 2000). Existe uma heterogeneidade no grau de manifestações clínicas, de pacientes com fenótipo moderado àqueles severamente afetados e com a capacidade neurológica comprometida, o último caso principalmente em pacientes XP-A e em indivíduos que possuem o fenótipo XP combinado com CS (XP/CS).

A síndrome de Cockayne (CS) é uma síndrome predominantemente ligada a deficiências neurológicas e de desenvolvimento. Existem cinco grupos de complementação, sendo que dois deles apresentam mutações nos genes *CSA* ou *CSB*, enquanto o restante envolve mutações nos genes *XPB*, *XPD* ou *XPG*, que originam o fenótipo XP/CS. No nível celular, linhagens CS-A e CS-B são deficientes em TCR, enquanto células obtidas de pacientes XP/CS são NER-deficientes, seja para TCR ou GGR (NOUSPIKEL, 2009).

Tricotiodistrofia (TTD) também é uma síndrome que apresenta anormalidades neurológicas e de desenvolvimento, além dos pacientes apresentarem cabelos quebradiços, uma característica marcante dessa síndrome, devido à deficiência em cisteína nas proteínas que compõem o fio capilar. Até o momento quatro genes foram identificados como responsáveis pelo fenótipo TTD: *XPD*, *XPB*, *TTDA* e *TTDN1*. Enquanto a função de *TTDN1* ainda é desconhecida, sabe-se que as demais proteínas (*XPB*, *XPD* e *TTD-A*) são subunidades de TFIIH, um complexo envolvido tanto na transcrição quanto no NER (STEFANINI et al., 2009). Muitos aspectos de XP, CS e TTD se sobrepõe, enquanto outros são característicos de cada síndrome, como podemos observar na tabela 1.

**Tabela 1 – Características clínicas e celulares de XP, CS e TTD.**

<b>Característica</b>	<b>XP</b>	<b>CS</b>	<b>TTD</b>
genes	<i>XPA-G e POLH (XP-V)</i>	<i>CSA, CSB, XPB, XPD e XPG</i>	<i>XPB, XPD, TTDN1 e TTDA</i>
fotossensibilidade cutânea	++	+	- ou +
distúrbios na pigmentação	+	-	-
anormalidades na córnea e oral	+	-	-
xerose	+	-	-
câncer de pele	++	-	-
neurodegeneração	- ou +	++	-
baixa taxa de crescimento	- ou +	++	++
desenv. sexual comprometido	- ou +	+	- ou +
surdez	- ou +	- ou +	++
retardo mental	- ou +	++	++
icitiose	-	-	- ou +
cabelo quebradiço	-	-	++
expressão da face alterada	-	+	+
retinopatia	-	++	-
cárie dental	-	++	+
expectativa de vida	reduzida	12,25 anos (média)	6 anos (mediana)
hipermutabilidade	++	nd	nd
deficiência em GGR	++	-	-ou+
deficiência em TCR	++	++	-ou+
sensibilidade á UV	++	+	+
sensibilidade à EROs	-	+	nd

Fonte: Adaptada de Cleaver, 2009.

Nota: Os símbolos correspondem à ausência (-) ou presença (+) da característica; (++) implica que é uma das características mais marcantes da síndrome; nd = não determinado.

No momento não existe cura para XP, assim como para CS ou TTD, e os tratamentos disponíveis são limitados. O diagnóstico precoce e evitar a exposição solar continuam sendo as principais defesas desses pacientes. Algumas estratégias terapêuticas estão sendo empregadas ou desenvolvidas, como a correção genotípica através do uso de vetores virais e terapia celular (ainda em fase de investigação pré-clínica), que objetivam a melhora da qualidade de vida desses pacientes e de suas famílias, que tanto contribuíram para o avanço da ciência. Uma abordagem sobre as possíveis terapias para XP pode ser encontrada na revisão anexada ao final dessa tese (ANEXO B).



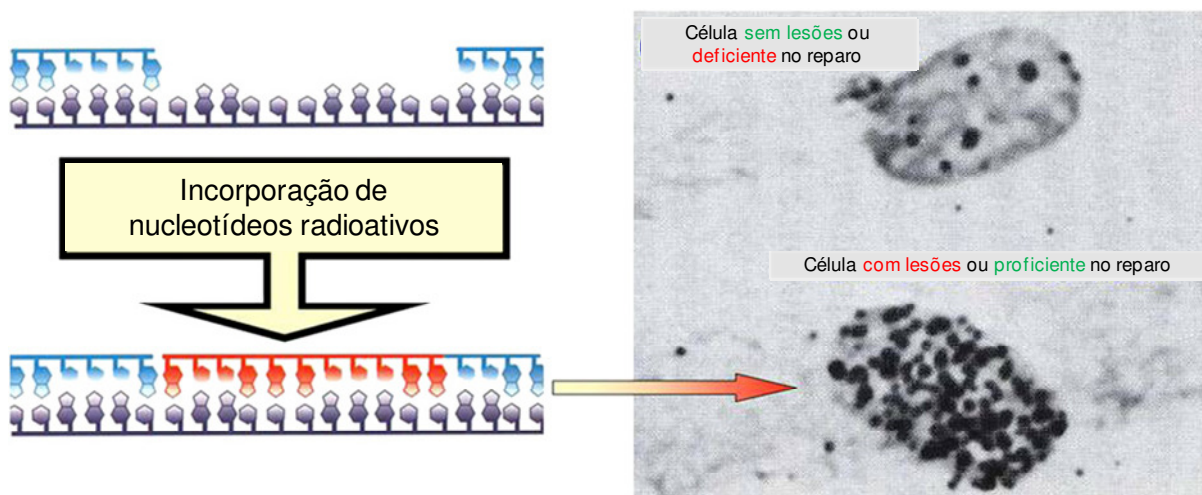
### **1.5 A proteína XPG e os fenótipos clínicos associados**

A proteína XPG é uma endonuclease que cliva o DNA lesado por luz UV, e outros tipos de lesões, aproximadamente a cinco nucleotídeos do sítio da lesão na direção 3' e também é requerido (de uma forma não-enzimática) para a precedente incisão 5' pelo heterodímero XPF/ERCC1 durante o NER (MU et al., 1996; STARESINCIC et al., 2009). Indivíduos XP-G exibem uma severa deficiência em NER, contudo encontra-se presente uma atividade residual da proteína XPG (EMMERT et al., 2002). Mutações nesse gene podem produzir não só características de XP, mas também podem levar a exibição de características de XP combinadas com sintomas de CS, o que ocasiona o fenótipo XP/CS (RAPIN et al., 2000). Ainda não estão claras as causas do fenótipo XP-G/CS. A disrupção por nocaute do gene *XPG* em camundongos leva a morte pós natal precocemente, indicando uma função crucial para XPG além da conhecida em NER (HARADA et al., 1999). Foram produzidos camundongos mutantes que tiveram o truncamento da proteína XPG, sendo deletados os últimos 360 aminoácidos, e estes animais apresentaram um fenótipo que se assemelha à CS (SHIOMI et al., 2004). Duplos mutantes para o gene *XPA* e para o exon 15 de *XPG* apresentam severo retardamento no crescimento e diminuição do tempo de vida do camundongo (SHIOMI et al., 2005).

Existem indícios de que mutações que produzem uma proteína truncada levam à perda de uma segunda função hipotética, que então resultaria no fenótipo CS (EMMERT et al., 2002; NOUSPIKEL et al., 1997). Uma das possibilidades foi proposta pela identificação da interação de XPG com hNth1, atuando como cofator dessa glicosilase, favorecendo a montagem das proteínas da via de reparo BER na lesão (KLUNGLAND et al., 1999). Ainda, temos o envolvimento de XPG com o coativador de transcrição PC4, que demonstrou ter atividade preventiva de mutagênese e morte por danos oxidativos ao DNA, independente da sua atividade como coativador. Aparentemente, PC4 age na retirada de XPG de locais onde a RNA polimerase encontra-se presa devido ao encontro com alguma lesão, liberando o sítio para que possa haver o reparo desse dano (WANG et al., 2004). Outro estudo apontou o papel de XPG na estabilização do fator de transcrição TFIIH, e mostrou que células XP-G/CS são deficientes na fosforilação e transativação de receptores nucleares, demonstrando um papel na regulação da expressão gênica e

uma possível explicação para o fenótipo XP/CS (ITO et al., 2007). Muitas questões acerca das funções de XPG ainda permanecem não esclarecidas, entre elas qual é a sua conformação ativa, se possui função específica em organismos multicelulares, a existência ou não de TCR de lesões oxidativas e seu envolvimento, além do seu papel na replicação do DNA lesado e apoptose (CLARKSON, 2003).

