



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

BEATRIZ MANCINI OLIVEIRA

**POLIMORFISMOS EM GENES ENVOLVIDOS NAS VIAS DE REPARO DE DANOS
AO DNA: ASSOCIAÇÃO COM MARCADORES PROGNÓSTICOS EM PACIENTES
PEDIÁTRICOS COM TUMORES NEUROBLÁSTICOS PERIFÉRICOS.**

Londrina
2025

BEATRIZ MANCINI OLIVEIRA

**POLIMORFISMOS EM GENES ENVOLVIDOS NAS VIAS DE REPARO DE DANOS
AO DNA: ASSOCIAÇÕES COM MARCADORES PROGNÓSTICOS EM PACIENTES
PEDIÁTRICOS COM TUMORES NEUROBLÁSTICOS PERIFÉRICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial da Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Marla Karine Amarante

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

Oliveira, Beatriz Mancini.

Polimorfismos em genes envolvidos nas vias de reparo de danos ao DNA: Associação com marcadores prognósticos em pacientes pediátricos com Tumores Neuroblásticos Periféricos. / Beatriz Mancini Oliveira. - Londrina, 2025.
78 f.

Orientador: Marla Karine Amarante.
Dissertação (Mestrado em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial, 2025.
Inclui bibliografia.

1. Neoplasias pediátricas - Tese. 2. Vias de reparos ao DNA - Tese. 3. Polimorfismos genéticos - Tese. I. Amarante, Marla Karine. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial. III. Título.

CDU 616-092

BEATRIZ MANCINI OLIVEIRA

**POLIMORFISMOS EM GENES ENVOLVIDOS NAS VIAS DE REPARO
DE DANOS AO DNA: ASSOCIAÇÃO COM MARCADORES
PROGNÓSTICOS EM PACIENTES PEDIÁTRICOS COM TUMORES
NEUROBLÁSTICOS PERIFÉRICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial da Universidade Estadual de Londrina UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Profa. Dra. Marla Karine Amarante
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Carlos Eduardo Coral de Oliveira
Pontifícia Universidade Católica do Paraná –
PUCPR

Profa. Dra. Juliana Mara Serpeloni
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 07 de março de 2025.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de começar agradecendo Àquele que me amou na cruz e deu sua vida por mim, e à minha Mãe do céu Maria que intercede e zela pela minha vida todos os dias.

À minha orientadora e mãe-científica, Profa. Dra. Marla Karine Amarante, por acreditar em mim quando nem eu mesma acredito. Obrigada por me acolher, me inspirar (não só profissionalmente, mas na vida pessoal também), e não desistir de mim. Eu rezo para que no futuro eu me torne 1% da mulher forte que você é.

À minha banca de qualificação e defesa, Prof. Dr. Carlos Eduardo Coral de Oliveira e Profa. Dra. Juliana Mara Serpeloni, por terem aceitado compor um momento tão importante da minha vida e caminho acadêmico. Vocês me inspiram como docentes e pesquisadores, obrigada!

Aos meus pais, Simoni e Wagner, por nunca duvidarem da minha capacidade e principalmente por sempre apoiarem as minhas decisões.

Ao Hospital do Câncer de Londrina pelos longos anos de parceria e por acreditarem nas nossas pesquisas, e em especial à médica oncopediatra Tânia Anegawa por também agregar em nossas pesquisas, por estar disponível para nos auxiliar e por querer mudar a realidade da pesquisa brasileira em relação às neoplasias infantojuvenis! Não poderia esquecer dos pacientes e dos pais/responsáveis, que mesmo em um momento tão delicado e sensível aceitaram participar da nossa pesquisa, na esperança de que no futuro *-passinhos de formiguinha, prof Marla-* possamos melhorar a sobrevida das crianças que eventualmente desenvolvem esta neoplasia.

À uma das coordenadoras do Laboratório de Mutagênese e Oncogenética (LAMON) da UEL (e também minha banca), profa Dra Juliana, pela parceria que foi extremamente enriquecedora para o nosso grupo de pesquisa. Deixo um agradecimento em especial à doutoranda Isabely Mayara da Silva, pela paciência, ensinamentos e também por NUNCA ter duvidado da minha capacidade (não é que no final deu tudo certo?), muito obrigada Isa, você foi essencial para o desenvolvimento deste trabalho, mil vezes obrigada!

Ao Prof Dr. Carlos Eduardo, tanto por ter aceitado compor minha banca quanto por todos os ensinamentos nesse último ano. Por ter me ensinado a qPCR me colocando pra fazer uma placa de primeira, quanto pelo auxílio com a estatística e escrita do artigo deste trabalho. Obrigada prof Cadu, espero poder contar com o senhor sempre (e que o senhor conte com a gente também)!

Aos amigos que estão comigo há anos e àqueles que eu encontrei no decorrer da caminhada/vida acadêmica. Primeiramente aos amigos que me aguentaram diariamente nessa loucura que é a pós-graduação: Aline, Pedro e Tainah, falo com tranquilidade que sem vocês eu não teria conseguido terminar, obrigada por tanto. Aos amigos de laboratório, da graduação, da vida: Adrielli Soares, Camila Alves, Camille Hannes, Denis Fidelis, Edvaldo, Marcelo Henrique, Gabrielle Vertuan, Gabriel Amaral, Julia Nascimento, Nathália Ondeí, João Vinicius, Gustavo Yuji, Thiago Matias, entre outros... Muito obrigada, amo vocês de todo meu coração!

Ao Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial e aos docentes que fazem parte. Sou suspeita de falar, mas o aprendizado (tanto acadêmico quanto profissional) é totalmente mérito de vocês, obrigada pelas disciplinas oferecidas e ministradas, pelo auxílio e por sempre estarem tão atentos às necessidades do aluno. Um agradecimento em especial pra coordenadora do programa, Profa Dra Márcia Regina Eches Perugini.

À minha psicóloga, Eloisa Sobh Ambrósio, sem você eu também não teria chegado até aqui, obrigada por todos esses anos de análise!

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa.

Obrigada!

“Você já parou de evitar a vida porque percebeu que quando se evita a vida o que se encontra é a morte, e que não faz sentido viver morto?”
As cabanas que o amor faz em nós – Ana Suy

OLIVEIRA, Beatriz Mancini. **Polimorfismos em genes envolvidos nas vias de reparo de danos ao DNA: Associações com marcadores prognósticos em pacientes pediátricos com Tumores Neuroblásticos Periféricos.** 78. f. Dissertação em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2025.

RESUMO

Introdução: Os tumores neuroblásticos periféricos (TNPs) são neoplasias embrionárias que acometem predominantemente crianças e apresentam um amplo espectro clínico, variando desde regressão espontânea até metástases agressivas à distância. Esses tumores são classificados em ganglioneuroma (GN), ganglioneuroblastoma (GNB) e neuroblastoma (NB), com base em suas características morfológicas. Apesar dos avanços terapêuticos, a taxa de sobrevivência a longo prazo para pacientes de alto risco permanece inferior a 40%, evidenciando a necessidade de estratégias mais eficazes para o manejo da doença. Polimorfismos genéticos têm sido estudados na oncologia por seu potencial impacto na predisposição, progressão e prognóstico das neoplasias humanas. Em particular, variantes em genes envolvidos nas vias de reparo do DNA, como *PARP1*, *XPC* e *XPA*, são de grande interesse, pois podem influenciar a instabilidade genômica e, conseqüentemente, o comportamento tumoral. No entanto, a relevância dessas variantes nos TNPs ainda é pouco compreendida. Diante disso, o presente estudo teve como objetivo investigar a associação dos polimorfismos rs1136410 (*PARP1*), rs1800975 (*XPA*) e rs2228000 (*XPC*) com parâmetros clinicopatológicos e prognósticos em pacientes infantojuvenis diagnosticados com GN, GNB e NB. Foram analisadas características como idade ao diagnóstico, estadiamento clínico, histopatologia do tumor, presença de metástases, local do tumor primário, extensão da doença ao diagnóstico, recorrência residual, ocorrência de recidivas, entre outros, buscando associar os diferentes genótipos com o comportamento clínico da doença. **Metodologia:** Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CAAE 59515722.70000.5231 e CAAE 80073124.9.0000.0020). No total, foram analisadas 72 amostras biológicas, sendo 15 de sangue periférico e 57 provenientes de blocos de parafina. A extração do DNA genômico foi realizada, e a genotipagem avaliada por qPCR, utilizando ensaios TaqMan® previamente validados. Para análise estatística, empregou-se o teste de qui-quadrado, exato de Fisher e análise de associação de risco relativo (RR-IC 95%), considerando um nível de significância de $p < 0.05$. **Resultados e Conclusões:** Em relação ao SNP do gene *PARP1* não foram encontradas associações significativas ao comparar os modelos genéticos e parâmetros prognósticos. Entretanto, para o gene *XPC* rs2228000, encontramos que indivíduos com genótipos GG quando comparados a indivíduos com genótipos GA+AA apresentam maior risco a desenvolver a doença em estágios mais avançados, com $p = 0,036$ (RR 1,529). Em relação ao gene *XPA* rs1800975, foi possível encontrar um fator de proteção para o desenvolvimento de infiltração na medula óssea ao diagnóstico em indivíduos que carregam o genótipo TT quando comparados a indivíduos que apresentam CT+CC, com $p = 0,037$ (RR 0,324). Esses resultados reforçam a complexidade biológica dos TNPs e indicam que marcadores genéticos individuais podem ter limitações na predição do comportamento da

doença. Dessa forma, estudos adicionais, contemplando diferentes populações e interações gene-gene e gene-ambiente, são essenciais para elucidar o papel dessas variantes na progressão dos TNPs e seu potencial uso como biomarcadores prognósticos.

Palavras-chave: tumores pediátricos, genes de reparo, PARP1, XPA, XPC

OLIVEIRA, Beatriz Mancini. **Genetic Polymorphisms in DNA Damage Repair Pathway Genes: Associations with Prognostic Markers in Pediatric Patients with Peripheral Neuroblastic Tumors**. 2025. 78 pp. Dissertation– Londrina State University, Londrina, 2025.

ABSTRACT

Introduction: Peripheral neuroblastic tumors (PNTs) are embryonic neoplasms that predominantly affect children and display a wide clinical spectrum, ranging from spontaneous regression to aggressive distant metastasis. These tumors are classified as ganglioneuroma (GN), ganglioneuroblastoma (GNB), and neuroblastoma (NB), based on their morphological characteristics. Despite therapeutic advances, the long-term survival rate for high-risk patients remains below 40%, highlighting the need for more effective strategies in disease management. Genetic polymorphisms have been studied in oncology due to their potential impact on predisposition, progression, and prognosis of human neoplasms. In particular, variants in genes involved in DNA repair pathways, such as *PARP1*, *XPC*, and *XPA*, are of great interest, as they may influence genomic instability and consequently tumor behavior. However, the relevance of these variants in PNTs is still poorly understood. Therefore, the present study aimed to investigate the association of polymorphisms rs1136410 (*PARP1*), rs1800975 (*XPA*), and rs2228000 (*XPC*) with clinicopathological and prognostic parameters in pediatric patients diagnosed with GN, GNB, and NB. Characteristics such as age at diagnosis, clinical staging, tumor histopathology, presence of metastasis, primary tumor site, disease extent at diagnosis, residual recurrence, and relapse occurrence were analyzed to associate different genotypes with the clinical behavior of the disease. **Methods:** This study was approved by the Research Ethics Committee for Human Subjects (CAAE 59515722.70000.5231 and CAAE 80073124.9.0000.0020). A total of 72 biological samples were analyzed, including 15 peripheral blood and 57 paraffin-embedded tissue blocks. Genomic DNA extraction was performed, and genotyping was assessed by qPCR using previously validated TaqMan® assays. Statistical analysis included chi-square test, Fisher's exact test, and relative risk (RR-95% CI) association analysis, considering a significance level of $p < 0.05$. **Results and Conclusions:** No significant associations were found for the *PARP1* gene SNP when comparing genetic models and prognostic parameters. However, for the *XPC* gene rs2228000, individuals with the GG genotype showed a higher risk of being diagnosed with advanced-stage disease compared to those with GA+AA genotypes ($p = 0.036$; RR 1.529). For the *XPA* gene rs1800975, a protective factor against bone marrow infiltration at diagnosis was identified in individuals with the TT genotype compared to those with CT+CC genotypes ($p = 0.037$; RR 0.324). These findings reinforce the biological complexity of PNTs and suggest that individual genetic markers may have limitations in predicting disease behavior. Therefore, additional studies, including diverse populations and gene-gene and gene-environment interactions, are essential to further elucidate the role of these variants in PNT progression and their potential use as prognostic biomarkers.

Key-words: Pediatric tumors; repair genes; *PARP1*; *XPA*; *XPC*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Subtipos histológicos de Tumores Neuroblásticos Periféricos (TNPs).

Figura 2 – Mecanismos de danos ao DNA.

Figura 3 – Formas de danos ao DNA e respectivas vias que participam do seu reparo.

Figura 4 – Via de reparo por excisão de base (BER) e subvias SN-BER e LP-BER.

Figura 5 – Ilustração da via de reparo por excisão de nucleotídeos (NER).

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Sistema Internacional de Estadiamento de Neuroblastoma

Tabela 2 – Estratificação de risco de neuroblastoma do *Children's Oncology Group* (COG).

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APE1 Endonuclease AP 1

AP Sítio apurínico

ALK Quinase do linfoma anaplásico (do inglês *anaplastic lymphoma kinase*)

BER Reparo por excisão de base (do inglês *base excision repair*)

BRCT *BRCA1 C-terminal (breast cancer 1 C-terminal)*

CETN2 Centrin 2

CPDs Dímeros de pirimidina ciclobutano (do inglês *cyclobutane pyrimidine dimers*)

CS Síndrome de Cockayne (do inglês *Cockayne syndrome*)

COG *Children's Oncology Group*

cSNPs Polimorfismos de nucleotídeo único de região codificadora (do inglês *coding region single nucleotide polymorphism*)

DNA Ácido Desoxirribonucleico

dNTP Desoxinucleosídeo trifosfato

DDR Resposta a danos ao DNA (do inglês *DNA damage response*)

DSBs Quebras de fita dupla (do inglês *double-strand breaks*)

DBD Domínio de ligação DNA amino-terminal

GGR-NER Reparo global do genoma (do inglês *global genome repair*)

GNB Ganglioneuroblastoma

GN Ganglioneuroma

GD2 anti-disialogangliosídeo

HF Histologia favorável

HD Histologia desfavorável

HR23B Homólogo humano da proteína Rad23 de levedura

HMGN1 Proteína 1 com domínio de ligação ao nucleossomo de alta mobilidade (do inglês *high mobility group nucleosome-binding domain-containing protein 1*)

INPC Classificação Internacional de Patologia do Neuroblastoma (do inglês *International Neuroblastoma Pathology Classification*)

INSS Sistema Internacional de Estadiamento do Neuroblastoma (do inglês *International Neuroblastoma Staging System*)

LP-BER Reparo por excisão de base de via longa (do inglês *long-patch BER*)

LDH Lactato desidrogenase

MKI *mitotic-karyorrhexis index*

MMR Reparo de mapeamento (do inglês *mismatch repair*)

mIBG Metaiodobenzilguanidina

mAb Anticorpo monoclonal

NB Neuroblastoma

NER Reparo por excisão de nucleotídeo (do inglês *nucleotide excision repair*)

NHEJ Junção de extremidade não homóloga (do inglês *non-homologous end joining*)

NAD⁺ adenina dinucleotídeo

pol β DNA polimerase β

TNPs Tumores Neuroblásticos Periféricos

RNAP RNA polimerase

RAD23B proteína de reparo de excisão UV Radiation sensitive 23B

ROS Espécies reativas de oxigênio (do inglês *reactive oxygen species*)

RI Radiação Ionizante

RM Ressonância magnética

SNPs Polimorfismos de nucleotídeo único (do inglês *single nucleotide polymorphism*)

SSBs Quebra de fita simples (do inglês *single strand breaks*)

SSBR Reparo de quebra de fita simples (do inglês *single-strand break repair*)

ssDNA DNA fita simples transitório

SP-BER Reparo por excisão de base de nucleotídeo único (do inglês *single-nucleotide base excision repair*)

SNC Sistema nervoso central

TCR-NER Reparo acoplado à transcrição (do inglês *transcription-coupled nucleotide excision repair*)

TFIIH Fator de transcrição II H (do inglês *transcription factor II H*)

TNPs Tumores Neuroblásticos Periféricos

TC Tomografia computadorizada

TTD Tricotiodistrofia

UV Luz Ultravioleta

UV-DDB Complexo de proteína de ligação a danos ao DNA danificado por ultravioleta (do inglês *ultraviolet-damaged DNA-binding protein complex*)

UVSSA Proteína A de andaime estimulada por UV (do inglês *UV-stimulated scaffold protein A*)

USP7 Protease 7 de processamento específico de ubiquitina (do inglês *ubiquitin-specific processing protease 7*)

XP Xeroderma Pigmentoso

XPA Grupo de complementação A do xeroderma pigmentoso

XPC Grupo de complementação C do xeroderma pigmentoso

XRCC1 Proteína de complemento cruzado de reparo de raios-x 1

XAB2 Proteína 2 de ligação à XPA (do inglês *XPA-binding protein 2*)

SUMÁRIO

1. Introdução.....	1
1.1 Câncer InfantoJuvenil.....	1
1.2 Tumores Neuroblásticos Periféricos: Epidemiologia, Fatores de Risco e Constituição Histopatológica.....	2
1.3 Comportamento Clínico, Diagnóstico e Estadiamento de TNPs.....	5
1.4 Classificação de Risco para NB e Tratamentos para TNPs.....	7
1.5 Vias de Reparo ao DNA e o Câncer.....	10
1.6 Reparo por Excisão de Base.....	11
1.7 Poli(ADP-ribose)polimerase 1.....	13
1.8 Reparo por Excisão de Nucleotídeos.....	14
1.9 Grupo de complementação C do Xeroderma Pigmentoso e Grupo de Complementação A.....	16
2. Objetivos.....	19
2.1 Objetivos gerais.....	19
2.2 Objetivos específicos.....	19
3. Produção Bibliográfica.....	20
4. Conclusão.....	47
5. Considerações finais.....	48
Referências.....	49
Anexos.....	57

ANEXO I – Aprovação Comitê de Ética em Pesquisa (UEL)

ANEXO II – Aprovação Comitê de Ética em Pesquisa (PUCPR).