O presente estudo tem como um dos objetivos determinar a natureza genotípica de pacientes brasileiros pertencentes ao grupo de complementação XP-G. O grupo de complementação destes pacientes foi verificado pelo laboratório liderado pelo Dr. Alain Sarasin (Institut Gustave Roussy, França) e pela Dra. M. Stefanini, através de um teste de complementação utilizando heterocarion. O teste envolve a fusão celular e consequente produção de heterocarions, com posterior verificação da capacidade de reparo através de UDS (*Unschedule DNA Synthesis*, ou síntese de DNA não programada). Neste ensaio, células provenientes de diferentes grupos de complementação foram fusionadas com a célula XP01RJ (paciente XP brasileiro), e então esses heterocarions foram irradiados com luz UVC e cultivados em meio com timidina- $H^3$ . A síntese de DNA ligada ao reparo, quando polimerases específicas inserem nucleotídeos na porção que foi excisada do material genético por conter algum dano, leva a incorporação da timidina marcada radioativamente. Posteriormente, através de autorradiografia e visualização em microscópio óptico, observam-se grânulos nas células que possuíram a capacidade de reparar o DNA lesado pela irradiação (figura 8), e onde não houve a complementação, essa marcação não é observada e, portanto, a célula em questão pertence ao mesmo grupo de complementação da célula com a qual foi fusionada. Os resultados destes testes para as células estudadas nesta tese estão demonstrados na tabela 2.



**Figura 8** – *Princípio do ensaio de UDS.* Células que foram expostas ao agente genotóxico (como a luz UV) e que são proficientes no reparo são capazes de incorporar nucleotídeos radioativos na etapa de ressíntese ligada ao reparo. Após revelação por autorradiografia, podemos observar a presença de grânulos no núcleo dessas células, e a ausência dos mesmos em células que não foram danificadas ou que são deficientes em reparo.  
Fonte: Adaptada de Marrot e Meunier, 2008.

**Tabela 2** – *Teste de complementação gênica através de fusão celular para a verificação do grupo de complementação das células XP01RJ (paciente brasileiro).*

<b>Fusão celular</b>		<b>Homocarion</b>		<b>Heterocarion</b>
<b>A</b>	<b>B</b>	<b>A+A</b>	<b>B+B</b>	<b>A+B</b>
XP01RJ	XP20PV (XP-A)	5,1±0,5	3,3±0,3	50,8±2,1
XP01RJ	XP24PV (XP-C)	5,1±0,4	6,5±0,5	49,0±2,8
XP01RJ	XP23PV (XP-E)	4,8±0,3	17,6±0,9	48,3±1,7
XP01RJ	XPCS2BA (XP-B)	6,0±0,4	6,2±0,4	52,4±2,8
XP01RJ	XP20BE (XP-G)	5,0±0,3	2,8±0,2	<b>5,6±0,5</b>
Nível normal: Fb380 43,4±2,2				

Nota: Os valores expressos correspondem à média do número de grânulos/núcleo e o desvio padrão. Maiores detalhes são encontrados no texto.

## 6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos na presente tese permitem levar a algumas conclusões, dentre as quais destacamos:

- As células dos pacientes XP-G brasileiros exibem a alta fotossensibilidade característica da síndrome XP, devido à incapacidade dessas células em lidar com os fotoprodutos;
- A linhagem XP-G/CS apresenta elevada sensibilidade frente ao estresse oxidativo induzido por MB fotossensibilizado, o que não é observado em linhagens XP-G e nos controles aqui utilizados, sugerindo que células XP-G lidam de forma semelhante às células proficientes no reparo quando expostas a esse tratamento;
- Células XP-G/CS apresentam um bloqueio na fase G2/M após tratamento com MB associado à luz visível, o que pode ser um indício da permanência de danos no genoma dessas células;
- A expressão de *XPG*, tanto no nível transcricional como traducional, é normal no paciente XP-G brasileiro, e a proteína XPG é expressa de forma constitutiva, não sendo induzida após irradiação com luz UVC;
- A expressão de pol  $\eta$  é induzida após irradiação com luz UVC, e esta proteína encontra-se ausente nas células do paciente XP05SP, um provável XP-V;
- Os pacientes XP-G brasileiros são heterozigotos compostos para duas mutações *missense*: c.83C>A (p.Ala28Asp) e c.2904G>C (p.Trp968Cys), sendo que tais alterações mostraram-se com um impacto negativo sobre a funcionalidade da proteína XPG (dados *in silico*), e a mutação p.Ala28Asp não é capaz de realizar a retomada completa do processo de reparo em células XP-G/CS, sendo observada uma atividade residual da proteína mutada. Essas duas mutações ainda não foram descritas e vem a somar a um total de seis mutações agora conhecidas no gene *XPG*;
- O polimorfismo p.Asp1104His apresentou divergência nas análises quanto ao impacto que exerce sobre a função de XPG, assim como também há divergência na literatura, sendo necessária uma análise funcional para avaliar o real impacto dessa substituição na proteína.

## REFERÊNCIAS\*

ANDRESSOO, J. O.; HOEIJMAKERS, J. H. Transcription-coupled repair and premature ageing. **Mutat. Res.**, v. 577, n. 1-2, p. 179-194, Sep 4, 2005.

AU, W. W.; NAVASUMRIT, P.; RUCHIRAWAT, M. Use of biomarkers to characterize functions of polymorphic DNA repair genotypes. **Int. J. Hyg. Environ. Health**, v. 207, n. 4, p. 301-313, Sep, 2004.

BATISTA, L. F.; CHIGANÇAS, V.; BRUMATTI G.; AMARANTES-MENDES, G. P.; MENCK C. F. Involvement of DNA replication in ultraviolet-induced apoptosis of mammalian cells. **Apoptosis**, v. 11, n. 7, p.1139-1148, Jul, 2006.

BATISTA, L. F.; KAINA, B.; MENEGHINI, R.; MENCK, C. F. How DNA lesions are turned into powerful killing structures: insights from UV-induced apoptosis. **Mutat. Res.**, v. 681, n. 2-3, p. 197-208, Mar-Jun, 2009.

BENHAMOU, S.; SARASIN, A. ERCC2 /XPD gene polymorphisms and lung cancer: a HuGE review. **Am. J. Epidemiol.**, v. 161, n. 1, p. 1-14, Jan 1, 2005.

BERRA, C. M. **Estudos de reparo de DNA por excisão de nucleotídeos em lesões oxidativas em células de mamíferos.** 134 f. Tese (Doutorado em Microbiologia) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

BIRNBOIM, H. C.; DOLY, J. A rapid alkaline extraction procedure for screening recombinant plasmid DNA. **Nucleic Acids Res.**, v. 7, n. 6, p. 1513-1523, Nov 24, 1979.

BLANKENBURG, S.; KONIG, I. R.; MOESSNER, R.; LASPE, P.; THOMS, K. M.; KRUEGER, U.; KHAN, S. G.; WESTPHAL, G.; VOLKENANDT, M.; NEUMANN, C.; ZIEGLER, A.; KRAEMER, K. H.; REICH, K.; EMMERT, S. No association between three xeroderma pigmentosum group C and one group G gene polymorphisms and risk of cutaneous melanoma. **Eur. J. Hum. Genet.**, v. 13, n. 2, p. 253-255, Feb, 2005.

BLAZQUEZ-CASTRO, A.; STOCKERT, J. C.; SANZ-RODRIGUEZ, F.; ZAMARRON, A.; JUARRANZ, A. Differential photodynamic response of cultured cells to methylene blue and toluidine blue: role of dark redox processes. **Photochem. Photobiol. Sci.**, v. 8, n. 3, p. 371-376, Mar, 2009.

BOERMA, M.; VAN DER WEES, C. G.; VRIELING, H.; SVENSSON, J. P.; WONDERGEM, J.; VAN DER LAARSE, A.; MULLENDERS, L. H.; VAN ZEELAND, A. A. Microarray analysis of gene expression profiles of cardiac myocytes and fibroblasts after mechanical stress, ionising or ultraviolet radiation. **BMC Genomics**, v. 6, n. 1, p. 6, 2005.

BOHR, V. A.; OTTERSEN, O. P.; TONJUM, T. Genome instability and DNA repair in brain, ageing and neurological disease. **Neuroscience**, v. 145, n. 4, p. 1183-1186,

\* De acordo com:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

Apr 14, 2007.

BOHR, V. A.; SMITH, C. A.; OKUMOTO, D. S.; HANAWALT, P. C. DNA repair in an active gene: removal of pyrimidine dimers from the DHFR gene of CHO cells is much more efficient than in the genome overall. **Cell**, v. 40, n. 2, p. 359-369, Feb, 1985.

BOITEUX, S.; GAJEWSKI, E.; LAVAL, J.; DIZDAROGLU, M. Substrate specificity of the Escherichia coli Fpg protein (formamidopyrimidine-DNA glycosylase): excision of purine lesions in DNA produced by ionizing radiation or photosensitization. **Biochemistry**, v. 31, n. 1, p. 106-110, Jan 14, 1992.

BORRADALE, D.; KIMLIN, M. Vitamin D in health and disease: an insight into traditional functions and new roles for the 'sunshine vitamin'. **Nutr. Res. Rev.**, v. 22, n. 2, p. 118-136, Dec, 2009.

BRANZEI, D.; FOIANI, M. Regulation of DNA repair throughout the cell cycle. **Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.**, v. 9, n. 4, p. 297-308, Apr, 2008.

BURHANS, W. C.; HEINTZ, N. H. The cell cycle is a redox cycle: linking phase-specific targets to cell fate. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 47, n. 9, p. 1282-1293, Nov 1, 2009.

CHECK, E. Retracted papers damage work on DNA repair. **Nature**, v. 435, n. 7045, p. 1015, Jun 23, 2005.

CHEN, J. H.; HALES, C. N.; OZANNE, S. E. DNA damage, cellular senescence and organismal ageing: causal or correlative? **Nucleic Acids Res.**, v. 35, n. 22, p. 7417-7428, 2007.

CHIGANCAS, V.; BATISTA, L. F.; BRUMATTI, G.; AMARANTE-MENDES, G. P.; YASUI, A.; MENCK, C. F. Photorepair of RNA polymerase arrest and apoptosis after ultraviolet irradiation in normal and XPB deficient rodent cells. **Cell Death. Differ.**, v. 9, n. 10, p. 1099-1107, Oct, 2002.

CHIGANCAS, V.; SARASIN, A.; MENCK, C. F. CPD-photolyase adenovirus-mediated gene transfer in normal and DNA-repair-deficient human cells. **J. Cell Sci.**, v. 117, n. Pt 16, p. 3579-3592, Jul 15, 2004.

CLARKSON, S. G. The XPG story. **Biochimie**, v. 85, n. 11, p. 1113-1121, Nov, 2003.

CLARKSON, S. G.; WOOD, R. D. Polymorphisms in the human XPD (ERCC2) gene, DNA repair capacity and cancer susceptibility: an appraisal. **DNA Repair (Amst.)**, v. 4, n. 10, p. 1068-1074, Sep 28, 2005.

CLEAVER, J. E. Defective repair replication of DNA in xeroderma pigmentosum. **Nature**, v. 218, n. 5142, p. 652-656, May 18, 1968.

CLEAVER, J. E. Common pathways for ultraviolet skin carcinogenesis in the repair and replication defective groups of xeroderma pigmentosum. **J. Dermatol. Sci.**, v.

23, n. 1, p. 1-11, May, 2000.

CLEAVER, J. E. Historical aspects of xeroderma pigmentosum and nucleotide excision repair. **Adv. Exp. Med. Biol.**, v. 637, n. p. 1-9, 2008.

CLEAVER, J. E.; LAM, E. T.; REVET, I. Disorders of nucleotide excision repair: the genetic and molecular basis of heterogeneity. **Nat. Rev. Genet.**, v. 10, n. 11, p. 756-768, Nov, 2009.

CLEAVER, J. E.; THOMPSON, L. H.; RICHARDSON, A. S.; STATES, J. C. A summary of mutations in the UV-sensitive disorders: xeroderma pigmentosum, Cockayne syndrome, and trichothiodystrophy. **Hum. Mutat.**, v. 14, n. 1, p. 9-22, 1999.

COOPER, P. K.; NOUSPIKEL, T.; CLARKSON, S. G. Retraction. **Science**, v. 308, n. 5729, p. 1740, Jun 17, 2005.

COOPER, P. K.; NOUSPIKEL, T.; CLARKSON, S. G.; LEADON, S. A. Defective transcription-coupled repair of oxidative base damage in Cockayne syndrome patients from XP group G. **Science**, v. 275, n. 5302, p. 990-993, Feb 14, 1997.

COSTA, R. M.; CHIGANCAS, V.; DA SILVA GALHARDO, R.; CARVALHO, H.; MENCK, C. F. The eukaryotic nucleotide excision repair pathway. **Biochimie**, v. 85, n. 11, p. 1083-1099, Nov, 2003.

CUI, Y.; MORGENSTERN, H.; GREENLAND, S.; TASHKIN, D. P.; MAO, J.; CAO, W.; COZEN, W.; MACK, T. M.; ZHANG, Z. F. Polymorphism of Xeroderma Pigmentosum group G and the risk of lung cancer and squamous cell carcinomas of the oropharynx, larynx and esophagus. **Int. J. Cancer**, v. 118, n. 3, p. 714-720, Feb 1, 2006.

D'ERRICO, M.; PARLANTI, E.; TESON, M.; DEGAN, P.; LEMMA, T.; CALCAGNILE, A.; IAVARONE, I.; JARUGA, P.; ROPOLO, M.; PEDRINI, A. M.; ORIOLI, D.; FROSINA, G.; ZAMBRUNO, G.; DIZDAROGLU, M.; STEFANINI, M.; DOGLIOTTI, E. The role of CSA in the response to oxidative DNA damage in human cells. **Oncogene**, v. 26, n. 30, p. 4336-4343, Jun 28, 2007.

DA COSTA, R. M.; RIOU, L.; PAQUOLA, A.; MENCK, C. F.; SARASIN, A. Transcriptional profiles of unirradiated or UV-irradiated human cells expressing either the cancer-prone XPB/CS allele or the noncancer-prone XPB/TTD allele. **Oncogene**, v. 24, n. 8, p. 1359-1374, Feb 17, 2005.

DAVID, S. S.; O'SHEA, V. L.; KUNDU, S. Base-excision repair of oxidative DNA damage. **Nature**, v. 447, n. 7147, p. 941-950, Jun 21, 2007.

DAZARD, J. E.; GAL, H.; AMARIGLIO, N.; RECHAVI, G.; DOMANY, E.; GIVOL, D. Genome-wide comparison of human keratinocyte and squamous cell carcinoma responses to UVB irradiation: implications for skin and epithelial cancer. **Oncogene**, v. 22, n. 19, p. 2993-3006, May 15, 2003.

DE BOER, J.; HOEIJMAKERS, J. H. Nucleotide excision repair and human syndromes. **Carcinogenesis**, v. 21, n. 3, p. 453-460, Mar, 2000.