ANEXO III – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para os responsáveis legais dos pacientes.

ANEXO IV – Termo de Assentimento para indivíduos maiores de 5 anos de idade.

1. INTRODUÇÃO

1.1 CÂNCER INFANTOJUVENIL

O câncer infantojuvenil é relativamente raro, caracterizado por acometer indivíduos entre 0 e 19 anos. Segundo o Instituto Nacional de Câncer (INCA, 2023), para cada ano do triênio de 2023 a 2025, são estimados cerca de 7.390 novos casos, sendo a Região Sul com maior incidência (153,29 por milhão). No Brasil, no ano de 2020, ocorreram cerca de 2.289 mortes por câncer infanto-juvenil, e é a principal causa de morte em crianças e adolescentes no mundo (Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva, 2020a; Lam *et al.*, 2019; Steliarova-Foucher *et al.*, 2017). Apesar da taxa de sobrevivência para neoplasias pediátricas ser atualmente superior a 80%, 95% dos sobreviventes têm pelo menos uma condição séria, incapacitante ou com risco de vida, frequentemente associada às terapias e tratamentos do câncer (Bhakta *et al.*, 2017)

Os tipos de neoplasias que se desenvolvem em crianças e adolescentes se diferem daqueles que se desenvolvem em adultos, principalmente pela sua origem. Geralmente denominados “tumores embrionários”, os cânceres infanto-juvenis são mais comuns em crianças de até 5 anos, originados de células embrionárias e associados a alterações durante o desenvolvimento embrionário do órgão acometido. Devido sua raridade, encontrar evidências para associações causais entre fatores de risco putativos com neoplasias infantis é extremamente limitante (Montalvão-de-Azevedo *et al.*, 2015). A raridade é, portanto, um dos principais fatores que dita a qualidade e quantidade de evidências para associações causais entre fatores de risco e neoplasias infantojuvenil. Síndromes hereditárias, causadas por mutações de DNA de alta penetrância da linha germinativa, aneuploidia cromossômica ou distúrbios epigenéticos são conhecidos por causar uma minoria de cânceres infantis (DeBaun, Tucker, 1998; Malkin, 2011; Ross *et al.*, 2005; Seif, 2011).

1.2 TUMORES NEUROBLÁSTICOS PERIFÉRICOS: EPIDEMIOLOGIA, FATORES DE RISCO E CONSTITUIÇÃO HISTOPATOLÓGICA

Os tumores neuroblásticos periféricos (TNPs) correspondem a um espectro de neoplasias benignas e malignas decorrentes da linhagem simpatoadrenal da crista neural e, incluem Neuroblastoma (NB), Ganglioneuroblastoma (GNB) e Ganglioneuroma (GN), podendo apresentar-se como lesões de massa no pescoço, tórax, abdômen ou pelve (Shimada *et al.*, 1999). Por ser uma neoplasia complexa e heterogênea, muitos fatores como a idade ao diagnóstico, estágio da doença ao diagnóstico e algumas características moleculares, celulares e genéticas do tumor, determinam se ele irá regredir espontaneamente ou se disseminará através de metástases tornando-se refratário à terapia (Cheung, Dyer, 2013).

Atualmente sabe-se que algumas mutações em vias de sinalização essenciais para o desenvolvimento da linhagem simpatoadrenal estão associadas a síndromes genéticas familiares caracterizadas por defeitos no desenvolvimento e predisposição para TNPs. Porém, casos desta neoplasia familiar são raros, correspondendo a <2% de todos os diagnósticos (Maris *et al.*, 2002; Mosse *et al.*, 2008). A primeira mutação de predisposição encontrada em TNPs foi no gene *PHOX2B*, o qual codifica um fator de transcrição de homeodomínio pareado que promove a saída do ciclo celular e a diferenciação neuronal, desempenhando um papel crítico no desenvolvimento de neurônios autonômicos derivados da crista neural (Raabe *et al.*, 2008; Trochet *et al.*, 2005). Outra mutação associada ao desenvolvimento desta neoplasia está no gene da quinase do linfoma anaplásico (*ALK*). Este gene é expresso na linhagem simpatoadrenal em desenvolvimento da crista neural, podendo regular o equilíbrio entre a proliferação e diferenciação por meio de diversas vias celulares (Degoutin *et al.*, 2009; Iwahara *et al.*, 1997).

Estudos recentes de associação em todo o genoma identificaram vários loci de suscetibilidade ao NB, incluindo polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) em *HACE1*, *LIN28B*, *BARD1*, *CASC15*, *TP53* e *LMO1* (Capasso *et al.*, 2009; Dsikin *et al.*, 2012; Maris *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2010). Porém, vale ressaltar que a mutação genética mais comum em TNPs esporádicos, a amplificação do oncogene *MYCN*, que ocorre em aproximadamente 22% dos tumores, está associada a um pior prognóstico (Brodeur, 2003). O *MYCN* regula a proliferação, crescimento,

diferenciação e sobrevivência de células do sistema nervoso central (SNC) em desenvolvimento e também é expresso na crista neural (Grimmer, Weiss, 2006). Apesar de ser um importante fator oncogênico nesta neoplasia e tenha sido estudado extensivamente por quase 3 décadas, atualmente não há ensaios clínicos direcionados à proteína MYCN diretamente em TNPs, devido às dificuldades inerentes ao desenvolvimento de terapias moleculares direcionadas a fatores de transcrição (Brodeur *et al.*, 1984; Cheung, Dyer, 2013).

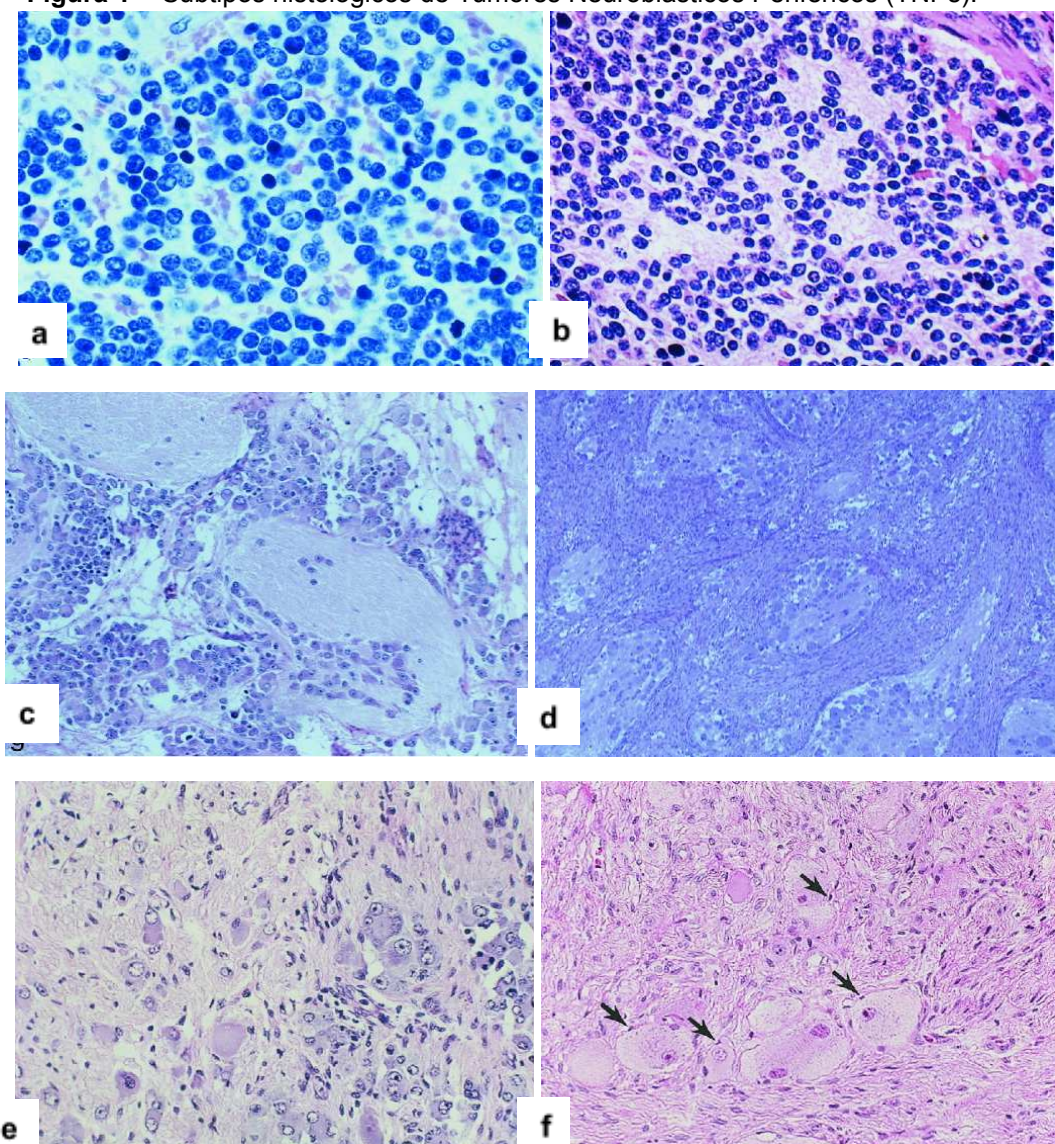
Os TNPs pertencem às neoplasias denominadas de “pequenas células redondas azuis”, sendo derivadas de células progenitoras do sistema nervoso simpático: a simpatogônia da linhagem simpatoadrenal. Depois de migrarem da crista neural, essas simpatogônias pluripotentes formam os gânglios simpáticos, as células cromafins da medula adrenal e os paragânglios, refletindo as localizações típicas dos TNPs. No diagnóstico imunohistoquímico de TNPs, a coloração positiva para marcadores neuronais, incluindo enolase específica de neurônio, sinaptofisina, proteína de neurofilamento, gangliosídeo GD2, cromogranina A e tirosina hidroxilase, combinada com coloração negativa para marcadores de outros tumores de pequenas células redondas deve ser considerada (Park *et al.*, 2008).

Em 1963, os pesquisadores Beckwith e Perrin, através de estudos observacionais de “*neuroblastoma in situ*”, sugeriram uma história natural dos TNPs que poderia incluir involução (regressão) e maturação (Beckwith, Perrin, 1963). Essa história/conceito foi incorporada na Classificação Internacional de Patologia do Neuroblastoma do inglês *International Neuroblastoma Pathology Classification* (INPC), o qual foi estabelecido em 1999 adotando o sistema original proposto por Shimada em 1984 (Shimada *et al.* 1984; Shimada *et al.* 1999). O INPC foi revisado em 2003, e é um sistema que distingue um grupo de histologia favorável (HF) de um grupo de histologia desfavorável (HD) de TNPs, aplicando o conceito de intervalos normais dependentes da idade e de características morfológicas, como desenvolvimento estromal de Schwann, grau de diferenciação neuroblástica e índice de mitose-cariorrexe (Park *et al.*, 2008; Peuchmaur *et al.*, 2003).

De acordo com o INPC, os TNPs são classificados em uma das três categorias morfológicas. Um NB é um tumor composto de células neuroblásticas formando grupos ou ninhos separados por septos estromais com ou sem proliferação Schwanniana, divididos em 3 subtipos: (1) indiferenciado, (2) pouco diferenciado e (3) diferenciado. Um GNB pode ser dividido em intermisturado ou

nodular; o intermisturado é um tumor que contém ninhos microscópios bem definidos de células neuroblásticas intermisturadas ou distribuídas aleatoriamente no estroma ganglioneuromatoso; já o nodular é caracterizado pela presença de nódulos neuroblásticos grosseiramente visíveis, geralmente hemorrágicos coexistindo com GNB, intermisturados ou com GN. O GN também apresenta dois subtipos, denominados de em maturação e maduro; o subtipo em maturação é composto predominantemente de estroma ganglioneuromatoso com coleções dispersas de NBs em diferenciação ou células ganglionares em maturação, além de células ganglionares maduras; o subtipo maduro é composto de estroma Schwanniano maduro e células ganglionares (Shimada *et al.*, 1999) (Figura 1)

Figura 1 - Subtipos histológicos de Tumores Neuroblásticos Periféricos (TNPs).



Fonte: Adaptado de Shimada *et al.*, 1999. (a) NB pobre em estroma de Schwann, subtipo indiferenciado. (b) NB pobre em estroma de Schwann, subtipo pouco diferenciado. (c) NB pobre em estroma de Schwann, subtipo em

diferenciação. (d) GNB rico em estroma de Schwann, subtipo intermisturado. (e) GN estroma dominante de Schwann, subtipo em maturação. (f) GN estroma dominante de Schwann, subtipo maduro; nas setas é possível identificar células ganglionares totalmente maduras e individualmente embutidas no estroma de Schwann.

1.3 COMPORTAMENTO CLÍNICO, DIAGNÓSTICO E ESTADIAMENTO DE TNPs.

A forma com que essa neoplasia se apresenta clinicamente depende do local de origem do tumor, da extensão da doença e da presença de síndromes paraneoplásicas. A maioria dos tumores (65%) surgem no abdômen, com mais da metade deles surgindo na glândula adrenal; outros locais de origem incluem o pescoço, tórax e pelve. Aproximadamente 50% dos pacientes apresentam a doença localizada ou regional, e quase 35% dos pacientes apresentam disseminação regional dos linfonodos no momento do diagnóstico. Normalmente pacientes com a doença localizada são assintomáticos. A disseminação da doença acontece pelas vias linfáticas e/ou hematogênicas (osso, medula óssea e fígado), e estes pacientes geralmente apresentam sintomas como febre, dor abdominal e irritabilidade (Park *et al.*, 2008).

Os critérios atuais para diagnóstico e estadiamento são baseados nos critérios do Sistema Internacional de Estadiamento do Neuroblastoma (do inglês *International Neuroblastoma Staging System -INSS*), inicialmente foram formulados em 1986 e revisados em 1988 (Brodeur *et al.*, 1988; Brodeur *et al.*, 1993). Estes tumores são diagnosticados e estadiados por meio de uma combinação de métodos histológicos, bioquímicos e de imagem. As avaliações laboratoriais principais incluem hemograma, exames de coagulação (devido ao frequente envolvimento do fígado), avaliação da síndrome de lise tumoral, creatinina sérica, ferritina e lactato desidrogenase (LDH) (Qiu, Matthay, 2022). Apesar de correlacionarem os níveis de ferritina e LDH com o prognóstico, estes parâmetros não estão incluídos nos protocolos atuais do *European Neuroblastoma Group* (SIOPEN) e do *Children's Oncology Group* (COG) para a estratificação de risco da doença (Morgenstern *et al.*, 2018; Moreno *et al.*, 2020). Amostras de urina também são analisadas para ácido vanil mandélico e ácido homovanílico, pois estes metabólitos da catecolamina apresentam níveis elevados em 90% dos pacientes ao diagnóstico (Strenger *et al.*, 2007).

Imagens anatômicas com tomografia computadorizada (TC) ou ressonância magnética (RM) também são necessárias para a delimitação e identificação de prognóstico e estadiamento tumoral (Qiu Matthay, 2022). O método de varredura funcional com ^{123}I -metaiodobenzilguanidina (^{123}I -MIBG) tornou-se padrão de

tratamento para diagnóstico e estadiamento dos TNPs. Como a metaiodobenzilguanidina (mIBG) é um derivado da guanetidina e um análogo da norepinefrina, ele é especificamente absorvido e armazenada em tumores derivados de tecidos de origem do sistema nervoso simpático que expressam o transportador de norepinefrina (McCluskey *et al.*, 2005; Moroz *et al.*, 2007). A cintilografia com ¹²³I-MIBG tem uma sensibilidade de 90% e uma especificidade de 99%, permitindo a identificação da doença primária e metastática (Matthay *et al.*, 2010). As definições do INSS para o estágio nos TNPs estão listadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Sistema Internacional de Estadiamento de Neuroblastoma

Estágio I	Tumor localizado com excisão macroscópica completa, com ou sem doença residual macroscópica; linfonodos ipsilaterais representativos negativos para tumor microscopicamente (linfonodos anexados e removidos com o tumor primário podem ser positivos).
Estágio IIA	Tumor localizado com ressecção macroscópica incompleta; linfonodos ipsilaterais não aderentes representativos negativos para tumor microscopicamente.
Estágio IIB	Tumor localizado com ou sem excisão macroscópica completa com linfonodos ipsilaterais não aderentes positivos para tumor; linfonodos contralaterais aumentados devem ser negativos microscopicamente.
Estágio III	Tumor unilateral irressecável infiltrando-se na linha média com ou sem envolvimento de linfonodos regionais, tumor unilateral localizado com envolvimento de linfonodos regionais contralaterais ou tumor da linha média com extensão bilateral por infiltração (irressecável) ou por envolvimento de linfonodos.
Estágio IV	Qualquer tumor primário com disseminação para linfonodos distantes, osso, medula óssea, fígado, pele ou outros órgãos.
Estágio IVS	Tumor primário localizado (conforme definido para estágio I, IIA ou IIB) com disseminação limitada à pele, fígado ou medula óssea (limitado a bebês <1 ano de idade).

Fonte: Adaptado de Brodeur *et al.*, 1993.

A possibilidade de ressecção implica na remoção do tumor sem remoção de órgãos vitais ou comprometimento dos vasos principais. Tumores completamente ressecados são classificados como estágio I, tumores regionais parcialmente ressecados com ou sem envolvimento nodular regional são classificados como estágios II e III. A doença em estágio IV é definida como disseminação hematogênica ou nodal distante do tumor primário (Brodeur *et al.*, 1993).

1.4 CLASSIFICAÇÃO DE RISCO PARA NB E TRATAMENTOS PARA TNPs

Diversos fatores clínicos e biológicos demonstraram prever o comportamento clínico de NB, e existe um consenso internacional de que uma combinação desses fatores prevê melhor o prognóstico clínico. O COG estratifica os pacientes em categorias de baixo, intermediário ou alto risco com base na idade ao diagnóstico, estágio INSS, histopatologia do tumor, índice de ploidia de DNA e status de amplificação do *MYCN* (Tabela 2) (Park *et al.*, 2008).