DE LIMA-BESSA, K. M.; ARMELINI, M. G.; CHIGANCAS, V.; JACYSYN, J. F.; AMARANTE-MENDES, G. P.; SARASIN, A.; MENCK, C. F. CPDs and 6-4PPs play different roles in UV-induced cell death in normal and NER-deficient human cells. **DNA Repair (Amst.)**, v. 7, n. 2, p. 303-312, Feb 1, 2008.

DE SOUZA-PINTO, N. C.; WILSON, D. M., 3RD; STEVNSNER, T. V.; BOHR, V. A. Mitochondrial DNA, base excision repair and neurodegeneration. **DNA Repair (Amst.)**, v. 7, n. 7, p. 1098-1109, Jul 1, 2008.

DE WEERD-KASTELEIN, E. A.; KEIJZER, W.; BOOTSMA, D. Genetic heterogeneity of xeroderma pigmentosum demonstrated by somatic cell hybridization. **Nat. New Biol.**, v. 238, n. 81, p. 80-83, Jul 19, 1972.

DEISENHOFER, J. DNA photolyases and cryptochromes. **Mutat. Res.**, v. 460, n. 3-4, p. 143-149, Aug 30, 2000.

DEN DUNNEN, J. T.; ANTONARAKIS, S. E. Mutation nomenclature extensions and suggestions to describe complex mutations: a discussion. **Hum. Mutat.**, v. 15, n. 1, p. 7-12, 2000.

DULBECCO, R. Reactivation of ultra-violet-inactivated bacteriophage by visible light. **Nature**, v. 163, n. 4155, p. 949, Jun 18, 1949.

EMMERT, S.; SLOR, H.; BUSCH, D. B.; BATKO, S.; ALBERT, R. B.; COLEMAN, D.; KHAN, S. G.; ABU-LIBDEH, B.; DIGIOVANNA, J. J.; CUNNINGHAM, B. B.; LEE, M. M.; CROLLICK, J.; INUI, H.; UEDA, T.; HEDAYATI, M.; GROSSMAN, L.; SHAHLAVI, T.; CLEAVER, J. E.; KRAEMER, K. H. Relationship of neurologic degeneration to genotype in three xeroderma pigmentosum group G patients. **J. Invest. Dermatol.**, v. 118, n. 6, p. 972-982, Jun, 2002.

ENK, C. D.; JACOB-HIRSCH, J.; GAL, H.; VERBOVETSKI, I.; AMARIGLIO, N.; MEVORACH, D.; INGBER, A.; GIVOL, D.; RECHAVI, G.; HOCHBERG, M. The UVB-induced gene expression profile of human epidermis in vivo is different from that of cultured keratinocytes. **Oncogene**, v. 25, n. 18, p. 2601-2614, Apr 27, 2006.

EPE, B.; PFLAUM, M.; BOITEUX, S. DNA damage induced by photosensitizers in cellular and cell-free systems. **Mutat. Res.**, v. 299, n. 3-4, p. 135-145, May, 1993.

ESSEN, L. O. Photolyases and cryptochromes: common mechanisms of DNA repair and light-driven signaling? **Curr. Opin. Struct. Biol.**, v. 16, n. 1, p. 51-59, Feb, 2006.

EVANS, M. D.; DIZDAROGLU, M.; COOKE, M. S. Oxidative DNA damage and disease: induction, repair and significance. **Mutat. Res.**, v. 567, n. 1, p. 1-61, Sep, 2004.

FERRER-COSTA, C.; OROZCO, M.; DE LA CRUZ, X. Sequence-based prediction of pathological mutations. **Proteins**, v. 57, n. 4, p. 811-819, Dec 1, 2004.



- FLOYD, R. A.; SCHNEIDER, J. E., JR.; DITTMER, D. P. Methylene blue photoinactivation of RNA viruses. **Antiviral Res.**, v. 61, n. 3, p. 141-151, Mar, 2004.
- FRAGA, C. G.; SHIGENAGA, M. K.; PARK, J. W.; DEGAN, P.; AMES, B. N. Oxidative damage to DNA during aging: 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in rat organ DNA and urine. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 87, n. 12, p. 4533-4537, Jun, 1990.
- FRIEDBERG, E. C.; MCDANIEL, L. D.; SCHULTZ, R. A. The role of endogenous and exogenous DNA damage and mutagenesis. **Curr. Opin. Genet. Dev.**, v. 14, n. 1, p. 5-10, Feb, 2004.
- FRIEDBERG, E. C.; WALKER, G. C.; SIEDE, W.; WOOD, R. D.; SCHULTZ, R. A.; ELLENBERGER, T. **DNA repair and mutagenesis**. 2 ed. Washington, D.C.: ASM Press, 2006. 1118 p.
- GARINIS, G. A.; VAN DER HORST, G. T.; VIJG, J.; HOEIJMAKERS, J. H. DNA damage and ageing: new-age ideas for an age-old problem. **Nat. Cell Biol.**, v. 10, n. 11, p. 1241-1247, Nov, 2008.
- GODAR, D. E. UV doses worldwide. **Photochem. Photobiol.**, v. 81, n. 4, p. 736-749, Jul-Aug, 2005.
- GOODE, E. L.; ULRICH, C. M.; POTTER, J. D. Polymorphisms in DNA repair genes and associations with cancer risk. **Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.**, v. 11, n. 12, p. 1513-1530, Dec, 2002.
- GREINERT, R. Skin cancer: new markers for better prevention. **Pathobiology**, v. 76, n. 2, p. 64-81, 2009.
- HALLIWELL, B. G., JOHN M. C. **Free radicals in biology and medicine**. 3 ed. New York: Oxford University Press, 1999. 936 p.
- HAMEL, B. C.; RAAMS, A.; SCHUITEMA-DIJKSTRA, A. R.; SIMONS, P.; VAN DER BURGT, I.; JASPERS, N. G.; KLEIJER, W. J. Xeroderma pigmentosum--Cockayne syndrome complex: a further case. **J. Med. Genet.**, v. 33, n. 7, p. 607-610, Jul, 1996.
- HANAHAN, D. Studies on transformation of Escherichia coli with plasmids. **J. Mol. Biol.**, v. 166, n. 4, p. 557-580, Jun 5, 1983.
- HANAWALT, P. C.; SPIVAK, G. Transcription-coupled DNA repair: two decades of progress and surprises. **Nat. Rev. Mol. Cell Biol.**, v. 9, n. 12, p. 958-970, Dec, 2008.
- HARADA, Y. N.; SHIOMI, N.; KOIKE, M.; IKAWA, M.; OKABE, M.; HIROTA, S.; KITAMURA, Y.; KITAGAWA, M.; MATSUNAGA, T.; NIKAIDO, O.; SHIOMI, T. Postnatal growth failure, short life span, and early onset of cellular senescence and subsequent immortalization in mice lacking the xeroderma pigmentosum group G gene. **Mol. Cell. Biol.**, v. 19, n. 3, p. 2366-2372, Mar, 1999.
- HEARST, J. E. The structure of photolyase: using photon energy for DNA repair.

**Science**, v. 268, n. 5219, p. 1858-1859, Jun 30, 1995.

HEFFERNAN, T. P.; SIMPSON, D. A.; FRANK, A. R.; HEINLOTH, A. N.; PAULES, R. S.; CORDEIRO-STONE, M.; KAUFMANN, W. K. An ATR- and Chk1-dependent S checkpoint inhibits replicon initiation following UVC-induced DNA damage. **Mol. Cell Biol.**, v. 22, n. 24, p. 8552-8561, Dec, 2002.

HELLEDAY, T.; PETERMANN, E.; LUNDIN, C.; HODGSON, B.; SHARMA, R. A. DNA repair pathways as targets for cancer therapy. **Nat. Rev. Cancer**, v. 8, n. 3, p. 193-204, Mar, 2008.

HENGGE, U. R.; EMMERT, S. Clinical features of xeroderma pigmentosum. **Adv. Exp. Med. Biol.**, v. 637, n. p. 10-18, 2008.

HUMAN GENOME VARIATION SOCIETY. Diretrizes para nomenclatura de alterações nucleotídicas e protéicas [página na internet]. Carlton South, Austrália: HGVS. Disponível em: <http://www.hgvs.org/>. [2010 maio 17].

ITO, S.; KURAOKA, I.; CHYMKOWITCH, P.; COMPE, E.; TAKEDACHI, A.; ISHIGAMI, C.; COIN, F.; EGLY, J. M.; TANAKA, K. XPG stabilizes TFIIH, allowing transactivation of nuclear receptors: implications for Cockayne syndrome in XP-G/CS patients. **Mol. Cell**, v. 26, n. 2, p. 231-243, Apr 27, 2007.

IZZOTTI, A.; CARTIGLIA, C.; LONGOBARDI, M.; BALANSKY, R. M.; D'AGOSTINI, F.; LUBET, R. A.; DE FLORA, S. Alterations of gene expression in skin and lung of mice exposed to light and cigarette smoke. **FASEB J.**, v. 18, n. 13, p. 1559-1561, Oct, 2004.

JACKSON, S. P.; BARTEK, J. The DNA-damage response in human biology and disease. **Nature**, v. 461, n. 7267, p. 1071-1078, Oct 22, 2009.

JEON, H. S.; KIM, K. M.; PARK, S. H.; LEE, S. Y.; CHOI, J. E.; LEE, G. Y.; KAM, S.; PARK, R. W.; KIM, I. S.; KIM, C. H.; JUNG, T. H.; PARK, J. Y. Relationship between XPG codon 1104 polymorphism and risk of primary lung cancer. **Carcinogenesis**, v. 24, n. 10, p. 1677-1681, Oct, 2003.

JIRICNY, J. The multifaceted mismatch-repair system. **Nat. Rev. Mol. Cell Biol.**, v. 7, n. 5, p. 335-346, May, 2006.

KELNER, A. Effect of visible light on the recovery of *Streptomyces griseus* conidia from ultraviolet irradiation injury. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 35, n. 2, p. 73-79, Feb, 1949.

KHAN, S. G.; OH, K. S.; SHAHLAVI, T.; UEDA, T.; BUSCH, D. B.; INUI, H.; EMMERT, S.; IMOTO, K.; MUNIZ-MEDINA, V.; BAKER, C. C.; DIGIOVANNA, J. J.; SCHMIDT, D.; KHADAVI, A.; METIN, A.; GOZUKARA, E.; SLOR, H.; SARASIN, A.; KRAEMER, K. H. Reduced XPC DNA repair gene mRNA levels in clinically normal parents of xeroderma pigmentosum patients. **Carcinogenesis**, v. 27, n. 1, p. 84-94, Jan, 2006.

- KILTIE, A. E. Molecular epidemiology of DNA repair genes in bladder cancer. **Methods Mol. Biol.**, v. 472, n. p. 281-306, 2009.
- KLUNGLAND, A.; HOSS, M.; GUNZ, D.; CONSTANTINOU, A.; CLARKSON, S. G.; DOETSCH, P. W.; BOLTON, P. H.; WOOD, R. D.; LINDAHL, T. Base excision repair of oxidative DNA damage activated by XPG protein. **Mol. Cell**, v. 3, n. 1, p. 33-42, Jan, 1999.
- KOBAYASHI, N.; KATSUMI, S.; IMOTO, K.; NAKAGAWA, A.; MIYAGAWA, S.; FURUMURA, M.; MORI, T. Quantitation and visualization of ultraviolet-induced DNA damage using specific antibodies: application to pigment cell biology. **Pigment Cell Res.**, v. 14, n. 2, p. 94-102, Apr, 2001.
- KRAEMER, K. H.; PATRONAS, N. J.; SCHIFFMANN, R.; BROOKS, B. P.; TAMURA, D.; DIGIOVANNA, J. J. Xeroderma pigmentosum, trichothiodystrophy and Cockayne syndrome: a complex genotype-phenotype relationship. **Neuroscience**, v. 145, n. 4, p. 1388-1396, Apr 14, 2007.
- KROEMER, G.; GALLUZZI, L.; BRENNER, C. Mitochondrial membrane permeabilization in cell death. **Physiol. Rev.**, v. 87, n. 1, p. 99-163, Jan, 2007.
- KROEMER, G.; GALLUZZI, L.; VANDENABEELE, P.; ABRAMS, J.; ALNEMRI, E. S.; BAEHRECKE, E. H.; BLAGOSKLONNY, M. V.; EL-DEIRY, W. S.; GOLSTEIN, P.; GREEN, D. R.; HENGARTNER, M.; KNIGHT, R. A.; KUMAR, S.; LIPTON, S. A.; MALORNI, W.; NUNEZ, G.; PETER, M. E.; TSCHOPP, J.; YUAN, J.; PIACENTINI, M.; ZHIVOTOVSKY, B.; MELINO, G. Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2009. **Cell Death Differ.**, v. 16, n. 1, p. 3-11, Jan, 2009.
- KUMAR, R.; HOGLUND, L.; ZHAO, C.; FORSTI, A.; SNELLMAN, E.; HEMMINKI, K. Single nucleotide polymorphisms in the XPG gene: determination of role in DNA repair and breast cancer risk. **Int. J. Cancer**, v. 103, n. 5, p. 671-675, Feb 20, 2003.
- KYNG, K. J.; BOHR, V. A. Gene expression and DNA repair in progeroid syndromes and human aging. **Ageing Res. Rev.**, v. 4, n. 4, p. 579-602, Nov, 2005.
- LALLE, P.; NOUSPIKEL, T.; CONSTANTINOU, A.; THOREL, F.; CLARKSON, S. G. The founding members of xeroderma pigmentosum group G produce XPG protein with severely impaired endonuclease activity. **J. Invest. Dermatol.**, v. 118, n. 2, p. 344-351, Feb, 2002.
- LAPOSA, R. R.; FEENEY, L.; CLEAVER, J. E. Recapitulation of the cellular xeroderma pigmentosum-variant phenotypes using short interfering RNA for DNA polymerase H. **Cancer Res.**, v. 63, n. 14, p. 3909-3912, Jul 15, 2003.
- LARSEN, E.; KWON, K.; COIN, F.; EGLY, J. M.; KLUNGLAND, A. Transcription activities at 8-oxoG lesions in DNA. **DNA Repair (Amst.)**, v. 3, n. 11, p. 1457-1468, Nov 2, 2004.
- LE PAGE, F.; KWOH, E. E.; AVRUTSKAYA, A.; GENTIL, A.; LEADON, S. A.;

SARASIN, A.; COOPER, P. K. Transcription-coupled repair of 8-oxoguanine: requirement for XPG, TFIIH, and CSB and implications for Cockayne syndrome. **Cell**, v. 101, n. 2, p. 159-171, Apr 14, 2000.

LE PAGE, F.; KWOH, E. E.; AVRUTSKAYA, A.; GENTIL, A.; LEADON, S. A.; SARASIN, A.; COOPER, P. K. Transcription-coupled repair of 8-oxoguanine: requirement for XPG, TFIIH, and CSB and implications for Cockayne syndrome. **Cell**, v. 123, n. 4, p. 711, Nov 18, 2005.

LEE, K. M.; LEE, J. G.; SEO, E. Y.; LEE, W. H.; NAM, Y. H.; YANG, J. M.; KEE, S. H.; SEO, Y. J.; PARK, J. K.; KIM, C. D.; LEE, J. H. Analysis of genes responding to ultraviolet B irradiation of HaCaT keratinocytes using a cDNA microarray. **Br. J. Dermatol.**, v. 152, n. 1, p. 52-59, Jan, 2005.

LEHMANN, A. R. Replication of damaged DNA in mammalian cells: new solutions to an old problem. **Mutat. Res.**, v. 509, n. 1-2, p. 23-34, Nov 30, 2002.

LEHMANN, A. R. Replication of damaged DNA by translesion synthesis in human cells. **FEBS Lett.**, v. 579, n. 4, p. 873-876, Feb 7, 2005.