Devido à sua heterogeneidade biológica, existem diferentes estratégias terapêuticas para os TNPs. Para os tumores com características biológicas favoráveis, a tendência tem sido reduzir a intensidade terapêutica, diferentemente da abordagem para tumores com características prognósticas adversas, onde há a intensificação da quimiorradioterapia (Maris, 2010). O tratamento utilizado para a doença de alto risco pode ser dividido em 3 fases: indução da remissão, consolidação da remissão e uma fase de manutenção focada na erradicação da doença residual mínima. A indução consiste em ciclos de quimioterapia multiagente composto de platina (carboplatina, cisplatina), etoposídeo, ciclofosfamida e vincristina adjunto da ressecção do tumor primário, seguida por uma consolidação que compreende quimioterapia de alta dose com resgate de células-tronco autólogas e radioterapia (Pinto *et al.*, 2015). A fase de manutenção envolve imunoterapia usando anticorpo monoclonal (mAb) anti-disialogangliosídeo (GD2) com citocinas e terapia de diferenciação usando isotretinoína, a qual será citada posteriormente nesta seção (Coughlan *et al.*, 2017; Smith, Foster, 2018).

Tabela 2 - Estratificação de risco de neuroblastoma do COG.

Grupo de risco	Estágio	Idade	Amplificação MYCN	Ploidia	Shimada
Baixo risco	I	Qualquer	Qualquer	Qualquer	Qualquer
Baixo risco	IIA/IIB	Qualquer	Não amplificado	Qualquer	Qualquer
	IIA/IIB	Qualquer	Amplificado	Qualquer	Qualquer
Alto risco	III	<547dias	Não amplificado	Qualquer	Qualquer
Risco intermediário		>547dias	Não amplificado	Qualquer	HF
Risco intermediário	III	Qualquer	Amplificado	Qualquer	Qualquer
Alto risco		>547dias	Não amplificado	Qualquer	HD
Alto risco	IV	<365dias	Amplificado	Qualquer	Qualquer
Alto risco		<365dias	Não amplificado	Qualquer	Qualquer
Risco intermediário	IV	365 a <547dias	Amplificado	Qualquer	Qualquer
Alto risco		365 a <547dias	Qualquer	DI =1	Qualquer
Alto risco	IV	365 a <547dias	Qualquer	Qualquer	HD
Alto risco		365 a <547dias	Não amplificado	DI>1	HF
Risco intermediário	IV	>547dias	Qualquer	Qualquer	Qualquer
Alto risco		IVS	<365dias	Não amplificado	DI>1
Baixo risco	IVS	<365dias	Não amplificado	DI=1	Qualquer
Risco intermediário		<365dias	Não amplificado	Qualquer	HD
Risco intermediário	IVS	<365dias	Não amplificado	Qualquer	HD
Alto risco		<365dias	Amplificado	Qualquer	Qualquer

Fonte: adaptado de Park *et al.*, 2008; Abreviações: DI, índice de DNA; HF: histologia favorável; HD: histologia desfavorável; Significado da palavra qualquer: independente da característica.

Sabe-se que aproximadamente metade dos pacientes com NB de alto risco não responde ao protocolo de terapia de primeira linha ou sofre recaída nos

primeiros 2 anos após o tratamento (Castel *et al.*, 2001; London *et al.*, 2011; Pearson *et al.*, 2008). Uma das explicações mais prováveis para a falha do tratamento em pacientes com esta neoplasia é a presença residual de células cancerosas circulando no sangue, o que pode levar a recidivas e, conseqüentemente, uma resistência adquirida aos tratamentos utilizados (Maris, 2010). A presença de ensaios clínicos randomizados demonstraram uma melhora na sobrevida livre de doença com quimioterapia mieloablativa ou terapia citotóxica mieloablativa com transplante autólogo de medula óssea (TAMO), a qual é comumente administrada após a terapia de indução e seguida pelo resgate com células progenitoras hematopoiéticas autólogas (Berthold *et al.*, 2005; Pritchard *et al.*, 2005).

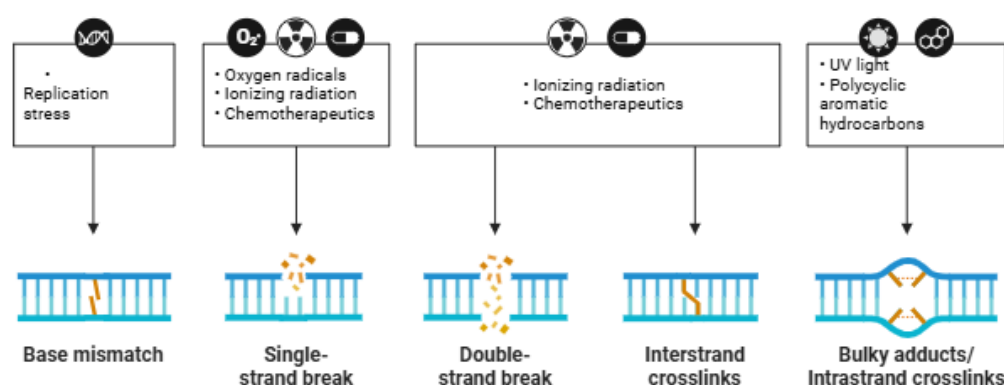
Experimentos da década de 1980 mostraram que as linhagens celulares de TNPs podem frequentemente ser induzidas a se diferenciar terminalmente mediante exposição a compostos retinoides (Sidell, 1982; Thiele *et al.*, 1985). Esses estudos levaram a um ensaio clínico randomizado no qual a isotretinoína (ácido 13-cis-retinoico) foi utilizada após a terapia de consolidação mieloablativa em pacientes com NB, onde o risco de recidiva foi reduzido entre aqueles que receberam isotretinoína (Matthay *et al.*, 1999). O uso da isotretinoína melhora a sobrevida livre de eventos, mas não a sobrevida global dos pacientes, logo a adição de imunoterapia com anticorpos anti-GD2 e citocinas exógenas (visando aumentar a imunidade antitumoral) melhorou os resultados em relação ao uso isolado deste medicamento em pacientes com doença de alto risco (Ladenstein *et al.* 2018; Yu *et al.*, 2010; Yu *et al.*, 2021).

Quanto as imunoterapias relacionadas aos inibidores de ponto de verificação do sistema imune, apesar de serem bem-sucedidas em alguns tipos de cânceres como melanoma, certos carcinomas adultos e algumas malignidades hematológicas adultas e pediátricas (Maude *et al.*, 2018; Postow *et al.*, 2015; Reck *et al.*, 2016). Existem poucos sucessos clínicos em relação aos tumores sólidos infantis, com taxas de resposta especialmente decepcionantes aos inibidores de ponto de verificação imunológica (Merchant *et al.*, 2015).

1.5 VIAS DE REPARO AO DNA E O CÂNCER

O ácido desoxirribonucleico (DNA) é uma molécula intrinsecamente reativa e altamente suscetível a modificações químicas por agentes endógenos e exógenos. Em relação aos meios endógenos, as enzimas envolvidas na replicação e reparo do DNA cometem falhas, levando a uma sobrecarga nas células e, conseqüentemente, desencadeando mutações potencialmente desvantajosas. Os meios exógenos incluem fatores externos como radiação ionizante (RI) e ultravioleta (UV), produtos químicos como agentes alquilantes e aminas aromáticas, agentes cancerígenos no ar ou naturais da dieta, exposição no local de trabalho, exposição voluntária e medicamentos terapêuticos (Figura 2) (Chatterjee, Walker, 2017; Gupta, Lutz, 1999). Essa instabilidade no genoma é uma etapa crucial no desenvolvimento do câncer, contribuindo também para o envelhecimento e doenças relacionadas à idade (Iyama, Wilson, 2013).

Figura 2 - Mecanismos de danos ao DNA.

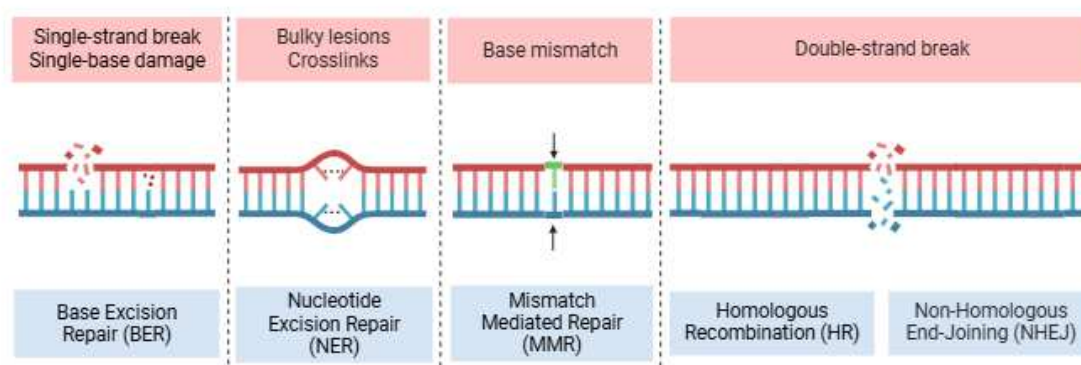


Fonte: Criado com BioRender.com

Entretanto, devido às várias fontes de danos ao DNA, existem mecanismos com sistemas complexos e robustos presentes nas células que funcionam em conjunto para reduzir as conseqüências dos danos ao DNA (Figura 3) (Chatterjee, Walker, 2017). A maioria dos danos ao DNA podem ser divididos como quebra de fita simples do inglês *single strand breaks* (SSBs) ou quebras de fita dupla do inglês *double-strand breaks* (DSBs), onde cada uma apresenta seus próprios mecanismos de reparo. As DSBs são reparadas por meio de junção de extremidade não homóloga do inglês *non-homologous end joining* (NHEJ) ou recombinação homóloga (RH). As SSBs são corrigidas por reparo de quebra de fita simples (SSBR). As SSBs

que aparecem como intermediários de reparo são verificadas por meio de reparo de mapeamento do inglês *mismatch repair* (MMR) para incompatibilidades de bases durante a replicação e *loops* de inserção-deleção, reparo por excisão de nucleotídeos do inglês *nucleotide excision repair* (NER) para remoção de lesões volumosas ou reparo por excisão de base do inglês *base excision repair* (BER) para danos de base que parecem ter efeitos mínimos (Chatterjee, Walker, 2017; Iyama, Wilson, 2013). Neste trabalho, daremos ênfase as vias BER e NER.

Figura 3 - Formas de danos ao DNA e respectivas vias que participam do seu reparo.



Fonte: Criado com BioRender.com.

1.6 REPARO POR EXCIÇÃO DE BASE

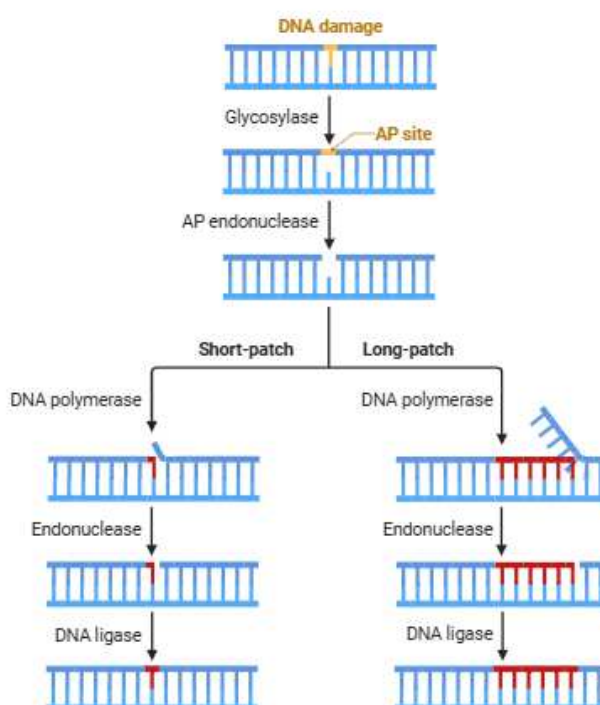
O BER corrige a maioria dos danos endógenos ao DNA, incluindo danos oxidativos, desaminação, alquilação e depurinações, chegando a aproximadamente 30.000 danos por célula humana a cada dia. A suposição existente é de que esta via opera principalmente durante a fase G1 do ciclo celular, mantendo a transcrição sem erros e preparando o DNA para a replicação removendo lesões da fita (Dianov, Hubscher, 2013). Compartilham proteínas-chave e seguem 5 etapas gerais: (1) uma glicosilase específica para dano detecta e excisa a base de DNA danificada, produzindo um sítio apurínico/apirimidinínico (AP), ou abásico; (2) uma endonuclease AP ou liase AP associada a glicosilase incisa o sítio AP criando um SSB; (3) repara as extremidades terminais da estrutura do açúcar usando uma liase ou uma fosfodiesterase; (4) uma DNA polimerase substitui a região ausente por DNA complementar e (5) a DNA ligase liga o DNA para remover cortes (Beard *et al.*, 2019; Kim, Wilson, 2013).

As glicosilases de DNA são frequentemente classificadas como monofuncionais ou bifuncionais com base no seu mecanismo catalítico e capacidade de executar atividade de clivagem de fita de AP liase (Krokan *et al.*, 1997; Mitra,

2001). As bifuncionais exercem atividade AP-liase e clivam ligações fosfodiéster no lado 3' do sítio AP por eliminação β ou no lado 3' e 5' por eliminação β/δ , criando um aldeído α/β insaturado na extremidade 3' da fita de DNA clivada e grupos fosfato nas extremidades 5' e 3', respectivamente. As glicosilases de DNA monofuncionais precisam da assistência de AP-endonucleases que hidrolisam a ligação fosfodiéster na extremidade 5' do sítio AP, produzindo SSB com a extremidade 5' contendo desoxirribose sem base (5'dRP) e o grupo hidroxila 3' (Tudek, 2007).

Após a incisão do DNA, a BER pode ser continuada em duas vias alternativas. Estas sub vias são denominadas de BER de nucleotídeo único do inglês *single-nucleotide BER* (SN-BER) e BER de via longa do inglês *long-patch BER* (LP-BER) (Figura 4) (Prasad *et al.*, 2010). Durante a SN-BER em mamíferos, apenas um nucleotídeo ausente é incorporado pela DNA polimerase β (pol β), que também tem a atividade dRPase 5' e pode remover o açúcar sem base na extremidade 5' da quebra do DNA. Na LP-BER, um fragmento mais longo variando de 2 a 12 nucleotídeos é excisado e resintetizado e foi estabelecido que nesta subvia o primeiro nucleotídeo é incorporado pela pol β , enquanto os próximos são pelas DNA polimerases δ ou ϵ . O LP-BER também demanda de outras proteínas auxiliares como o antígeno nuclear de proliferação celular e a proteína de replicação C (Fortini *et al.*, 2003).

Figura 4 - Via de reparo por excisão de nucleotídeos (BER) e subvias SN-BER e LP-BER.



Fonte: Criado com BioRender.com

1.7 POLI (ADP-RIBOSE)POLIMERASE 1

Um dos primeiros eventos na resposta a danos no DNA (DDR) é o recrutamento da poli(ADP-ribose) polimerase 1 (PARP1) para diversos tipos de lesões ao DNA. A PARP1 é uma proteína nuclear que, pós tradução, anexa um polímero carregado negativamente chamado poli(ADP)ribose (PAR) a si mesma e a várias proteínas-alvo. Essa atividade é denominada poli(ADP) ribosilação (PARilação), cooperando para a grande parte das funções conhecidas da PARP1 no reparo do DNA, incluindo o SSBs, estabilização de forquilhas de replicação do DNA e na mudança da estrutura da cromatina (Chaudhuri, Nussenzweig, 2017). Ademais, a PARP1 também está envolvida na transcrição genética e apoptose das células (Kim *et al.*, 2005; Yu *et al.*, 2002). A PARP1 demonstrou influenciar o reparo do DNA por meio de múltiplas vias, incluindo BER, HR, NER, NHEJ e MMR, tendo como substrato a adenina dinucleotídeo (NAD⁺) (Javle, Curtin, 2011).

A PARP1 foi a primeira da família PARP a ser identificada, que agora compreende 18 membros diferentes (Amé *et al.*, 2004). Esta enzima é multifuncional e altamente conservada encontrada em eucariotos. Sua estrutura foi caracterizada e consiste em 3 domínios principais: um domínio de ligação ao DNA amino-terminal (DBD), um domínio de auto modificação central contendo um C-terminal de BRCA1 (BRCT) e um domínio catalítico carboxi-terminal altamente conservado (Kraus, Lis, 2003). Sua atividade catalítica ocorre após a indução de vários tipos de danos ao DNA, resultando na síntese de cadeias PAR em si mesma e em proteínas histonas e não histonas (Gagné *et al.*, 2008; Isabelle *et al.*, 2010; Jungmichel *et al.*, 2013). Proteínas envolvidas no DDR e no metabolismo do DNA podem se ligar ao PAR em proteínas PARP por meio de interações não covalentes, resultando em seu recrutamento para locais de dano ao DNA (Krietsch *et al.*, 2012).