LEITE, R. A.; MARCHETTO, M. C.; MUOTRI, A. R.; VASCONCELOS DDE, M.; DE OLIVEIRA, Z. N.; MACHADO, M. C.; MENCK, C. F. Identification of XP complementation groups by recombinant adenovirus carrying DNA repair genes. **J. Invest. Dermatol.**, v. 129, n. 2, p. 502-506, Feb, 2009.

LI, D.; TURI, T. G.; SCHUCK, A.; FREEDBERG, I. M.; KHITROV, G.; BLUMENBERG, M. Rays and arrays: the transcriptional program in the response of human epidermal keratinocytes to UVB illumination. **FASEB J.**, v. 15, n. 13, p. 2533-2535, Nov, 2001.

LIEBER, M. R. The mechanism of human nonhomologous DNA end joining. **J. Biol. Chem.**, v. 283, n. 1, p. 1-5, Jan 4, 2008.

LIMA-BESSA, K. M.; CHIGANCAS, V.; STARY, A.; KANNOUCHE, P.; SARASIN, A.; ARMELINI, M. G.; DE FATIMA JACYSYN, J.; AMARANTE-MENDES, G. P.; CORDEIRO-STONE, M.; CLEAVER, J. E.; MENCK, C. F. Adenovirus mediated transduction of the human DNA polymerase eta cDNA. **DNA Repair (Amst.)**, v. 5, n. 8, p. 925-934, Aug 13, 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**, v. 34, n. 8, p. 665-672, Aug, 2009.

LINDAHL, T. An N-glycosidase from Escherichia coli that releases free uracil from DNA containing deaminated cytosine residues. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 71, n. 9, p. 3649-3653, Sep, 1974.

LINDAHL, T. Instability and decay of the primary structure of DNA. **Nature**, v. 362, n. 6422, p. 709-715, Apr 22, 1993.

LJUNGMAN, M. Dial 9-1-1 for p53: mechanisms of p53 activation by cellular stress. **Neoplasia**, v. 2, n. 3, p. 208-225, May-Jun, 2000.

LJUNGMAN, M.; LANE, D. P. Transcription - guarding the genome by sensing DNA damage. **Nat. Rev. Cancer**, v. 4, n. 9, p. 727-737, Sep, 2004.

LO, H. L.; NAKAJIMA, S.; MA, L.; WALTER, B.; YASUI, A.; ETHELL, D. W.; OWEN, L. B. Differential biologic effects of CPD and 6-4PP UV-induced DNA damage on the induction of apoptosis and cell-cycle arrest. **BMC Cancer**, v. 5, n. p. 135, 2005.

LOFT, S.; HOGH DANIELSEN, P.; MIKKELSEN, L.; RISOM, L.; FORCHHAMMER, L.; MOLLER, P. Biomarkers of oxidative damage to DNA and repair. **Biochem. Soc. Trans.**, v. 36, n. Pt 5, p. 1071-1076, Oct, 2008.

LOMBARD, D. B.; CHUA, K. F.; MOSTOSLAVSKY, R.; FRANCO, S.; GOSTISSA, M.; ALT, F. W. DNA repair, genome stability, and aging. **Cell**, v. 120, n. 4, p. 497-512, Feb 25, 2005.

LUCAS-LLEDO, J. I.; LYNCH, M. Evolution of mutation rates: phylogenomic analysis of the photolyase/cryptochrome family. **Mol. Biol. Evol.**, v. 26, n. 5, p. 1143-1153, May, 2009.

MAGRINI, R.; RUSSO, D.; FRONZA, G.; INGA, A.; MENICHINI, P. The kinetics of p53-binding and histone acetylation at target promoters do not strictly correlate with gene expression after UV damage. **J. Cell Biochem.**, v. 100, n. 5, p. 1276-1287, Apr 1, 2007.

MARROT, L.; MEUNIER, J. R. Skin DNA photodamage and its biological consequences. **J. Am. Acad. Dermatol.**, v. 58, n. 5 Suppl 2, p. S139-148, May, 2008.

MASUTANI, C.; KUSUMOTO, R.; YAMADA, A.; DOHMAE, N.; YOKOI, M.; YUASA, M.; ARAKI, M.; IWAI, S.; TAKIO, K.; HANAOKA, F. The XPV (xeroderma pigmentosum variant) gene encodes human DNA polymerase eta. **Nature**, v. 399, n. 6737, p. 700-704, Jun 17, 1999.

MATSUMURA, Y.; ANANTHASWAMY, H. N. Toxic effects of ultraviolet radiation on the skin. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v. 195, n. 3, p. 298-308, Mar 15, 2004.

MAYNARD, S.; SCHURMAN, S. H.; HARBOE, C.; DE SOUZA-PINTO, N. C.; BOHR, V. A. Base excision repair of oxidative DNA damage and association with cancer and aging. **Carcinogenesis**, v. 30, n. 1, p. 2-10, Jan, 2009.

MCMILLAN, T. J.; LEATHERMAN, E.; RIDLEY, A.; SHORROCKS, J.; TOBI, S. E.; WHITESIDE, J. R. Cellular effects of long wavelength UV light (UVA) in mammalian cells. **J. Pharm. Pharmacol.**, v. 60, n. 8, p. 969-976, Aug, 2008.

MEDVEDEV, D.; STUCHEBRUKHOV, A. A. DNA repair mechanism by photolyase: electron transfer path from the photolyase catalytic cofactor FADH(-) to DNA thymine dimer. **J. Theor. Biol.**, v. 210, n. 2, p. 237-248, May 21, 2001.

MELLISH, K. J.; COX, R. D.; VERNON, D. I.; GRIFFITHS, J.; BROWN, S. B. In vitro photodynamic activity of a series of methylene blue analogues. **Photochem. Photobiol.**, v. 75, n. 4, p. 392-397, Apr, 2002.

MELLON, I.; HOCK, T.; REID, R.; PORTER, P. C.; STATES, J. C. Polymorphisms in the human xeroderma pigmentosum group A gene and their impact on cell survival and nucleotide excision repair. **DNA Repair (Amst.)**, v. 1, n. 7, p. 531-546, Jul 17, 2002.

MENCK, C. F. Shining a light on photolyases. **Nat. Genet.**, v. 32, n. 3, p. 338-339, Nov, 2002.

MENEGHINI, R. Gaps in DNA synthesized by ultraviolet light-irradiated WI38 human cells. **Biochim. Biophys. Acta**, v. 425, n. 4, p. 419-427, Apr 2, 1976.

MISTELI, T.; SOUTOGLOU, E. The emerging role of nuclear architecture in DNA repair and genome maintenance. **Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.**, v. 10, n. 4, p. 243-254, Apr, 2009.

MORIWAKI, S.; KRAEMER, K. H. Xeroderma pigmentosum--bridging a gap between clinic and laboratory. **Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.**, v. 17, n. 2, p. 47-54, Apr, 2001.

MOSLEHI, R.; DIGIOVANNA, J.; GOLDSTEIN, A.; KHAN, S.; TUCKER, P.; KRAEMER, K. Cancer risk in xeroderma pigmentosum homozygotes and heterozygotes. **American Journal of Human Genetics**, v. 73, n. 5, p. 236-236, Nov, 2003.

MU, D.; HSU, D. S.; SANCAR, A. Reaction mechanism of human DNA repair excision nuclease. **J. Biol. Chem.**, v. 271, n. 14, p. 8285-8294, Apr 5, 1996.

NAKAJIMA, S.; LAN, L.; KANNO, S.; TAKAO, M.; YAMAMOTO, K.; EKER, A. P.; YASUI, A. UV light-induced DNA damage and tolerance for the survival of nucleotide excision repair-deficient human cells. **J. Biol. Chem.**, v. 279, n. 45, p. 46674-46677, Nov 5, 2004.

NAKANISHI, M.; SHIMADA, M.; NIIDA, H. Genetic instability in cancer cells by impaired cell cycle checkpoints. **Cancer Sci.**, v. 97, n. 10, p. 984-989, Oct, 2006.

NARDO, T.; ONEDA, R.; SPIVAK, G.; VAZ, B.; MORTIER, L.; THOMAS, P.; ORIOLI, D.; LAUGEL, V.; STARY, A.; HANAWALT, P. C.; SARASIN, A.; STEFANINI, M. A UV-sensitive syndrome patient with a specific CSA mutation reveals separable roles for CSA in response to UV and oxidative DNA damage. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 106, n. 15, p. 6209-6214, Apr 14, 2009.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. Base de dados do NCBI [página na internet]. Bethesda, EUA: NCBI. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. [2010 maio 17].

NG, P. C.; HENIKOFF, S. SIFT: Predicting amino acid changes that affect protein function. **Nucleic Acids Res.**, v. 31, n. 13, p. 3812-3814, Jul 1, 2003.

NG, P. C.; HENIKOFF, S. Predicting the effects of amino acid substitutions on protein function. **Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.**, v. 7, n. p. 61-80, 2006.

NIKOLAISHVILI-FEINBERG, N.; CORDEIRO-STONE, M. Bypass replication in vitro of UV-induced photoproducts blocking leading or lagging strand synthesis. **Biochemistry**, v. 40, n. 50, p. 15215-15223, Dec 18, 2001.

NOUSPIKEL, T. DNA repair in differentiated cells: some new answers to old questions. **Neuroscience**, v. 145, n. 4, p. 1213-1221, Apr 14, 2007.

NOUSPIKEL, T. DNA repair in mammalian cells : Nucleotide excision repair: variations on versatility. **Cell Mol. Life Sci.**, v. 66, n. 6, p. 994-1009, Mar, 2009.

NOUSPIKEL, T.; CLARKSON, S. G. Mutations that disable the DNA repair gene XPG in a xeroderma pigmentosum group G patient. **Hum. Mol. Genet.**, v. 3, n. 6, p. 963-967, Jun, 1994.

NOUSPIKEL, T.; LALLE, P.; LEADON, S. A.; COOPER, P. K.; CLARKSON, S. G. A common mutational pattern in Cockayne syndrome patients from xeroderma pigmentosum group G: implications for a second XPG function. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 94, n. 7, p. 3116-3121, Apr 1, 1997.

OKINAKA, R. T.; PEREZ-CASTRO, A. V.; SENA, A.; LAUBSCHER, K.; STRNISTE, G. F.; PARK, M. S.; HERNANDEZ, R.; MACINNES, M. A.; KRAEMER, K. H. Heritable genetic alterations in a xeroderma pigmentosum group G/Cockayne syndrome pedigree. **Mutat. Res.**, v. 385, n. 2, p. 107-114, Nov, 1997.

PARK, J. Y.; HUANG, Y.; SELLERS, T. A. Single nucleotide polymorphisms in DNA repair genes and prostate cancer risk. **Methods Mol. Biol.**, v. 471, n. p. 361-385, 2009.

PERDIZ, D.; GROF, P.; MEZZINA, M.; NIKAIDO, O.; MOUSTACCHI, E.; SAGE, E. Distribution and repair of bipyrimidine photoproducts in solar UV-irradiated mammalian cells. Possible role of Dewar photoproducts in solar mutagenesis. **J. Biol. Chem.**, v. 275, n. 35, p. 26732-26742, Sep 1, 2000.

PFAFFL, M. W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. **Nucleic Acids Res.**, v. 29, n. 9, p. e45, May 1, 2001.

PISARCHIK, A.; WORTSMAN, J.; SLOMINSKI, A. A novel microarray to evaluate stress-related genes in skin: effect of ultraviolet light radiation. **Gene**, v. 341, n. p. 199-207, Oct 27, 2004.

PMUT. Ferramenta de predição do impacto da mudança de aminoácido [página na internet]. Barcelona, Espanha: Molecular Recognition & Bioinformatics Group. Disponível em: <http://mmb2.pcb.ub.es:8080/PMut/>. [2010 maio 17].

PROTIC-SABLJIC, M.; KRAEMER, K. H. One pyrimidine dimer inactivates expression of a transfected gene in xeroderma pigmentosum cells. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 82, n. 19, p. 6622-6626, Oct, 1985.

QIAO, Y.; SPITZ, M. R.; GUO, Z.; HADEYATI, M.; GROSSMAN, L.; KRAEMER, K. H.; WEI, Q. Rapid assessment of repair of ultraviolet DNA damage with a modified host-cell reactivation assay using a luciferase reporter gene and correlation with polymorphisms of DNA repair genes in normal human lymphocytes. **Mutat. Res.**, v. 509, n. 1-2, p. 165-174, Nov 30, 2002.

RAPIN, I.; LINDENBAUM, Y.; DICKSON, D. W.; KRAEMER, K. H.; ROBBINS, J. H. Cockayne syndrome and xeroderma pigmentosum. **Neurology**, v. 55, n. 10, p. 1442-1449, Nov 28, 2000.

REDDY, N. M.; KLEEBERGER, S. R.; BREM, J. H.; FALLON, P. G.; KENSLER, T. W.; YAMAMOTO, M.; REDDY, S. P. Genetic disruption of the Nrf2 compromises cell-cycle progression by impairing GSH-induced redox signaling. **Oncogene**, v. 27, n. 44, p. 5821-5832, Oct 2, 2008.

RICE, L.; WAINWRIGHT, M.; PHOEMIX, D. A. Phenothiazine photosensitizers. III. Activity of methylene blue derivatives against pigmented melanoma cell lines. **J. Chemother.**, v. 12, n. 1, p. 94-104, Feb, 2000.

ROBERTSON, A. B.; KLUNGLAND, A.; ROGNES, T.; LEIROS, I. DNA repair in mammalian cells: Base excision repair: the long and short of it. **Cell Mol. Life Sci.**, v. 66, n. 6, p. 981-993, Mar, 2009.

SAGE, E. Distribution and repair of photolesions in DNA: genetic consequences and the role of sequence context. **Photochem. Photobiol.**, v. 57, n. 1, p. 163-174, Jan, 1993.

SAMBROOK, J.; RUSSELL, D. W. **Molecular cloning: a laboratory manual**. 3 ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001. 3 v.

SANCAR, A. Structure and function of DNA photolyase and cryptochrome blue-light photoreceptors. **Chem. Rev.**, v. 103, n. 6, p. 2203-2237, Jun, 2003.

SANCAR, A.; LINDSEY-BOLTZ, L. A.; UNSAL-KACMAZ, K.; LINN, S. Molecular mechanisms of mammalian DNA repair and the DNA damage checkpoints. **Annu. Rev. Biochem.**, v. 73, n. p. 39-85, 2004.

SANYAL, S.; FESTA, F.; SAKANO, S.; ZHANG, Z.; STEINECK, G.; NORMING, U.; WIJKSTROM, H.; LARSSON, P.; KUMAR, R.; HEMMINKI, K. Polymorphisms in DNA repair and metabolic genes in bladder cancer. **Carcinogenesis**, v. 25, n. 5, p. 729-734, May, 2004.

SCHNEIDER, J. E.; PRICE, S.; MAIDT, L.; GUTTERIDGE, J. M.; FLOYD, R. A. Methylene blue plus light mediates 8-hydroxy 2'-deoxyguanosine formation in DNA preferentially over strand breakage. **Nucleic Acids Res.**, v. 18, n. 3, p. 631-635, Feb 11, 1990.



SCHUCH, A. P.; DA SILVA GALHARDO, R.; DE LIMA-BESSA, K. M.; SCHUCH, N. J.; MENCK, C. F. Development of a DNA-dosimeter system for monitoring the effects of solar-ultraviolet radiation. **Photochem. Photobiol. Sci.**, v. 8, n. 1, p. 111-120, Jan, 2009.

SCHUCH, A. P.; MENCK, C. F. The genotoxic effects of DNA lesions induced by artificial UV-radiation and sunlight. **J. Photochem. Photobiol. B**, v. n. p. Mar 18, 2010.