O gene *PARP1* está localizado no cromossomo 1q41-q42, abrangendo 47,3 kb de comprimento e contendo 23 éxons, é responsável por codificar uma proteína de ligação ao DNA -113KDa – poli(ADP ribosil)transferase que pode modificar várias proteínas nucleares por poli(ADP-ribosil)ação (Wood *et al.*, 2001). Variações em genes de reparo ao DNA podem modular a capacidade de ajuste destas vias, resultando em um acúmulo dessas anormalidades, levando à morte celular programada ou crescimento celular desregulado e conseqüentemente ao câncer

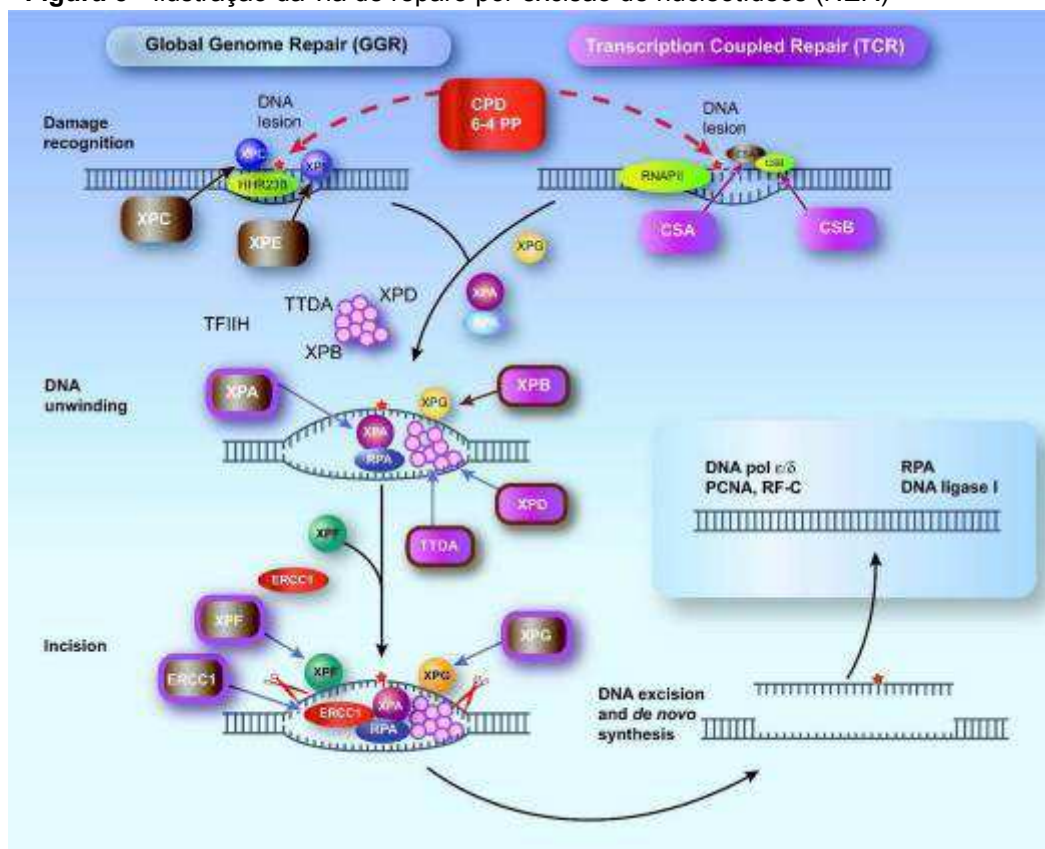
(Locket *et al.*, 2004; Hua *et al.*, 2014). Sabe-se que existem inúmeros polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) descritos no *PARP1*, incluindo 20 polimorfismos de nucleotídeo único de região codificadora (cSNPs). Entre os SNPs deste gene, um dos mais investigados é o rs1136410 (Val762Ala) localizado na sexta hélice do domínio catalítico no éxon 17 (Hua *et al.*, 2014).

Alguns autores sugerem que este SNP pode estar relacionado à alteração funcional da proteína PARP1 e sua atividade enzimática, o que poderia levar a uma diminuição significativa na ação da poli(ADP-ribosil), entretanto, os mesmos autores falam sobre a necessidade de mais estudos para estabelecer de fato uma conclusão sobre o efeito do polimorfismo (Locket *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2007). Até o momento, diversas pesquisas procuraram a associação do rs1136410 e o risco de diferentes neoplasias como câncer de mama, câncer colorretal, glioma em adultos e linfoma não-Hodgkin, porém diversos resultados foram inconsistentes ou discrepantes, principalmente devido ao tamanho amostral pequeno ou pela variedade de grupos étnicos (Cao *et al.*, 2007; Liu *et al.*, 2009; McKwan-Cowdin *et al.*, 2009; Shen *et al.*, 2006; Stern *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2006).

1.8 REPARO POR EXCISÃO DE NUCLEOTÍDEOS

O NER é uma via de reparo de danos ao DNA altamente versátil, que é capaz de remover lesões volumosas de DNA decorrentes da exposição à luz solar, metabólitos endógenos e várias toxinas ambientais (Gillet, Scharer, 2006). O NER atua de duas maneiras diferentes com base no reconhecimento do dano em eucariotos: reparo acoplado à transcrição (TCR-NER) e reparo global do genoma (GGR-NER) (Figura 5). O mecanismo GGR remove lesões em qualquer parte do genoma, enquanto o TCR remove especificamente lesões da fita que está sendo transcrita (Aleskeev, Coin, 2015). Sabe-se que a deficiência desta via resulta em uma série de síndromes humanas autossômicas recessivas como: Xeroderma Pigmentoso (XP) que está ligado a uma predisposição a cânceres de pele; síndrome de Cockayne (CS); síndrome rara de sensibilidade a UV; e uma forma fotossensível de tricotiodistrofia (TTD) (Vermeulen, Fouteri, 2013). A resposta NER envolve 5 etapas principais: 1) reconhecimento do dano; 2) incisão em ambos os lados da lesão, 3) remoção do fragmento de oligonucleotídeo contendo o dano; 4) síntese e preenchimento de lacunas para restaurar um DNA livre de danos e 5) ligação para selar o corte restante (Fagbemi *et al.*, 2011).

Figura 5 - Ilustração da via de reparo por excisão de nucleotídeos (NER)



Fonte: Adaptado de Steeg, Kraemer (1999) e Kraemer, 2008. **Legenda:** **GGR:** reparo genômico global. **TCR:** reparo acoplado à transcrição. **CPD:** dímeros de pirimidina ciclobutano. **6-4 PP:** fotoprodutos de ultravioleta. **XPC:** grupo C de complementação do xeroderma pigmentoso. **HHR23B:** homólogo humano da proteína Rad23 de levedura. **XPE:** grupo E de complementação do xeroderma pigmentoso, também conhecido como DDB2. **RNAP II:** RNA polimerase II. **CSA:** proteína codificada pelo *ERCC8*, um fator de remodelação da cromatina. **CSB:** proteína codificada pelo *ERCC6*, um fator de remodelação da cromatina. **TFIIH:** fator de transcrição II H. **XPB:** helicase do TFIIH, também conhecido como ERCC3. **XPD:** helicase do TFIIH, também conhecido como ERCC2. **XPG:** endonuclease, também conhecida como ERCC5. **XPF:** endonuclease, também conhecida como ERCC4. **RPA:** proteína de replicação A. **TTDA:** proteína do grupo A da tricotodistrofia. **ERCC1:** grupo 1 de complementação cruzada do reparo por excisão.

No GGR-NER, o principal sensor de dano ao DNA é uma proteína denominada grupo de complementação C do Xeroderma Pigmentoso (XPC), complexada com a proteína de reparo de excisão UV Radiation sensitive 23B (RAD23B) e a Centrin 2 (CETN2). Este complexo verifica a presença de DNA fita simples transitório (ssDNA) causado por pareamento de bases interrompido devido à lesão (Nish *et al.*, 2005). Para o reparo dos dímeros de pirimidina ciclobutano (CPDs) induzidos por UV, o complexo de proteína de ligação a danos ao DNA danificado por ultravioleta (UV-DDB), consistindo de DDB1 (fator de ligação à proteína do grupo de complementação E do xeroderma pigmentoso) e a proteína DDB2 específica de GG-NER, liga-se diretamente às lesões induzidas por radiação

UV e então estimula a ligação de XPC (Scrima *et al.*, 2008; Wakasugi *et al.*, 2002). A XPC ligado à lesão se torna um substrato para o complexo do fator de transcrição II H (TFIIH), um fator de iniciação e reparo da transcrição composto por 10 subunidades de proteínas que podem alternar funções tanto na iniciação da transcrição quanto no NER (Yokoi *et al.*, 2000). A etapa final da excisão dupla e preenchimento de lacunas é coordenada para evitar a formação de lacunas do ssDNA que pode potencialmente desencadear a sinalização de resposta a danos no DNA (DDR) (Marini *et al.*, 2006, Marti *et al.*, 2006).

A segunda via NER, TC-NER, é iniciada por uma RNA polimerase II paralisada por lesão, que começa com o recrutamento de proteínas específicas de TC-NER, a proteína A de repetição WD da CS (CSA) também conhecida como ERCC8, e a proteína B da CS (CSB) também conhecida como ERCC6, que são essenciais para a montagem adicional de outros componentes de TC-NER (Fousteri *et al.*, 2021). Tirando os complexos UV-DDB e XPC que são específicos de GG-NER, esta via inclui os principais fatores NER e proteínas específicas, como a proteína A de andaime estimulada por UV (UVSSA), a protease 7 de processamento específico de ubiquitina (USP7), a proteína 2 de ligação a XPA (XAB2) e a proteína 1 contendo domínio de ligação ao nucleossomo do grupo de alta mobilidade (HMG1) (Schwertman *et al.*, 2012). Uma vez no local da lesão, o complexo CSA-CSB retrocede (ou transloca reversamente) a RNA polimerase II, expondo o local da lesão, então o TFIIH é recrutado. A sequência subsequente de eventos é prevista como a mesma que em GG-NER, pois a lesão é removida da fita transcrita (Marteijn *et al.*, 2014).

1.9 GRUPO DE COMPLEMENTAÇÃO C DO XERODERMA PIGMENTOSO e GRUPO DE COMPLEMENTAÇÃO A DO XERODERMA PIGMENTOSO

A XPC é essencial para o GG-NER, servindo como o principal fator de iniciação. Essa proteína varre o genoma em uma direcionalidade de 5' para 3' até detectar a distorção de fita causada por lesões que danificam o DNA, ligando a fita oposta de uma maneira independente de sequência (Shell *et al.*, 2013; Sugasawa *et al.*, 2009). Para atuar no GG-NER, a XPC adjunto do homólogo humano da proteína Rad23 de levedura (HR23B) formam um heterodímero que estimula ainda mais o papel de XPC no reparo de NER (Krasikova *et al.*, 2012). A centrin 2 (CETN2) forma um heterotrímero com XPC/HR23B, que aumenta a ligação a locais de dano ao DNA

(Renaud *et al.*, 2011). A XPC atua no reconhecimento de dano inicial no GG-NER, se ligando às lesões antes dos outros fatores NER principais (Riedl *et al.*, 2003). Na literatura encontram-se hipóteses de que o XPC complexada com o HR23B, liga-se inicialmente ao DNA de forma inespecífica e depois procura a presença de dano ao DNA, circundando a fita de DNA não danificada e detectando estruturas de fitas simples induzidas pela lesão sem interagir diretamente com a lesão (Min, Pavletich, 2007). Estudos anteriores descobriram que a expressão anormal da proteína XPC está associada à progressão do câncer (Dai *et al.*, 2019; Hua *et al.*, 2016).

O gene *XPC*, codifica uma proteína de 940 aminoácidos, abrange 33kb no cromossomo 3p25 e contém 16 exons e 15 íntrons. Existem 3 SNPs mais comuns do *XPC*, onde o rs2228000 é um deles. Localizado no exon 9, a variação resulta na substituição da timina para uma citosina na posição 499 na região 5' do intron, e ao mesmo tempo o aminoácido alanina é substituído por valina (Das *et al.*, 2021). Esta variante foi estudada em diversos tipos de neoplasias em indivíduos adultos como câncer de próstata, câncer de mama, câncer colorretal, entre outros, mas pouco se sabe sobre sua associação ou correlação com parâmetros clinicopatológicos de crianças com TNPs (Dai *et al.*, 2019). Ademais, não é possível estabelecer com certeza a implicação desta variante na função da proteína XPC, porém, alguns autores sugerem que o rs2228000 no *XPC* podem ter um efeito significativo na função da proteína, onde indivíduos que apresentam o genótipo homozigoto mutado A/A podem ter a capacidade de reparo da XPC reduzida em cerca de 50% (Khan *et al.*, 2002; Yasuda *et al.*, 2007).

Outra proteína chave no NER é a XPA, esta serve para a verificação de danos ao DNA e no recrutamento de outras proteínas desta via. A XPA humana consiste em 31 kDA e 273 aminoácidos que é encontrada principalmente como um homodímero (Yang *et al.*, 2002). Esta proteína apresenta-se em 3 domínios separados, onde um domínio é globular central e os outros dois N e C-terminais com a dinâmica desordenada ou mal estruturada, o que fornece uma flexibilidade importante para a sua interação com diferentes moléculas (Kuraoka *et al.*, 1996).

A interação primária da XPA ocorre com a proteína de ligação de DNA de fita simples ou proteína de replicação A (RPA) (Lee *et al.*, 1995). Após a irradiação UV, a XPA e RPA são recrutados para o local do dano por meio de interações com XPC e pelo TFIIH e, uma vez montados, formam um complexo compacto que permanece associado ao local do dano durante todo o processamento (Park, Choi, 2006; Riedl

et al., 2003). É conhecido que a XPA se liga ao DNA e a uma série de outras proteínas da NER, sugerindo que ela serve como um andaime para a complexa maquinaria multiproteica desta via (Camenisch, Nageli, 2008; Shell, Zou, 2008).

Esta proteína é vista como única e essencial, pois remove todas as lesões de DNA reparadas por NER, incluindo aquelas induzidas por muitos regimes de quimioterapia, como por exemplo a cisplatina (Feldes, Bonatto, 2015; Rabik, Dolan, 2007). Desta forma, a XPA é uma candidata atraente para a terapia direcionada ao câncer, onde essas moléculas em combinação com cisplatina podem representar uma nova estratégia para melhorar os resultados do tratamento, especialmente em tumores resistentes a CDDP (Pulzová *et al.*, 2020).

O gene *XPA* está localizado no cromossomo 9p22.3, codificando uma proteína relativamente pequena de 273 resíduos sem atividade enzimática. Evidências de estudos indicam que mutações ou variações neste gene prejudicam a função normal do NER (States *et al.*, 1998). É possível encontrar na literatura estudos em populações étnicas distintas associando um SNP rs1800975 do *XPA* com o risco ou como um fator protetor para o câncer (Dziki *et al.*, 2017; Zienolddiny *et al.*, 2006). Este SNP está localizado na região 5' não codificadora (UTR) e está a 4 nucleotídeos a montante do códon de início, mas sua relevância funcional ainda precisa ser determinada (Ding *et al.*, 2011). Porém, sabe-se que polimorfismos nesta área proximal ao códon de início podem ter implicações para a ligação da subunidade ribossômica 40S e, como resultado, influenciar os níveis de proteína na célula (Kozak, 1987; Kozak, 1996).

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Investigar as associações de variantes em genes de via de reparo de danos ao DNA (*PARP1*, *XPC* e *XPA*) (rs1136410, rs1800975 e rs2228000) com marcadores clinicopatológicos em TNPs.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Contribuir com estudos epidemiológicos destas neoplasias no Estado do Paraná através da análise de dados sociodemográficos, curso clínico, fisiopatológicos, entre outros, dos pacientes elegíveis e inseridos neste estudo;
- Analisar as frequências genotípicas (rs1136410, rs1800975 e rs2228000) nos TNPs;
- Verificar se as variantes genéticas estudadas rs1136410, rs1800975 e rs2228000 estão correlacionadas ao prognóstico de pacientes com TNPs.

3. PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

“XPC and XPA Gene Polymorphisms Are Associated with Tumor Staging and Bone Marrow Infiltration in Pediatric Neuroblastoma Patients from Southern Brazil”

Abstract

Neuroblastoma is a heterogeneous pediatric cancer and a leading cause of cancer-related mortality in children under five years of age. Genetic polymorphisms in DNA repair pathway genes, such as *PARP1*, *XPC* and *XPA*, are hypothesized to influence neuroblastoma progression and prognosis by altering DNA repair efficiency. However, their role as prognostic markers remains unclear. **Objective:** To investigate the correlation between single nucleotide polymorphisms (SNPs) in *PARP1* (rs1136410), *XPC* (rs2228000), and *XPA* (rs1800975) genes and clinicopathological parameters in pediatric neuroblastoma patients from southern Brazil. **Methods:** A cross-sectional study was conducted with 70 pediatric patients diagnosed with neuroblastoma (NB), ganglioneuroblastoma (GNB), or ganglioneuroma (GN). Genomic DNA was extracted from peripheral blood and paraffin-embedded tissues. Genotyping for SNPs was performed using real-time polymerase chain reaction (qPCR) with TaqMan® probes. Clinicopathological data, including staging, histology, metastases, and survival, were retrieved from medical records. Associations were tested using Fisher's exact and chi-square tests ($p < 0.05$) in SPSS. **Results:** Among the 72 pediatric patients, 77.7% were diagnosed with neuroblastoma, and 22.3% with ganglioneuroblastoma (GNB) or ganglioneuroma (GN). Neuroblastoma cases were predominantly diagnosed at advanced stages (71.4% at Stage III or IV), while GNB/GN cases were more frequently localized (73.3%). A male predominance was observed in GNB/GN cases (67.7%), contrasting with the nearly equal gender distribution in neuroblastoma cases (50.0% male, 50.0% female). Age at diagnosis showed distinct patterns: neuroblastoma was more common in patients under 18 months (46.4%), while GNB/GN was primarily diagnosed in patients older than 18 months (100.0%). No significant correlations were identified between the SNP rs1136410, and clinicopathological parameters, including tumor staging, histology, extent of disease, metastases, bone marrow infiltration, relapse, or survival ($p > 0.05$). Significant results were observed for the *XPC* and *XPA* genes, both under the dominant genetic model. *XPC* was associated with increased risk (RR = 1.529, $p = 0.036$) in relation to tumor staging, while *XPA* conferred protection (RR = 0.324, $p = 0.037$) against bone marrow infiltration at diagnosis. No significant associations were identified for the *PARP1* gene polymorphism. Notably, a high percentage of unknown histological classifications (70.9% in neuroblastoma cases) and incomplete clinical data were limitations affecting the depth of the analysis. **Conclusions:** The SNPs in *PARP1*, *XPC*, and *XPA* genes investigated in this study do not appear to be independently associated with prognostic markers in pediatric neuroblastoma. These findings highlight the complexity of neuroblastoma biology and the limitations of individual genetic markers as predictors of disease behavior. Larger, multi-center studies with diverse populations are required to validate these results and explore potential gene-gene and gene-environment interactions.