SCHUMACHER, B.; HOEIJMAKERS, J. H.; GARINIS, G. A. Sealing the gap between nuclear DNA damage and longevity. **Mol. Cell Endocrinol.**, v. 299, n. 1, p. 112-117, Feb 5, 2009.

SHIOMI, N.; KITO, S.; OYAMA, M.; MATSUNAGA, T.; HARADA, Y. N.; IKAWA, M.; OKABE, M.; SHIOMI, T. Identification of the XPG region that causes the onset of Cockayne syndrome by using Xpg mutant mice generated by the cDNA-mediated knock-in method. **Mol. Cell Biol.**, v. 24, n. 9, p. 3712-3719, May, 2004.

SHIOMI, N.; MORI, M.; KITO, S.; HARADA, Y. N.; TANAKA, K.; SHIOMI, T. Severe growth retardation and short life span of double-mutant mice lacking Xpa and exon 15 of Xpg. **DNA Repair (Amst.)**, v. 4, n. 3, p. 351-357, Mar 2, 2005.

SHRIVASTAV, N.; LI, D.; ESSIGMANN, J. M. Chemical biology of mutagenesis and DNA repair: cellular responses to DNA alkylation. **Carcinogenesis**, v. 31, n. 1, p. 59-70, Jan, 2010.

SORTING INTOLERANT FROM TOLERANT - SIFT. Ferramenta de predição do impacto da mudança de aminoácido [página na internet]. San Diego, EUA: J. Craig Venter Institute. Disponível em: <http://sift.jcvi.org/>. [2010 maio 17].

SLUPPHAUG, G.; KAVLI, B.; KROKAN, H. E. The interacting pathways for prevention and repair of oxidative DNA damage. **Mutat. Res.**, v. 531, n. 1-2, p. 231-251, Oct 29, 2003.

SPIVAK, G.; HANAWALT, P. C. Host cell reactivation of plasmids containing oxidative DNA lesions is defective in Cockayne syndrome but normal in UV-sensitive syndrome fibroblasts. **DNA Repair (Amst.)**, v. 5, n. 1, p. 13-22, Jan 5, 2006.

STARESINCIC, L.; FAGBEMI, A. F.; ENZLIN, J. H.; GOURDIN, A. M.; WIJGERS, N.; DUNAND-SAUTHIER, I.; GIGLIA-MARI, G.; CLARKSON, S. G.; VERMEULEN, W.; SCHARER, O. D. Coordination of dual incision and repair synthesis in human nucleotide excision repair. **EMBO J.**, v. 28, n. 8, p. 1111-1120, Apr 22, 2009.

STEFANINI, M.; BOTTA, E.; LANZAFAME, M.; ORIOLI, D. Trichothiodystrophy: from basic mechanisms to clinical implications. **DNA Repair (Amst.)**, v. 9, n. 1, p. 2-10, Jan 2, 2009.

SUGASAWA, K. Xeroderma pigmentosum genes: functions inside and outside DNA repair. **Carcinogenesis**, v. 29, n. 3, p. 455-465, Mar, 2008.

SUNG, P.; KLEIN, H. Mechanism of homologous recombination: mediators and helicases take on regulatory functions. **Nat. Rev. Mol. Cell Biol.**, v. 7, n. 10, p. 739-750, Oct, 2006.

TAKEBE, H.; NISHIGORI, C.; SATOH, Y. Genetics and skin cancer of xeroderma pigmentosum in Japan. **Jpn. J. Cancer Res.**, v. 78, n. 11, p. 1135-1143, Nov, 1987.

TIAN, M.; JONES, D. A.; SMITH, M.; SHINKURA, R.; ALT, F. W. Deficiency in the nuclease activity of xeroderma pigmentosum G in mice leads to hypersensitivity to UV irradiation. **Mol. Cell Biol.**, v. 24, n. 6, p. 2237-2242, Mar, 2004.

TORNALETTI, S.; MAEDA, L. S.; KOLODNER, R. D.; HANAWALT, P. C. Effect of 8-oxoguanine on transcription elongation by T7 RNA polymerase and mammalian RNA polymerase II. **DNA Repair (Amst.)**, v. 3, n. 5, p. 483-494, May 4, 2004.

TUBBS, J. L.; LATYPOV, V.; KANUGULA, S.; BUTT, A.; MELIKISHVILI, M.; KRAEHENBUEHL, R.; FLECK, O.; MARRIOTT, A.; WATSON, A. J.; VERBEEK, B.; MCGOWN, G.; THORNCROFT, M.; SANTIBANEZ-KOREF, M. F.; MILLINGTON, C.; ARVAI, A. S.; KROEGER, M. D.; PETERSON, L. A.; WILLIAMS, D. M.; FRIED, M. G.; MARGISON, G. P.; PEGG, A. E.; TAINER, J. A. Flipping of alkylated DNA damage bridges base and nucleotide excision repair. **Nature**, v. 459, n. 7248, p. 808-813, Jun 11, 2009.

TUTEJA, N.; TUTEJA, R. Unraveling DNA repair in human: molecular mechanisms and consequences of repair defect. **Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.**, v. 36, n. 3, p. 261-290, 2001.

UNIVERSAL PROTEIN RESOURCE. Base de dados do UniProt [página na internet]. Cambridge, Inglaterra: UniProt consortium. Disponível em: <http://www.uniprot.org/>. [2010 maio 17].

VALKO, M.; RHODES, C. J.; MONCOL, J.; IZAKOVIC, M.; MAZUR, M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. **Chem. Biol. Interact**, v. 160, n. 1, p. 1-40, Mar 10, 2006.

VAN HOFFEN, A.; VENEMA, J.; MESCHINI, R.; VAN ZEELAND, A. A.; MULLENDERS, L. H. Transcription-coupled repair removes both cyclobutane pyrimidine dimers and 6-4 photoproducts with equal efficiency and in a sequential way from transcribed DNA in xeroderma pigmentosum group C fibroblasts. **EMBO J.**, v. 14, n. 2, p. 360-367, Jan 16, 1995.

VERMEULEN, W.; JAEKEN, J.; JASPERS, N. G.; BOOTSMA, D.; HOEIJMAKERS, J. H. Xeroderma pigmentosum complementation group G associated with Cockayne syndrome. **Am. J. Hum. Genet.**, v. 53, n. 1, p. 185-192, Jul, 1993.

WAINWRIGHT, M.; PHOENIX, D. A.; RICE, L.; BURROW, S. M.; WARING, J. Increased cytotoxicity and phototoxicity in the methylene blue series via chromophore methylation. **J. Photochem. Photobiol. B**, v. 40, n. 3, p. 233-239, Oct, 1997.

WANG, J. Y.; SARKER, A. H.; COOPER, P. K.; VOLKERT, M. R. The single-strand DNA binding activity of human PC4 prevents mutagenesis and killing by oxidative DNA damage. **Mol. Cell Biol.**, v. 24, n. 13, p. 6084-6093, Jul, 2004.

WEISS, J. M.; WEISS, N. S.; ULRICH, C. M.; DOHERTY, J. A.; VOIGT, L. F.; CHEN, C. Interindividual variation in nucleotide excision repair genes and risk of endometrial cancer. **Cancer. Epidemiol. Biomarkers Prev.**, v. 14, n. 11 Pt 1, p. 2524-2530, Nov, 2005.

YANG, X. H.; ZOU, L. Dual functions of DNA replication forks in checkpoint signaling and PCNA ubiquitination. **Cell Cycle**, v. 8, n. 2, p. 191-194, Jan 15, 2009.

ZAFEIRIOU, D. I.; THOREL, F.; ANDREOU, A.; KLEIJER, W. J.; RAAMS, A.; GARRITSEN, V. H.; GOMBAKIS, N.; JASPERS, N. G.; CLARKSON, S. G. Xeroderma pigmentosum group G with severe neurological involvement and features of Cockayne syndrome in infancy. **Pediatr. Res.**, v. 49, n. 3, p. 407-412, Mar, 2001.