KEYWORDS: DNA damage repair pathways, pediatric solid tumors, genetic polymorphisms

Neuroblastoma is the most common extracranial solid tumor in children and accounts for approximately 8% of pediatric cancer diagnoses, making it a significant cause of cancer-related mortality in children under five years old (1). This disease exhibits remarkable heterogeneity in clinical presentation, ranging from spontaneous regression (2) to highly aggressive and metastatic forms (3). Despite advances in cancer treatment, the prognosis for high-risk neuroblastoma remains poor, with survival rates below 40% (4). Identifying molecular markers that can predict disease behavior and improve treatment stratification is essential for optimizing clinical outcomes.

Genetic variations in DNA repair pathway genes have been implicated in cancer susceptibility and progression (5). DNA damage repair mechanisms, such as base excision repair (BER) and nucleotide excision repair (NER), are crucial for maintaining genomic stability (6). Deficiencies in these pathways can lead to the accumulation of DNA damage, promoting carcinogenesis (5). Key proteins such as poly (ADP-ribose) polymerase 1 (PARP1) (7) and xeroderma pigmentosum complementation groups C (XPC) (8) and A (XPA) (9) play vital roles in these repair processes. Polymorphisms in the genes encoding these proteins, including *PARP1* rs1136410, *XPC* rs2228000, and rs1800975, may alter repair efficiency and influence cancer risk and prognosis (6,10). However, their role in pediatric cancers such as neuroblastoma remains poorly understood. While previous studies have explored these genetic variants in various cancers (11-18), there is a scarcity of data linking them to neuroblastoma, particularly in pediatric populations. Additionally, most research has focused on populations outside South America, leaving a critical gap in understanding how these polymorphisms may behave in diverse genetic and environmental contexts, such as the Brazilian population. Investigating these variants in a regional cohort is essential for uncovering potential population-specific genetic associations and improving our understanding of neuroblastoma biology.

This study aimed to evaluate the correlation between the SNPs rs1136410, rs2228000, and rs1800975 and clinicopathological parameters in pediatric patients with neuroblastoma, ganglioneuroblastoma, and ganglioneuroma. By focusing on a southern Brazilian cohort, this research sought to determine whether these SNPs could serve as prognostic biomarkers and contribute to the broader understanding of neuroblastoma progression and heterogeneity. Filling this knowledge gap is critical for advancing personalized approaches to pediatric cancer management and

potentially improving outcomes for affected children.

Subjects and Methods

Study Design and Ethical Aspects

This is a cross-sectional study using convenience samples. This study was approved by the Ethics Committees on Research of the State University of Londrina (CAAE 59515722.70000.5231) and the Pontifical Catholic University of Paraná (CAAE 80073124.9.0000.0020). For all participants a code was assigned after their legal guardians signed the Informed Consent Form, and children aged 5 years or older provided assent by signing the Assent Form.

Institutions Involved, Sample Selection, and Characterization

Four mL of total peripheral blood was collected in tubes containing ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) from 15 patients, along with 20 paraffin blocks from patients diagnosed with NB, GNB, and GN, treated at the Pediatric Oncology Service of Hospital do Câncer de Londrina (HCL), Paraná. The invitation to participate in this project was extended to the patients' legal guardians during their clinical visits to the pediatric oncology service at HCL, with diagnoses provided by both the attending physician and the Pathology Laboratory of HCL. 37 paraffin blocks were collected from patients diagnosed with NB, GNB, and GN, treated at the Pediatric Oncology Service of Hospital Pequeno Príncipe (HPP) from Curitiba, Paraná. Clinical, epidemiological, and pathophysiological data were retrieved from the hospital records system, both online and in physical format (Table 1). Additionally, data collection took place from November 2023 to December 2024 at the respective hospitals. For the transportation of samples from Curitiba to Londrina, a thermal container made of styrofoam with dry ice was used to maintain the samples at an optimal temperature (approximately -80°C), ensuring their integrity for subsequent analyses.

Table 1 - Clinicopathological characteristics of the patients.

Parameters	Diagnosis	
	Neuroblastoma [n (%)]	Ganglioneuroblastoma Ganglioneuroma [n (%)]
Genre		
Male	28 (50.0)	10 (66.7)
Female	28 (50.0)	5 (33.3)
Staging		
I+II+IVS	11 (19.6)	7 (50.0)
III+IV	40 (71.4)	2 (14.3)
Unknown	5 (9.0)	5 (35.7)
Age at diagnosis		
<18months	26 (46.4)	0 (0)
>18months	29 (51.8)	15 (100.0)
Unknown	1 (1.8)	0 (0)
Death		
No	23 (41.1)	8 (53.3)
Yes	19 (33.9)	1 (6.7)
Unknown	14 (25.0)	6 (40.0)
Shimada classification		
Favorable	9 (16.1)	6 (40.0)
Unfavorable	8 (14.3)	1 (6.7)
Unknown	39 (69.6)	8 (53.3)
Histology		
Undifferentiated or poorly differentiated	37 (66.1)	1 (6.7)
Differentiated	2 (3.6)	3 (20.0)
Unknown	17 (60.4)	11 (73.3)
Extent of disease at diagnosis		
Localized	19 (33.9)	11 (73.3)
Disseminated	32 (57.1)	3 (20.0)
Unknown	5 (8.9)	1 (6.7)
Metastasis at diagnosis		
No	27 (48.2)	1 (6.7)
Yes	24 (42.9)	13 (86.7)
Unknown	5 (8.9)	1 (6.7)
Bone marrow infiltration at diagnosis		
No	41 (73.2)	15 (100.0)
Yes	11 (19.6)	0 (0)
Unknown	4 (7.1)	0 (0)
Bone marrow infiltration throughout the clinical course		
No	35 (62.5)	8 (53.3)
Yes	17 (30.4)	4 (26.7)
Unknown	4 (7.1)	3 (20.0)
Late metastasis		
No	30 (53.6)	12 (80.0)
Yes	21 (37.5)	2 (13.3)
Unknown	5 (8.9)	1 (6.7)
Relapse		
No	28 (50.0)	10 (66.7)
Yes	17 (30.4)	3 (20.0)
Unknown	11 (19.6)	2 (13.3)

Table 1 - Clinicopathological characteristics of the patients.

Parameters	Diagnosis	
	Neuroblastoma [n (%)]	Ganglioneuroblastoma Ganglioneuroma [n (%)]
Residual recurrence		
No	21 (37.5)	8 (53.3)
Yes	25 (44.6)	4 (26.7)
Unknown	10 (17.9)	3 (20.0)
Chemotherapy		
No	4 (7.1)	6 (40.0)
Yes	48 (85.7)	7 (46.7)
Unknown	4 (7.1)	2 (13.3)
Radiotherapy		
No	25 (44.6)	9 (60.0)
Yes	15 (26.8)	1 (6.7)
Unknown	16 (28.6)	5 (33.3)

Genomic DNA extraction

Genomic DNA extraction was performed using the *BIOPUR MINI SPIN PLUS extraction kit* (Biometrix Diagnóstica Ltda, Curitiba, Paraná, Brazil), which employs a column-based separation method, following the manufacturer's instructions with some modifications, such as using a buffy coat volume of 200 μ L from peripheral blood. For paraffin-embedded tissue samples, genomic DNA was extracted using the *innuPREP DNA Mini kit* (Analytik Jena, Jen, Germany), according to the manufacturer's specifications. The extracted material was stored at -80°C until further use. The quantification of extracted genomic DNA was performed using a NanoDrop 2000cTM spectrophotometer (ThermoScientific, Waltman, MA, USA) at 260 nm, and purity was assessed by the 260/280 nm ratio. The DNA concentration was standardized to 5 ng/ μ L in a final volume of 100 μ L for genotyping analyses.

Analysis of Single Nucleotide Polymorphisms in the *PARP1*, *XPA*, and *XPC* Genes

Polymorphisms in the *PARP1* (*rs1136410*), *XPA* (*rs1800975*), and *XPC* (*rs2228000*) genes were genotyped using quantitative polymerase chain reaction (qPCR) with TaqMan® probes. Validated assays were used for genotype determination (*rs1136410*: C__1515368_1_; *rs1800975*: C__482935_1_; *rs2228000*:

C__16018061_10). Genotyping reactions were performed using a final reaction volume containing 0.20 μ L of the TaqMan® SNP Genotyping Assay 40 \times (*Applied Biosystems, Foster City, CA, USA*), which includes two primers and two allele-specific TaqMan® MGB probes labeled with a 5' reporter fluorophore (VIC® or FAM®); 4.5 μ L of TaqPath ProAmp Master Mix (*Applied Biosystems, Foster City, CA, USA*); 0.8 μ L of ultrapure water; and 4.5 μ L of genomic DNA at a concentration of 5 ng/ μ L. Fluorescence levels were analyzed using the StepOne thermal cycler (*Applied Biosystems, Foster City, CA, USA*). The following thermal cycling conditions were: an initial activation at 95 °C for 10 min., followed by 40 cycles of 95 °C for 15 s of denaturation step at 95 °C and annealing/enzyme extension at 60 °C for 1 min.

Table 2 - Genetic variants studied, site of occurrence, global and Latin American prevalence, and their pathway.

Gene	Gene name	CAT number	Chr. bp	Alleles	Location	Global MAF	LA2 MAF	Pathway
<i>PARP1</i>	poly(ADP-ribose) polymerase 1	rs1136410	1q42.12	A>G	3'UTR	A=0.8349 G=0.1650	A=0.6252 G=0.3748	BER
<i>XPC</i>	XPC complex subunit, DNA damage recognition and repair factor	rs2228000	3p25.1	G>A	5'UTR	G=0.7580 A=0.2419	G=0.7697 A=0.2685	NER
<i>XPA</i>	XPA, DNA damage recognition and repair factor	rs1800975	9q22.33	T>C	5'UTR	T=0.3285 C=0.6714	T=0.3506 C=0.6494	NER

PARP1: poly(ADP-ribose)polymerase1; ***XPC***: xeroderma pigmentosum complementation group C; ***XPA***: xeroderma pigmentosum complementation group A; **A**: Adenine; **G**: Guanine; **T**: Thymine; **C**: Cytosine; **BER**: base excision repair; **NER**: nucleotide excision repair; **3'UTR**: 3' untranslated region; **5'UTR**: 5' untranslated region;

Statistical analysis

Pearson chi-square test (χ^2) was used to determine the Hardy–Weinberg (H-W) equilibrium and the differences in genotypes distribution. For statistical analysis, the data presented in Table 1 were used, all expressed as categorical variables. Association analyses involving polymorphisms in the *PARP1*, *XPA*, and *XPC* genes and clinicopathological parameters were conducted using *SPSS STATISTICS 20.0* (Inc., Chicago, IL, USA). The chi-square test and Fisher's exact test were applied ($p < 0.05$), along with the calculation of relative risks and 95%

confidence intervals. We first obtained the genotypic frequencies for each gene, and subsequently combined genotype models were constructed for statistical analysis. For the *XPA* and *XPC* SNPs, genotypic models of dominance (wild-type homozygous genotype vs mutated heterozygous + recessive homozygous), and recessiveness (recessive homozygous vs wild-type homozygous + mutated heterozygous) were evaluated. For the *PARP1* SNP, two genotypic models were analyzed, namely the dominant model and the overdominant model, in which the heterozygous genotype was compared to the combined wild-type and recessive homozygous genotypes.

Results

The majority of neuroblastoma cases were diagnosed before 18 months of age (46.4%), while GNB/GN affected patients older than 18 months of age (100.0%). This confirms the well-documented trend of age influencing tumor type and prognosis in NB, where younger patients tend to have better outcomes. Neuroblastoma patients had an almost equal gender distribution. However, GNB/GN cases showed a male predominance (66.7%), highlighting the potential sex-related differences in tumor biology and susceptibility. Most NB cases were diagnosed at advanced stages (Stage III and IV), while GNB/GN cases were often diagnosed at early stages (50.0% at Stage I and II). This reflects the more aggressive nature of NB compared to its less malignant counterparts. Moreover, NB was more frequently disseminated at diagnosis (57.1%) compared to GNB/GN, which was predominantly localized (73.3%), supporting the classification of NB as a highly aggressive and metastatic pediatric tumor.

Subsequently, a total of 66 individuals were genotyped for rs1136410, 51 individuals for rs2228000, and 67 individuals for rs1800975 (Table 3). For the statistical analysis of the *XPC* and *XPA* genes, genotype combinations were used to construct dominant and recessive genetic models. For the *PARP1* gene, only two genetic models were constructed: the dominant and overdominant models. This limitation was due to the fact that only one individual was identified with the homozygous mutated GG genotype, making it impossible to perform a more stratified statistical analysis for this group.

Table 3 - Frequency of each genotype of the *XPC* rs2228000, *XPA* rs1800975, and *PARP1* rs1136410 variants in the study population and Hardy-Weinberg equilibrium analysis.

Variants genetics	Genotype	n (%)
<i>XPC</i> rs2228000 G>A HWE=0.240	GG	36 (69.2)
	GA	13 (25.0)
	AA	3 (5.8)
<i>XPA</i> rs1800975 T>C HWE= 0.345	TT	11 (16.2)
	CT	28 (41.2)
	CC	29 (42.6)
<i>PARP1</i> rs113641 A>G HWE=0.727	AA	49 (73.1)
	GA	17 (25.4)
	AA	1 (1.5)

HWE: Hardy-Weinberg equilibrium analysis;

All clinicopathological parameters were statistically analyzed for the models of each genetic polymorphism, considering a significance level of $p < 0.05$. In the stratified analysis for the *XPC* gene (Table 4), a significant risk association was identified in the dominant model (GG vs GA+AA) in relation to tumor staging, with a RR (95% CI) of 1.529 (1.098–2.131) and $p = 0.036$. No significant associations were found for the other parameters (Table in supplementary material).

Table 4 - Association of clinicopathological features of patients diagnosed with NB, GNB, or GN with genotypic models of the *XPC* gene.

Parameters	XPC rs2228000 G>A					<i>p</i> -value [RR(CI95%)]
	Dominant model		Recessive model			
	GG (n)	GA+AA(n)		AA (n)	GG+GA (n)	
Diagnosis						
NB	25	12	0.343 [1.760 (0.413-7.506)]	2	35	0.627 [0.743 (0.062-8.901)]
GNB+GN	11	3		1	13	
RR (CI95%)	0.860 (0.604-1.224)	1.514 (0.501-4.572)		0.757 (0.074-1.703)	1.019 (0.864-1.201)	
Staging						
I+II+IVS	13	1	0.036* [0.119 (0.014-1.042)]	0	14	0.439
III+IV	17	11		2	26	
RR (CI95%)	1.529 (1.098-2.131)*	0.182 (0.026-1.127)		-	1.077 (0.972-1.193)	
Age at diagnosis						
<18months	12	5	0.831 [0.871 (0.245-3.092)]	0	17	0.287
>18months	23	11		3	31	
RR (CI95%)	1.043 (0.710-1.533)	0.909 (0.376-2.197)		-	1.097 (0.988-4.249)	

RR: relative risk; CI: confidence interval;

Furthermore, when analyzing the genetic models of the *XPA* gene with clinicopathological parameters, a significant association was found between the dominant model (TT vs. CT+CC) and individuals who developed bone marrow infiltration at the time of diagnosis, suggesting a protective genotype, with a RR (95% CI) of 0.324 (0.116–0.905) and $p = 0.037$. No significant associations were observed for the other parameters (Table in supplementary material).

Table 5 - Association of clinicopathological features of patients diagnosed with NB, GNB, or GN with genotypic models of the XPA gene.

Parameters	XPA rs1800975 T>C					
	Dominant model		<i>p</i> -value [RR(CI95%)]	Recessive model		<i>p</i> -value [RR(CI95%)]
	TT (n)	CT+CC (n)		CC (n)	CT+TT (n)	
Diagnosis						
NB	8	44		22	30	
GNB+GN	2	13	0.605 [0.846 (0.160-4.488)]	7	8	0.764 [0.838 (0.264-2.657)]
RR (CI95%)	1.154 (0.274-4.866)	0.976 (0.776-1.229)		0.907 (0.484-1.698)	1.082 (0.638-1.833)	
Age at diagnosis						
<18months	4	21		7	18	
>18months	7	35	0.613 [1.050 (0.274-4.019)]	22	20	0.051 [0.354 (0.122-1.023)]
RR (CI95%)	0.960 (0.312-2.955)	1.008 (0.810-1.254)		0.535 (0.268-1.067)	1.512 (1.013-2.257)	
Bone marrow infiltration at diagnosis						
Yes	4	6	0.037* [4.476 (1.005-19.935)]	3	7	0.492[2.011 (0.470-8.613)]
No	7	47		25	29	
RR (CI95%)	0.324 (0.116-0.905)*	1.451 (0.866-2.431)		1.543 (0.574-4.415)	0.767 (0.477-1.234)	

RR: relative risk; CI: confidence interval;

For rs1136410, the models were also analyzed in relation to the clinicopathological characteristics; however, the calculated results indicated no significant association between the variant models and the respective characteristics (Table in supplementary material)

Discussion

The observed gender disparity, with a male predominance in GNB/GN cases, raises questions about potential hormonal or genetic influences on tumor biology. This finding is consistent with some studies suggesting that sex-based differences in immune responses or genetic susceptibilities may play a role in pediatric cancers (19-21). Further research is needed to explore these potential mechanisms and their implications for diagnosis and treatment. The significant age differences between NB and GNB/GN patients reflect their distinct biological and clinical profiles. Younger age at diagnosis for NB correlates with MYCN amplification and rapid tumor progression, as described by London et al. (22).

On the other hand, the predominance of GNB/GN cases in patients older than 5 years suggests slower tumor evolution, which aligns with their more favorable prognosis. The clinical data presented here aligns with established literature on pediatric NB and its subtypes, providing valuable insights into their clinicopathological characteristics. The predominance of NB cases diagnosed at advanced stages and with disseminated disease underscores its aggressive nature. This reflects findings from large-scale studies, such as those by Maris et al. (1) and Matthay et al. (4), which highlight the poor prognosis associated with high-stage NB. In contrast, GNB/GN cases were predominantly diagnosed at early stages and were more often localized, consistent with their less malignant behavior.

Maintaining genomic integrity through DNA repair genes (23) is a fundamental aspect of normal cellular homeostasis, essential for proper cell growth, differentiation, and apoptosis (24). Growing evidence suggests that reduced DNA repair efficiency, often linked to polymorphisms in genes involved in repair pathways (25), may contribute to increased susceptibility to human solid tumors (15; 26). *XPC* is a key component of the nucleotide excision repair (NER) pathway, playing a crucial role in the recognition and initiation of global genome repair (27). Polymorphisms in the *XPC* gene may impair DNA repair capacity within the NER pathway, which is critical for preventing carcinogenesis (28). In this study, we found a significant association ($p = 0.036$) for *XPC* rs2228000 when applying the dominant model in relation to tumor staging. In contrast, a case-control study conducted in Chinese children with neuroblastoma by Zheng et al. (29) did not observe a significant association between genotype models and clinicopathological features. This discrepancy may be due to

ethnic differences or variations in sample size between the studies.

Although the GG genotype of *XPC* rs2228000 represents the wild-type allele—typically associated with normal protein function (30)—our results indicate that individuals with this genotype may have an increased risk of presenting with advanced tumor staging. This seemingly paradoxical finding may reflect the influence of rs2228000 on post-transcriptional regulatory mechanisms, such as altered mRNA stability or translational efficiency (31). Additionally, gene-environment interactions or the presence of other genetic modifiers could undermine DNA repair capacity, even among individuals carrying the wild-type genotype, thereby contributing to genomic instability and a more aggressive tumor phenotype.

The XPA gene encodes a crucial protein involved in the nucleotide excision repair (NER) pathway, responsible for repairing bulky DNA lesions caused by ultraviolet (UV) radiation and chemical carcinogens. These non-coding regions, commonly referred to as intronic regions, differ from coding regions in terms of typical length and nucleotide composition (32). 5' UTR introns are unusually long and can significantly increase the total number of transcribed bases for a given gene, directly influencing gene expression regulation (33). A significant association was found with the clinicopathological parameter in the dominant model when compared to bone marrow infiltration at diagnosis ($p < 0.037$). Studies on this polymorphism associated with the diagnosis of NB, both in case-control studies and in the stratified analysis of the group, have not shown significant association (34,35). This contrasts with the present study and may be justified by ethnic differences or number of patients.

Through this analysis, we found that individuals carrying the wild-type homozygous genotype TT exhibited protection (RR 95% CI 0.324, 0.116–0.905) against bone marrow infiltration by the disease at diagnosis. This finding suggests that individuals carrying the C allele may have reduced efficiency in the molecular machinery in which XPA is involved, potentially leading to decreased protein expression. Polymorphisms in the XPA gene could influence the expression levels or stability of the XPA protein, thereby impacting its functionality within the NER pathway (36). A reduction in DNA damage recognition and repair efficiency might result in the accumulation of genomic mutations, contributing to cancer initiation (37)

or progression in neuroblastoma cells. Specifically, the rs1800975 SNP is located in a critical region involved in the regulation of gene expression. Variations in this region could alter transcriptional efficiency, mRNA stability (38), or translation rates, leading to decreased expression of the XPA protein(39). Such changes may impair the cell's capacity to repair DNA lesions (40), promoting genomic instability and tumorigenesis (41).

An important limitation of the study is the high proportion of "unknown" histological classifications, particularly in neuroblastoma cases. This was primarily imposed by the absence of complete medical data for some patients in this retrospective cohort. Incomplete reporting of histological details limits the ability to perform robust prognostic assessments and undermines the application of classification systems, such as the International Neuroblastoma Pathology Classification (INPC) (42). Improving clinical data collection and documentation in future studies is crucial to address these gaps and enhance the quality of research and patient care.

The lack of correlation between this SNP (rs113641) and clinicopathological parameters like age at diagnosis, disease staging, and metastasis underscores the need for multi-gene and pathway-based approaches in understanding neuroblastoma. Cheng et al. (43), in a case-control study involving Chinese children diagnosed with neuroblastoma, also found no significant associations either in comparisons with controls or in the stratification of patients' clinicopathological parameters, which is consistent with our findings. Research by London et al. (22) and Maris et al. (1) suggests that NB outcomes are influenced by a combination of genetic amplifications (e.g., MYCN), tumor biology, and patient demographics, rather than single nucleotide variations alone. These findings reaffirm known trends in the clinicopathological characteristics of NB and its subtypes while highlighting significant challenges related to incomplete medical data and the need for better diagnostic precision.

Our findings suggest a potential role of the XPA rs1800975 polymorphism and XPC rs2228000 polymorphism in the clinical behavior of NB. The significant associations observed between these variants and bone marrow infiltration at diagnosis, as well as tumor staging, suggest that these genes may contribute to a better understanding of the pathophysiology of this disease. These results highlight the need for further studies to validate these associations in larger and more diverse

cohorts. Additionally, investigating gene-gene and gene-environment interactions could provide deeper insights into the molecular mechanisms underlying NB progression and potential prognostic biomarkers.

REFERENCE

- (1) Maris, J. M.; *et al.* A genome-wide association study identifies a susceptibility locus to clinically aggressive neuroblastoma at 6p22. N Engl J Med. v. 358, ed. 24, p. 2585-2593, 2007.
- (2) Beckwith, J. B.; Perrin, E. V. In Situ Neuroblastomas: a Contribution to the Natural History of Neural Crest Tumors. Am J Pathol. v. 43, ed. 6, p. 1089-1104, 1963.
- (3) Cheung, N-K. V.; Dyer, M. A. Neuroblastoma: Developmental Biology, Cancer Genomics, and Immunotherapy. Nat Ver Cancer. v. 13, ed. 6, p. 397-411, 2013.
- (4) Matthay, K. K., Maris, J. M., Schleiermacher, G., Nakagawara, A., Mackall, C. L., Diller, L., & Weiss, W. A. (2016). Neuroblastoma. Nature Reviews Disease Primers, 2(16078). <https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.78>
- (5) Iyama, T.; Wilson, D. M.; DNA repair mechanisms in dividing and non-dividing cells. DNA Repair (Amst). v. 12, ed. 8, p. 620-636, 2013.
- (6) Chatterjee, N.; Walker, G. C.; Mechanisms of DNA damage, repair and mutagenesis. Environ Mol Mutagen. v. 58, ed. 5, p. 235-263, 2017.
- (7) Amé, J-C.; Spenlehauer, C.; Murcia, G. The PARP superfamily. Bioessays. v. 26, ed. 8, p. 882-893, 2004.
- (8) Nish, R.; *et al.* Centrin 2 Stimulates Nucleotide Excision Repair by Interacting with Xeroderma Pigmentosum Group C Protein. Mol Cell Biol. v. 25, ed. 13, p. 5664-5674, 2005.
- (9) Yang, Z-G.; Mao, L. Y.; Zou, Y.; Liu, Y.; ZHANG, J-T. Dimerization of Human XPA and formation of XPA2-RPA Protein Complex. Biochemistry. v. 41, ed. 43, p. 13012-13020, 2002.
- (10) Hua, R-X.; *et al.* Association between the PARP1 Val762Ala Polymorphism and Cancer Risk: Evidence from 43 Studies. PLoS One. V. 9, ed. 1, e. 87057, 2014.
- (11) Cao, W-H.; *et al.* Analysis of genetic variants of the poly(ADP-ribose)polymerase-1 gene in breast cancer in French patients. Mutat Res. v. 632, ed. 1-2, p. 20-28, 2007.
- (12) Liu, Y.; *et al.* Association and Interactions between DNA Repair Gene Polymorphisms and Adult Glioma. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. v. 18, ed. 1, p. 204-214, 2009.
- (13) Shen, M.; *et al.* Polymorphisms in DNA repair genes and risk of non-Hodgkin lymphoma among women in Connecticut. Hum Genet. v. 119, ed. 6, p. 659-668, 2006.
- (14) Stern, M. C.; Conti, D. V.; Siegmund, K. D.; Corral, R.; Yuan, J-M.; Koh, W-P.; Yu, M. C. DNA repair single-nucleotide polymorphisms in colorectal cancer and their role as modifiers of the effect of cigarette smoking and alcohol in the Singapore Chinese Health Study. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. v. 16, ed. 11, p. 2363-2372, 2007.
- (15) Zhang, Y.; *et al.* Genetic polymorphisms in base-excision repair pathway genes and risk of breast cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. v. 15, ed. 2, p. 353-358. 2006.
- (16) Dai, Y.; Song, Z.; Zhang, J.; Gao, W. Comprehensive assessment of the association between XPC rs2228000 and cancer susceptibility based on 26835 cancer cases and 37069 controls. Biosci Rep. v. 39, ed. 12, bsr20192452, 2019.

- (17) Dziki, L.; Dziki, A.; Mik, M.; Majsterek, I.; Kabzinski, J. Modulation of Colorectal Cancer Risk by Polymorphisms in 51Gln/His, 64Ile/Val, and 148Asp/Glu of APEX Gene; 23Gly/Ala of XPA Gene; and 689Ser/Arg of ERCC4 Gene. Gastroenterol Res Pract. v. 2017, p. 3840243, 2017.
- (18) Zienolddiny, S.; *et al.* Polymorphisms of DNA repair genes and risk non-small cell lung cancer. Carcinogenesis. v. 27, ed. 3, p. 560-567, 2006.
- (19) Zhenqiu Liu, Qin Yang, Ning Cai, Li Jin, Tiejun Zhang, Xingdong Chen, Enigmatic Differences by Sex in Cancer Incidence: Evidence From Childhood Cancers, American Journal of Epidemiology, Volume 188, Issue 6, June 2019, Pages 1130–1135, <https://doi.org/10.1093/aje/kwz058>
- (20) Williams LA, Richardson M, Kehm RD, McLaughlin CC, Mueller BA, Chow EJ, Spector LG. The association between sex and most childhood cancers is not mediated by birthweight. Cancer Epidemiol. 2018 Dec;57:7-12. doi: 10.1016/j.canep.2018.09.002. Epub 2018 Sep 21. PMID: 30248472; PMCID: PMC6289597
- (21) Mills LJ, Spector LG, Largaespada DA, Williams LA. Sex differences in expression of immune elements emerge in children, young adults and mice with osteosarcoma. Biol Sex Differ. 2021 Jan 6;12(1):5. doi: 10.1186/s13293-020-00347-y. PMID: 33407928; PMCID: PMC7789366.
- (22) London, W. B., Castleberry, R. P., Matthay, K. K., Look, A. T., Seeger, R. C., Shimada, H., Thorner, P., Brodeur, G. M., Maris, J. M., Reynolds, C. P., & Cohn, S. L. (2005). Evidence for an age cutoff greater than 365 days for neuroblastoma risk group stratification in the Children's Oncology Group. Journal of Clinical Oncology, 23(27), 6459-6465. <https://doi.org/10.1200/JCO.2005.05.571>
- (23) Wood, R. D.; Mitchell, M.; Sgouros, J.; Lindahl, T.; Human DNA repair Genes. Science. v. 291, ed. 5507, p. 1284-1289, 2001.
- (24) Hoeijmakers, J. H. Genome maintenance mechanisms for preventing cancer. Nature. v. 411, ed. 6835, p. 366-374, 2001.
- (25) Cheng, D.; *et al.* RAD51 Gene 135G/C polymorphism and the risk of four types of common cancers: a meta-analysis. Diagn Pathol. v. 9, ed. 18, 2014.
- (26) Garcia-Closas, M.; *et al.* Genetic Variation in the Nucleotide Excision Repair Pathway and Bladder Cancer Risk. Can Epid Biomark Prev. v. 15, ed. 3, p. 536-542, 2006.
- (27) Thoma, B. S.; Vasquez, K. M. Critical DNA damage recognition functions of XPC-hHR23B and XPA-RPA in nucleotide excision repair. Mol Carc. v. 38, ed. 1, p. 1-13, 2003.
- (28) Goode, E. L.; Ulrich, C. M.; Potter, J. D. Polymorphisms in DNA Repair Genes and Associations with Cancer Risk. v. 11, ed. 12, p. 1513-1530, 2002.
- (29) Zheng, J.; *et al.* Lack Associations between XPC gene polymorphism and Neuroblastoma Susceptibility in a Chinese Population. Biomed Res Int. v. 2016, p.2932049, 2016.
- (30) He, J.; *et al.* Associations of Lys939Gln and Ala499Val polymorphism of the XPC gene with cancer susceptibility: A meta-analysis. Int J of Can. v. 133, ed. 8, p. 1765-1775, 2013.
- (31) Cenik, C.; *et al.* Genome Analysis Reveals Interplay between 5'UTR Introns and Nuclear mRNA Export for Secretory and Mitochondrial Genes. PLoS Genet. v. 7, ed. 4, e. 1001366, 2011.
- (32) Cenik, C.; Derti, A.; Mellor, J. C.; Berriz, G. F.; Roth, F. P. Genome-wide functional analysis of human 5' untranslated region introns. Genome Biol. v. 11, ed. 3, r.29, 2010.

- (33) Cenik, C.; et al. Genome Analysis Reveals Interplay between 5'UTR Introns and Nuclear mRNA Export for Secretory and Mitochondrial Genes. PLoS Genet. v. 7, ed. 4, e. 1001366, 2011.
- (34) Tao, J.; et al. XPA gene polymorphisms and risk of neuroblastoma in Chinese children: a two-center case-control study. J Cancer. v. 9, ed. 15, p. 2751-2756, 2018.
- (35) Zhou, C.; et al. Association between NER pathway gene polymorphisms and neuroblastoma risk in an eastern Chinese population. Mol Ther Oncolytics. v. 20, p. 3-11, 2020.
- (36) States, J. C.; Mcduffie, E. R.; Myrand, S. P.; Mcdowell, M.; Cleaver, J. E. Distribution of mutations in the human xeroderma pigmentosum group A gene and their relationships to the functional regions of the DNA damage recognition protein. Hum Mutat. v. 12, ed. 2, p. 103-113, 1998. v
- (37) Gotea, V.; et al. The functional relevance of somatic synonymous mutations in melanoma and other cancers. Pigment Cell Melanoma Res. v. 28, ed. 6, p. 673-684, 2016.
- (38) Cartengi, L.; Chew, S. L.; Krainer, A. R. Listening to silence and understanding nonsense: exonic mutations that affect splicing. Nature. v. 3, p. 285-298, 2002.
- (39) Karakostis, K.; et al. A single synonymous mutation determines the phosphorylation and stability of the nascent protein. J Mol Cell Biol. v. 11, ed. 3, p. 187-199, 2018.
- (40) Wu, S.; Mischel, P. S.; Same Script, Different Cast: Different Cell Origins Shape Molecular Features and Therapeutic Response in Glioblastoma. Cancer Cell. v. 38, ed. 3, p. 311-313, 2020.
- (41) Li, Y.; Li, J.; Zhou, T.; Pan, G.; Huang, K. Generation of PARP1 gene knockout human embryonic stem cell line using CRISPR/Cas9. Stem Cell Res. v. 53, p. 102288, 2021.
- (42) Shimada, H., Ambros, I.M., Dehner, L.P., Hata, J.-i., Joshi, V.V., Roald, B., Stram, D.O., Gerbing, R.B., Lukens, J.N., Matthay, K.K. and Castleberry, R.P. (1999), The International Neuroblastoma Pathology Classification (the Shimada system). Cancer, 86: 364-372.
[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0142\(19990715\)86:2<364::AID-CNCR21>3.0.CO;2-7](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0142(19990715)86:2<364::AID-CNCR21>3.0.CO;2-7)
- (43) Cheng, J., Zhuo, Z., Xin, Y., & He, J. (2019). PARP1 gene polymorphisms and neuroblastoma susceptibility in Chinese children. Journal of Cancer, 10(18), 4159-4164. <https://doi.org/10.7150/jca.31525>

Table 3 - Association of clinicopathological features of patients diagnosed with NB, GNB, or GN with genotypic models of the *XPC* gene.

Parameters	XPC rs2228000 G>A					
	Dominant model			Recessive model		
	GG (n)	GA+AA(n)	<i>p</i> -value [RR(CI95%)]	AA (n)	GG+GA (n)	<i>p</i> -value [RR(CI95%)]
Genre						
Male	17	7	0.529 [0.869 (0.266-2.843)]	2	22	0.590 [2.455 (0.209-28.89)]
Female	19	9		1	27	
RR (CI95%)	1.044 (0.727-1.499)	0.907 (0.389-2.068)		2.333 (0.225-24.168)	0.951 (0.826-1.094)	
Death						
No	19	7	0.685 [0.737 (0.168-3.238)]	0	26	0.094
Yes	8	4		2	10	
RR (CI95%)	1.096 (0.690-1.742)	0.808 (0.291-2.241)		-	1.200 (0.932-1.546)	
Shimada classification						
Favorable	9	4	0.664 [1.111 90.148-8.367]]	1	12	0.589 [0.50 (0.026-9.945)]
Unfavorable	5	2		1	6	
RR (CI95%)	0.969 (0.536-1.753)	1.077 (0.258-4.487)		0.538 (0.039-7.360)	1.077 (0.766-1.514)	
Histology						
Undifferentiated or poorly differentiated	19	9	0.632[1.421 (0.129-15.635)]	2	26	0.762
Differentiated	3	1		0	4	
RR (CI95%)	0.905 (0.468-1.683)	1.286 (0.217-7.629)		-	0.929 (0.838-1.029)	
Extent of disease at diagnosis						
Localized	17	9	0.838 [1.134 (0.339-3.794)]	2	24	0.564 [1.75 (0.148-20.70)]
Disseminated	15	7		1	21	
RR (CI95%)	0.959 (0.643-1.430)	1.088 (0.485-2.441)		1.692 (0.164-17.434)	0.967 (0.838-1.116)	
Metastasis at diagnosis						
No	23	8	0.135 [0.391 (0.112-1.361)]	2	29	0.717 [1.10 (0.093-13.13)]
Yes	9	8		1	16	
RR (CI95%)	1.401 (0.855-2.297)	0.548 (0.251-1.198)		1.097 (0.107-11.232)	0.994 (0.855-1.155)	
Bone marrow infiltration at diagnosis						
No	31	12	0.136 [0.290 (0.056-1.495)]	2	41	0.370 [0.29 (0.023-3.744)]
Yes	3	4		1	6	
RR (CI95%)	1.682 (0.701-4.037)	0.488 (0.219-1.089)		0.326 (0.034-3.131)	1.112 (0.816-1.516)	
Bone marrow infiltration throughout the clinical course						
No	27	11	0.304 [0.489 (0.123-1.940)]	2	36	0.542 [0.55 (0.046-6.772)]
Yes	6	5		1	10	
RR (CI95%)	1.303 (0.732-2.318)	0.637 (0.281-1.441)		0.579 (0.058-5.802)	1.042 (0.852-1.275)	

RR: relative risk; CI: confidence interval;

Table 3 - Association of clinicopathological features of patients diagnosed with NB, GNB, or GN with genotypic models of the *XPC* gene.

Parameters	XPC rs2228000 G>A					
	Dominant model			Recessive model		
	GG (n)	GA+AA(n)	<i>p</i> -value [RR(CI95%)]	AA (n)	GG+GA (n)	<i>p</i> -value [RR(CI95%)]
Late metastasis						
No	23	10	0.834 [0.870 (0.236-3.207)]	1	32	0.227 [0.203 (0.017-2.439)]
Yes	10	5		2	13	
RR (CI95%)	1.045 (0.685-1.595)	0.909 (0.376-2.199)		0.227 (0.022-2.316)	1.119 (0.909-1.377)	
Relapse						
No	22	8	0.210 [0.424 (0.109-1.649)]	2	28	0.671 [0.851 (0.071-10.39)]
Yes	7	6		1	12	
RR (CI95%)	1.362 (0.788-2.355)	0.578 (0.251-1.331)		0.867 (0.086-8.736)	1.011 (0.841-1.215)	
Residual recurrence						
No	17	7	0.864 [0.892 (0.241-3.299)]	2	22	0.589 [1.63 (0.137-19.540)]
Yes	13	6		1	18	
RR (CI95%)	1.035 (0.695-1.543)	0.924 (0.372-2.293)		1.583 (0.155-16.172)	0.968 (0.824-1.136)	
Chemotherapy						
No	7	3	0.603 [0.893 (0.196-4.072)]	1	9	0.521 [1.94 (0.158-23.920)]
Yes	25	12		2	35	
RR (CI95%)	1.036 (0.652-1.646)	0.925 (0.322-2.656)		1.850 (0.186-18.389)	0.951 (0.763-1.186)	
Radiotherapy						
No	19	7	0.098 [0.316 (0.078-1.271)]	2	24	0.716 [1.00 (0.082-12.164)]
Yes	6	7		1	12	
RR (CI95%)	1.583 (0.842-2.978)	0.500 (0.223-1.123)		1.000 (0.100-10.037)	1.000 (0.825-1.212)	

RR: relative risk; CI: confidence interval;

Table 4 - Association of clinicopathological features of patients diagnosed with NB, GNB, or GN with genotypic models of the *XPA* gene.

Parameters	XPA rs1800975 T>C					
	Dominant model			Recessive model		
	TT (n)	CT+CC (n)	<i>p</i> -value [RR(CI95%)]	CC (n)	CT+TT (n)	<i>p</i> -value [RR(CI95%)]
Genre						
Male	6	29	0.543 [0.863 (0.236-3.153)]	15	20	0.971 [1.018 (0.389-2.663)]
Female	5	28		14	19	
RR (CI95%)	1.131 (0.381-3.356)	0.977 (0.793-1.203)		1.010 (0.582-1.754)	0.992 (0.659-1.495)	
Staging						
I+II+IVS	2	15	0.354 [1.935 (0.365-10.257)]	7	10	0.992 [1.006 (0.316-3.202)]
III+IV	8	31		16	23	
RR (CI95%)	0.574 (0.136-2.423)	1.110 (0.877-1.405)		1.004 (0.508-1.984)	0.997 (0.620-1.606)	
Death						
No	8	23	0.107 [0.192 (0.022-1.009)]	11	20	0.581 [0.707 (0.206-2.423)]
Yes	1	15		7	9	
RR (CI95%)	4.129 (0.565-30.187)	0.791 (0.621-1.009)		0.811 (0.391-1.684)	1.147 (0.682-1.900)	
Shimada classification						
Favorable	2	13	0.731 [0.929 (0.071-12.136)]	7	8	0.611 [0.87 (0.157-4.874)]
Unfavorable	1	7		4	4	
RR (CI95%)	1.067 (0.113-10.038)	0.990 (0.713-1.376)		0.933 (0.387-2.248)	1.067 (0.461-2.469)	
Histology						
Undifferentiated or poorly differentiated	6	30	0.433	13	23	0.613 [0.848 (0.125-5.749)]
Differentiated	0	5		2	3	
RR (CI95%)	-	0.833 (0.720-0.964)		0.903 (0.284-2.874)	1.065 (0.500-2.269)	
Extent of disease at diagnosis						
Localized	5	26	0.740 [1.248 (0.338-4.614)]	12	19	0.607 [0.76 (0.279-2.108)]
Disseminated	6	25		14	17	
RR (CI95%)	0.833 (0.284-2.447)	1.040 (0.825-1.311)		0.857 (0.476-1.544)	1.118 (0.731-1.709)	
Metastasis at diagnosis						
No	4	32	0.102 [2.947 (0.762-11.407)]	17	19	0.321 [1.69 (0.598-4.780)]
Yes	7	19		9	17	
RR (CI95%)	0.413 (0.135-1.265)	1.216 (0.938-1.578)		1.364 (0.726-2.564)	0.807 (0.532-1.225)	
Bone marrow infiltration throughout the clinical course						
No	8	41	0.505 [1.281 (0.293-5.998)]	20	29	0.688 [0.78 (0.246-2.523)]
Yes	3	12		7	8	
RR (CI95%)	0.816 (0.247-2.695)	1.046 (0.789-1.386)		0.875 (0.462-1.655)	1.110 (0.665-1.880)	

RR: relative risk; CI: confidence interval;

Table 4 - Association of clinicopathological features of patients diagnosed with NB, GNB, or GN with genotypic models of the XPA gene.

Parameters	XPA rs1800975 T>C					<i>p</i> -value [RR(CI95%)]	
	Dominant model		<i>p</i> -value [RR(CI95%)]	Recessive model			<i>p</i> -value [RR(CI95%)]
	TT (n)	CT+CC (n)		CC (n)	CT+TT (n)		
Late metastasis							
No	8	35	0.789 [0.820	19	24	0.879 [1.089	
Yes	3	16	(0.192-3.507)]	8	11	(0.365-3.243)]	
RR	1.178	0.967		1.049	0.964		
(CI95%)	(0.351-3.960)	(0.759-1.231)		(0.562-1.961)	(0.605-1.537)		
Relapse							
No	7	32	0.442 [1.407	15	24	0.548 [0.703	
Yes	4	13	(0.351-5.632)]	8	9	(0.223-2.221)]	
RR	0.763	1.073		0.817	1.162		
(CI95%)	(0.257-2.265)	(0.793-1.451)		(0.430-1.553)	(0.696-1.940)		
Residual recurrence							
No	5	25	0.803 [1.190	12	18	0.643 [0.77	
Yes	5	21	(0.303-4.679)]	12	14	(0.26-2.250)]	
RR	0.867	1.032		0.867	1.114		
(CI95%)	(0.282-2.664)	(0.806-1.320)		(0.474-1.585)	(0.703-1.766)		
Chemotherapy							
No	2	9	0.630 [0.964	4	7	0.475 [0.753	
Yes	9	42	(0.177-5.241)]	22	29	(0.196-2.899)]	
RR	1.030	0.994		0.843	1.119		
(CI95%)	(0.257-4.123)	(0.731-1.349)		(0.363-1.958)	(0.674-1.857)		
Radiotherapy							
No	5	28	0.285 [2.036	11	22	0.376 [0.57	
Yes	4	11	(0.460-9.020)]	7	8	(0.164-1.987)]	
RR	0.568	1.157		0.714	1.250		
(CI95%)	(0.177-1.821)	(0.826-1.622)		(0.346-1.475)	(0.737-2.126)		

RR: relative risk; CI: confidence interval;

Table 5 - Association of clinicopathological features of patients diagnosed with NB, GNB, or GN with genotypic models of the *PARP1* gene.

Parameters	PARP1 rs113641 A>G					
	Dominant model			Overdominant model		
	AA (n)	GA+GG (n)	<i>p</i> -value [RR(CI95%)]	GA (n)	AA+GG (n)	<i>p</i> -value [RR(CI95%)]
Diagnosis						
NB	37	14	0.416 [0.661	13	38	0.476 [1.368
GNB+GN	12	3	(0.162-2.697)]	3	12	(0.333-5.623)]
RR	0.907	1.373		1.275	0.931	
(CI95%)	(0.669-1.229)	(0.454-4.149)		(0.418-3.889)	(0.690-1.257)	
Genre						
Male	26	23	0.532 [1.413	8	26	0.725 [0.821
Female	23	10	(0.477-4.185)]	9	24	(0.273-2.470)]
RR	1.097	0.776		0.863	1.051	
(CI95%)	(0.819-1.470)	(0.350-1.723)		(0.379-1.965)	(0.795-1.391)	
Staging						
I+II+IVS	12	5	0.500 [0.640	5	12	0.362 [1.845
III+IV	30	8	(0.174-2.354)]	7	31	(0.489-6.957)]
RR	0.894	1.397		1.597	0.865	
(CI95%)	(0.631-1.266)	(0.535-3.648)		(0.590-4.318)	(0.615-1.218)	
Age at diagnosis						
<18months	17	7	0.794 [0.862	7	17	0.632 [1.318
>18months	31	11	(0.282-2.633)]	10	32	(0.425-4.083)]
RR	0.960	1.114		1.225	0.930	
(CI95%)	(0.701-1.313)	(0.498-2.488)		(0.537-2.797)	(0.684-1.264)	
Death						
No	21	9	0.500 [0.778	9	21	0.323 [1.857
Yes	12	4	(0.197-3.076)]	3	13	(0.423-8.145)]
RR	0.933	1.200		1.600	0.862	
(CI95%)	(0.646-1.348)	(0.437-3.293)		(0.503-5.090)	(0.618-1.201)	
Shimada classification						
Favorable	10	5	0.179 [3.333	5	10	0.184 [0.30
Unfavorable	3	5	(0.557-19.949)	5	3	(0.050-1.795)]
RR	1.778	0.533		0.533	1.778	
(CI95%)	(0.678-4.659)	(0.218-1.305)		(0.218-1.305)	(0.678-4.659)	
Histology						
Undifferentiated or poorly differentiated	23	11	0.506 [0.523	11	23	0.506 [0.193
Differentiated	4	1	(0.052-5.246)]	1	4	(0.191-19.198)]
RR	0.846	1.618		1.618	0.846	
(CI95%)	(0.515-1.389)	(0.262-9.976)		(0.262-9.976)	(0.515-1.389)	
Extent of disease at diagnosis						
Localized	22	9	0.766 [0.850	9	22	0.562 [1.40
Disseminated	23	8	(0.278-2.599)	7	24	(0.446-4.406)]
RR	0.957	1.112		1.286	0.917	
(CI95%)	(0.704-1.299)	(0.500-2.534)		(0.548-3.017)	(0.683-1.231)	
Metastasis at diagnosis						
No	28	9	0.506 [1.464	9	28	0.746 [0.82
Yes	17	8	(0.474-4.519)]	7	18	(0.261-2.615)]
RR	1.113	0.760		0.869	1.051	
(CI95%)	(0.804-1.540)	(0.340-1.702)		(0.372-2.027)	(0.775-1.426)	

RR: relative risk; CI: confidence interval;

Table 5 - Association of clinicopathological features of patients diagnosed with NB, GNB, or GN with genotypic models of the *PARP1* gene.

Parameters	PARP1 rs113641 A>G					
	Dominant model			Overdominant model		
	AA (n)	GA+GG (n)	<i>p</i> -value [RR(CI95%)]	GA (n)	AA+ GG (n)	<i>p</i> -value [RR(CI95%)]
Bone marrow infiltration at diagnosis						
No	41	15	0.400 [1.640 (0.349-7.717)]	15	41	0.643 [1.098 (0.199-6.045)]
Yes	5	3		2	6	
RR (CI95%)	1.171 (0.669-2.050)	0.714 (0.264-1.930)		1.071 (0.299-3.838)	0.976 (0.635-1.501)	
Bone marrow infiltration throughout the clinical course						
No	36	14	0.511 [0.771 (0.185-3.225)]	13	37	0.570 [1.171 (0.278-4.927)]
Yes	10	3		3	10	
RR (CI95%)	0.936 (0.663-1.321)	1.213 (0.409-3.600)		1.127 (0.376-3.375)	0.962 (0.685-1.352)	
Late metastasis						
No	28	14	0.133 [0.375 (0.093-1.506)]	13	29	0.177 [2.391 (0.592-9.656)]
Yes	16	3		3	16	
RR (CI95%)	0.796 (0.593-1.057)	2.111 (0.687-6.490)		1.960 (0.632-6.083)	0.820 (0.619-1.086)	
Relapse						
No	26	12	0.270 [0.500 (0.120-2.089)]	12	26	0.270 [2.000 (0.479-8.354)]
Yes	13	3		3	13	
RR (CI95%)	0.842 (0.612-1.159)	1.684 (0.548-5.173)		1.684 (0.548-5.1730)	0.842 (0.612-1.159)	
Residual recurrence						
No	19	10	0.352 [0.570 (0.173-1.876)]	10	19	0.352 [1.75 (0.533-5.773)]
Yes	20	6		6	20	
RR (CI95%)	0.852 (0.608-1.194)	1.494 (0.631-3.541)		1.494 (0.631-3.541)	0.852 (0.608-1.194)	
Chemotherapy						
No	6	5	0.144 [0.379 (0.098-1.466)]	5	6	0.109 [2.955 (0.756-11.540)]
Yes	38	12		11	39	
RR (CI95%)	0.718 (0.409-1.258)	1.894 (0.839-4.274)		2.066 (0.900-4.746)	0.699 (0.400-1.223)	
Radiotherapy						
No	23	10	0.105 [0.192 (0.022-1.680)]	10	23	0.105 [5.21 (0.595-45.736)]
Yes	12	1		1	12	
RR (CI95%)	0.755 (0.574-0.993)	3.939 (0.559-27.768)		3.939 (0.559-27.768)	0.755 (0.574-0.993)	

RR: relative risk; CI: confidence interval;

4. CONCLUSÃO:

Através deste estudo, foi possível levantar diversos dados sócio-demográficos e clínico-patológicos sobre pacientes que foram acometidos com TNPs no estado do Paraná. Não foi possível encontrar nenhuma associação significativa ($p < 0.05$) em relação aos polimorfismo do gene *PARP1* (rs1136410) comparados aos parâmetros prognósticos em pacientes com TNPs. No SNP do gene *XPC* (rs2228000), encontramos uma associação com o genótipo GG ($p = 0.034$) como fator de risco para o desenvolvimento da doença em estágio mais avançado. Na variante genética do *XPA* (rs1800975), encontramos associação com o genótipo TT ($p = 0.037$) como fator protetor para o desenvolvimento de infiltração na medula óssea ao diagnóstico.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Compreender a biologia do desenvolvimento tumoral em TNPs, bem como seus mecanismos celulares e moleculares, é essencial para o avanço no entendimento dos fatores prognósticos e no desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas. Nossos achados, sejam eles associações significativas ou não entre os genes estudados e os desfechos clínicos, fornecem uma base valiosa para futuras pesquisas, contribuindo para o delineamento de estudos mais robustos e comparações populacionais. Embora nosso tamanho amostral possa ser considerado reduzido, é extremamente significativo quando levamos em conta a raridade e a prevalência dos TNPs. Além disso, reconhecemos as limitações inerentes à disponibilidade de dados clínicos, o que ressalta a necessidade urgente de uma maior integração entre a prática clínica e a pesquisa laboratorial. A colaboração entre médicos e pesquisadores é crucial para aprimorar a qualidade dos estudos e possibilitar avanços mais rápidos no diagnóstico e tratamento dessa neoplasia infantojuvenil. Apesar dos desafios, atingimos nossos objetivos e reforçamos a importância de continuar investigando essa complexa doença. Cada novo conhecimento adquirido representa um passo adiante na busca por melhores estratégias terapêuticas e prognósticas, trazendo esperança para um futuro mais promissor no manejo dos TNPs.

REFERÊNCIAS

- AMÉ, J.-C.; SPENLEHAUER, C.; MURCIA, G. The PARP superfamily. **Bioessays**. v. 26, ed. 8, p. 882-893, 2004.
- ALESKEV, S.; COIN, F. Orchestral maneuvers at the damaged sites in nucleotide excision repair. **Cell and Mol Life Sci**. v. 72, p. 2177-2186, 2015.
- BERTHOLD, F.; *et al.* Myeloablative megatherapy with autologous stem-cell rescue versus oral maintenance chemotherapy as consolidation treatment in patients with high-risk neuroblastoma: a randomised controlled trial. **Lancet Oncol**. v. 6, ed. 9, p. 649-658, 2005.
- BECKWITH, J. B.; PERRIN, E. V. In Situ Neuroblastomas: A Contribution to the Natural History of Neural Crest Tumors. **Am J Pathol**. v. 43, ed. 6, p. 1089-1104, 1963.
- BEARD, W.; HORTON, J. K.; PRASAD, R.; WILSON, S. H. Eukaryotic Base Excision Repair: New Approaches Shine Light on Mechanism. **Annu Ver Biochem**. v. 88, p. 88-162, 2019.
- BHAKTA, N.; *et al.* The Cumulative Burden of Surviving Childhood Cancer: Na Initial Report from the St. Jude Lifetime Cohort Study. **Lancet**. v. 390, ed. 10112, p. 2569-2582, 2017.
- BUKI, K. G.; KUN, E. Polypeptide domains of ADP-ribosyltransferase obtained by digestion with plasmin. **Biochemistry**. v. 27, ed. 16, p. 5990-5995, 1988.
- BRODEUR, G. M. Neuroblastoma: biological insights into a clinical enigma. **Nat Rev Cancer**. v. 3, ed. 3, p. 203-216, 2003.
- BRODEUR, G. M.; *et al.* Revisions of the international criteria for neuroblastoma diagnosis, staging, and response to treatment. **J Clin Oncol**. v. 11, ed. 8, p. 1466-1477, 1993.
- BRODEUR, G. M.; SEEGER, R. C.; SCHWAB, M.; VARMUS, H. E.; BISHOP, J. M. Amplification of N-myc in Untreated Human Neuroblastomas Correlates with Advanced Disease Stage. **Science**. v. 224, ed. 4653, p. 1121-1124, 1984.
- BRODEUR, G. M.; SEEGER, R. C.; BARRETT, A.; BERTHOLD, F.; CASTLEBERRY, R. P.; D'ANGIO, G.; BERNARDI, B.; EVANS, A. E.; FAVROT, M.; FREEMAN, A. I. International criteria for diagnosis, staging, and response to treatment in patients with neuroblastoma. **J of Clin Oncol**. v. 6, n. 12, 1988.
- BRODEUR, G. M.; PRITCHARD, J.; BERTHOLD, F.; CARLSEN, N. L.; CASTLEBERRY, R. P.; BERNARDI, B.; EVANS, A. E.; FAVROT, M.; HEDBORG, F. Revisions of the international criteria for neuroblastoma diagnosis, staging, and response to treatment. **J of Clin Oncol**. v. 11, ed. 8, 1993.
- BORK, P.; *et al.* A superfamily of conserved domains in DNA damage-responsive cell cycle checkpoint proteins. **FASEB J**. v. 11, ed. 1, p. 68-76, 1997.
- CAPASSO, M.; *et al.* Common variations in *BARD1* influence susceptibility to high-risk neuroblastoma. **Nat Genet**. v. 41, ed. 6, p. 718-723, 2009.
- CHATTERJEE, N.; WALKER, G. C.; Mechanisms of DNA damage, repair and mutagenesis. **Environ Mol Mutagen**. v. 58, ed. 5, p. 235-263, 2017.
- CASTEL, V.; CAÑETE, A.; NAVARRO, S.; GARCÍA-MIGUEL, P.; MELERO, C.; ACHA, T.; NAVAJAS, A.; BADAL, M. D. Outcome of high-risk neuroblastoma using a dose intensity approach: improvement in a initial but not in long-term results. **Med Pediatr Oncol**. v. 37, ed. 6, p. 537-542, 2001.
- CAO, W.-H.; *et al.* Analysis of genetic variants of the poly(ADP-ribose)polymerase-1 gene in breast cancer in French patients. **Mutat Res**. v. 632, ed. 1-2, p. 20-28, 2007.
- CHAUDHURI, A. R.; NUSSENZWEIG, A. The multifaceted roles of PARP1 in DNA

- repair and chromatin remodelling. **Nat Rev Mol Cell Biol.** v. 18, ed. 10, p. 610-621, 2017.
- CHEUNG, N-K. V.; DYER, M. A. Neuroblastoma: Developmental Biology, Cancer Genomics, and Immunotherapy. **Nat Ver Cancer.** v. 13, ed. 6, p. 397-411, 2013.
- COUGHLAN, D.; GIANFERANTE, M.; LYNCH, C. F.; STEVENS, J. L.; HARLAN, L. C. Treatment and Survival of Childhood Neuroblastoma: Evidence from a Population-Based Study in the United States. **Pediatr Hematol Oncol.** v. 34, ed. 5, p. 320-330, 2017.
- CAMENISCH, U.; NAGELI, H. XPA gene, its product and biological roles. **Adv Exp Med Biol.** v. 637, p. 28-38, 2008.
- CLEAVER, J. E.; STATES, J. C. The DNA damage-recognition problem in human and other eukaryotic cells: the XPA damage binding protein. **Biochem J.** v. 328, p. 1-12, 1997.
- DAI, Y.; SONG, Z.; ZHANG, J.; GAO, W. Comprehensive assessment of the association between XPC rs2228000 and cancer susceptibility based on 26835 cancer cases and 37069 controls. **Biosci Rep.** v. 39, ed. 12, bsr20192452, 2019.
- DAS, S.; *et al.* The ECCR1 rs 11615, ERCC4 rs2276466, XPC rs2228000 and XPC rs2228001 polymorphisms increase the cervical cancer risk and aggressiveness in the Bangladeshi population. **Heliyon.** v. 7, ed. 1, e05919, 2021.
- DEBAUN, M. R.; TUCKER, M. A. Risk of cancer during the first four years of life in children from The Beckwith-Wiedemann Syndrome Registry. **J Pediatr.** v. 132, p. 398-400, 1998.
- DIANOV, G. L.; HUBSCHER, U. Mammalian Base Excision Repair: the Forgotten Archangel. **Nucleic Acid Res.** v. 41, ed. 6, p. 3483-3490, 2013.
- DING, D.; *et al.* Genetic variation of XPA gene and risk of cancer: A systematic review and pooled analysis. **Int J of Cancer.** v. 131, ed. 2, p. 488-496, 2011.
- DEGOUTIN, J.; CARVALHO, N. B.; CIFUENTES-DIAZ, C.; VIGNY, M. ALK (Anaplastic Lymphoma Kinase) expression in DRG neurons and its involvement in neuron-Schwann cells interaction. **Euro J of Neurosc.** v. 29, ed. 2, p. 275-286, 2009.
- DZIKI, L.; DZIKI, A.; MIK, M.; MAJSTEREK, I.; KABZINSKI, J. Modulation of Colorectal Cancer Risk by Polymorphisms in 51Gln/His, 64Ile/Val, and 148Asp/Glu of APEX Gene; 23Gly/Ala of XPA Gene; and 689Ser/Arg of ERCC4 Gene. **Gastroenterol Res Pract.** v. 2017, p. 3840243, 2017.
- FAGBEMI, A. F.; ORELLI, B.; SCHARER, O. D. Regulation of endonuclease activity in human nucleotide excision repair. **DNA Repair (Amst).** v. 10, ed. 7, p. 722-729, 2011.
- FELTES, B. C.; BONATTO, D. Overview of xeroderma pigmentosum proteins architecture, mutations and post-translational modifications. **Mutat Res Ver Mutat Res.** v. 763, p. 306-320, 2015.
- FORTINI, B.; PASCUCCI, B.; PARLANTI, E.; D'ERRICO, M.; SIMONELLI, V.; DOGLIOTTI, E. The base excision repair: mechanisms and its relevance for cancer susceptibility. **Biochimie.** v. 85, ed. 11, p. 1053-1071, 2003.
- FOUSTERI, M.; VERMEULEN, W.; ZEELAND, A. A.; MULLENDERS, L. H. F. Cockayne Syndrome A and B Proteins Differentially Regulate Recruitment of Chromatin Remodeling and Repair Factors to Stalled RNA Polymerase II In Vivo. **Mol Cell.** v. 81, ed. 24, p. 5112, 2021.
- GAGNÉ, J-P.; *et al.* Proteome-wide identification of poly(ADP-ribose) binding proteins and poly(ADP-ribose)-associated protein complexes. **Nucleic Acids Res.** v. 26, ed. 22, p. 6959-6976, 2008.
- GRIMMER, M. R.; WEISS, W. A. Childhood tumors of the nervous system as

- disorders of normal development. **Curr Opin Pediatr.** v. 18, ed. 6, p. 634-638, 2006.
- GILLET, L. C. J; SHCARER, O. D. Molecular mechanisms of mammalian global genome nucleotide excision repair. **Chem Rev.** v. 106, ed. 2, p. 253-276, 2006.
- GUPTA, R. C.; LUTZ, W. K. Background DNA damage for endogenous and unavoidable exogenous carcinogens: a basis for spontaneous cancer incidence? **Mutat Res.** v. 424, ed. 1-2, p. 1-8. 1999.
- HUA, R-X.; *et al.* Association between the PARP1 Val762Ala Polymorphism and Cancer Risk: Evidence from 43 Studies. **PLoS One.** V. 9, ed. 1, e. 87057, 2014.
- HUA, R-X.; *et al.* Association of XPC Gene Polymorphisms with Colorectal Cancer Risks in a Southern Chinese Population: A Case-Control Study and Meta-Analysis. **Genes (Basel).** v. 7, ed. 10, p. 73, 2016.
- INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. **Atlas on-line de mortalidade.** [Rio de Janeiro: INCA, 2020a]. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/MortalidadeWeb>
- ISABELLE, M.; *et al.* Investigation of PARP-1, PARP-2, and PARG interactomes by affinity-purification mass spectrometry. **Proteome Sci.** v. 8, p. 22, 2010.
- IYAMA, T.; WILSON, D. M.; DNA repair mechanisms in dividing and non-dividing cells. **DNA Repair (Amst).** v. 12, ed. 8, p. 620-636, 2013.
- IWAHARA, T.; FUJIMOTO, J.; WEN, D.; CUPPLES, R.; BUCAY, N.; ARAKAWA, T.; MORI, S.; RATZKIN, B.; YAMAMOTO, T. Molecular characterization of ALK, a receptor tyrosine kinase expressed specifically in the nervous system. **Oncogene.** v. 14, ed. 4, p. 439-449, 1997.
- JUNGMICHEL, S.; ROSENTHAL, F.; ALTMAYER, M.; LUKAS, J.; HOTTGER, M. O.; NIELSEN, M. L. Proteome-wide identification of poly(ADP-Ribosyl)ation targets in different genotoxic stress responses. **Mol Cell.** v. 52, ed. 2, p. 272-285, 2013.
- JAVLE, M.; CURTIN, N. J. The role of PARP in DNA repair and its therapeutic exploitation. **Br J Cancer.** v. 105, ed. 8, p. 1114-1122, 2011.
- KRAUS, W. L.; LIS, J. T. PARP goes transcription. **Cell.** v. 113, ed. 6, p. 677-683, 2003.
- KROKAN, H. E.; STANDAL, R.; SLUPPHAUG, G. DNA glycosylases in the base excision repair of DNA. **Biochem J.** v. 325, p. 1-16, 1997.
- KRIETSCH, J.; *et al.* Reprogramming cellular events by poly(ADP-ribose)-binding proteins. **Mol Aspects Med.** v. 34, ed. 6, p. 1066-1087, 2012.
- KRASIKOVA, Y. S.; RECHKUNOVA, N. I.; MALTSEVA, E. A.; CRAESCU, C. T.; PETRUSEVA, I. O.; LAVRIK, O. I. Influence of centrin 2 on the interaction of nucleotide excision repair factors with damaged DNA. **Biochemistry (Mosc).** v. 77, ed. 4, p. 346-353, 2012.
- KIM, Y-J.; WILSON III, D. M. Overview of Base Excision Repair Biochemistry. **Curr Mol Pharmacol.** v. 5, ed. 1, p. 3-13, 2012.
- KIM, M. Y.; ZHANG, T.; KRAUS, W. L. Poly (ADP-ribose)ylation by PARP-1: 'PAR-laying' NAD⁺ into a nuclear signal. **Genes Dev.** v. 19, ed. 17, p. 1951-1967, 2005.
- KURAOKA, I.; MORITA, E. H.; SAIJO, M.; MATSUDA, T.; MORIKAWA, K.; SHIRAKAWA, M.; TANAKA, K. Identification of a damaged-DNA binding domain of the XPA protein. **Mutat Res.** v. 362, ed. 1, p. 87-95, 1996.
- KOZAK, M. Interpreting cDNA sequences: some insights from studies on translation. **Mamm Genome.** v. 7, ed. 8, p. 563-574, 1996.
- KOZAK, M. At least six nucleotides preceding the AUG initiator codon enhance translation in mammalian cells. **J Mol Biol.** v. 196, ed. 4, p. 947-950, 1987.
- KHAN, S. G.; *et al.* The human XPC DNA repair gene: arrangement, splice site

- information content and influence of a single nucleotide polymorphism in a splice acceptor site on alternative splicing and function. **Nucleic Acids Res.** v. 30, ed. 16, p. 3624-3631, 2002.
- LADENSTEIN, R.; *et al.* Interleukin 2 with anti-GD2 antibody ch14.18/CHO (dinutuximab beta) in patients with high-risk neuroblastoma (HR-NBL1/SIOPEN): a multicentre, randomised, phase 3 trial. **Lancet Oncol.** v. 19, ed. 12, p. 1617-1629, 2018.
- LAM, C. G. *et al.* Science and health for all children with cancer. **Science.** v. 363, n. 6432, p. 1182-1186, 2019.
- LEE, S. H.; KIM, D. K.; DRISSI, R. Human xeroderma pigmentosum group A protein interacts with human replication protein A and inhibits DNA replication. **J Biol Chem.** v. 270, ed. 37, p. 21800-21805, 1995.
- LIU, Y.; *et al.* Association and Interactions between DNA Repair Gene Polymorphisms and Adult Glioma. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.** v. 18, ed. 1, p. 204-214, 2009.
- LONDON, W. B.; *et al.* Evidence for an age cutoff greater than 365 days for neuroblastoma risk group stratification in the Children's Oncology Group. **J Clin Oncol.** v. 23, ed. 27, p. 6459-6465, 2005.
- LONDON, W. B.; *et al.* Clinical and Biologic Features Predictive of Survival After Relapse of Neuroblastoma: A Report From the International Neuroblastoma Risk Group Project. **J Clin Oncol.** v. 29, ed. 24, p. 3286-3292, 2011.
- LOCKET, K. L.; *et al.* The ADPRT V762A genetic variant contributes to prostate cancer susceptibility and deficient enzyme function. **Cancer Res.** v. 64, ed. 17, p. 6344-6348, 2004.
- MARIS, J. M.; *et al.* Evidence for a hereditary neuroblastoma predisposition locus at chromosome 16p12-13. **Cancer Res.** v. 62, ed. 11, p. 6651-8, 2002.
- MARIS, J. M.; *et al.* A genome-wide association study identifies a susceptibility locus to clinically aggressive neuroblastoma at 6p22. **N Engl J Med.** v. 358, ed. 24, p. 2585-2593, 2007.
- MARIS, J. M. Recent Advances in Neuroblastoma. **N Engl J Med.** v. 362, ed. 23, p. 2202-2211, 2010.
- MALKIN, D. Li-Fraumeni Syndrome. **Genes Cancer.** v. 2, ed. 4, p. 475-484, 2011.
- MATTHAY, K. K.; *et al.* Treatment of high-risk neuroblastoma with intensive chemotherapy, radiotherapy, autologous bone marrow transplantation, and 13-cis-retinoic acid. Children's Cancer Group. **N Engl J Med.** v. 341, ed. 16, p. 1165-1173, 1999.
- MATTHAY, K. K.; *et al.* Long-Term Results for Children High-Risk Neuroblastoma Treated on a Randomized Trial of Myeloablative Therapy Followed by 13-cis-retinoic Acid: A Children's Oncology Group Study. **J Clin Oncol.** v. 27, ed. 7, p. 1007-1013, 2009.
- MATTHAY, K. K.; SHULKIN, B.; LADENSTEIN, R.; MICHON, J.; GIAMMARILE, F.; LEWINGTON, V.; PEARSON, A. D. J.; COHN, S. L. Criteria for evaluation of disease extent by ¹²³I-metaiodobenzylguanidine scans in neuroblastoma: a report for the International Neuroblastoma Risk Group (INRG) Task Force. **Br J Cancer.** v. 102, ed. 9, p. 1319-1326, 2010.
- MCCLUSKEY, A. G.; BOYD, M.; ROSS, S. C.; COSIMO, E.; CLARK, A. M.; ANGERSON, W. J.; GAZE, M. N.; MAIRS, R. J. [131I]meta-iodobenzylguanidine and topotecan combination treatment of tumors expressing the noradrenaline transporter. **Clin Cancer Res.** v. 11, ed. 21, p. 7929-7937, 2005.
- MITRA, S. DNA glycosylases: specificity and mechanisms. **Prog Nucleic Acid Res**

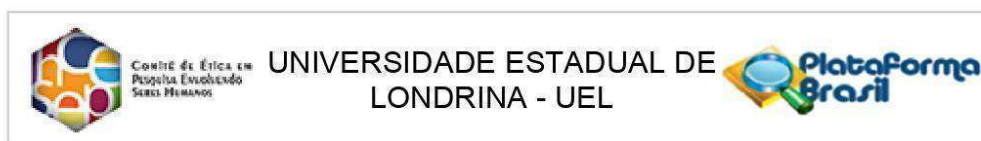
- Mol Biol.** v. 68, p. 189-192, 2001.
- MARTEIJN, J. A.; LANS, H.; VERMEULEN, W.; HOEIJMAKERS, J. H. K. Understanding nucleotide excision repair and its roles in cancer and ageing. **Nat Ver Mol Cell Biol.** v. 15, ed. 7, p. 465-481, 2014.
- MARINI, F.; *et al.* DNA nucleotide excision repair-dependent signaling to checkpoint activation. **Proc Natl Acad Sci U S A.** v. 103, ed. 46, p. 17325-17330, 2006.
- MARTI, T. M.; HEFNER, E.; FEENEY, L.; NATALE, V.; CLEAVER, J. E. H2AX phosphorylation within the G1 phase after UV irradiation depends on nucleotide excision repair and not DNA double-strand breaks. **Proc Natl Acad Sci U S A.** v. 103, ed. 26, p. 9891-9896, 2006.
- MAUDE, S. L.; *et al.* Tisagenlecleucel in Children and Young Adults with B-Cell Lymphoblastic Leukemia. **N Engl J Med.** v. 378, ed. 5, p. 439-448, 2018.
- MERCHANT, M. S.; *et al.* Phase 1 Clinical Trial of Ipilimumab in Pediatric Patients With Advanced Solid Tumors. **Clin Cancer Res.** v. 22, ed. 6, p. 1364-1370, 2015.
- MORGENSTERN, D. A.; *et al.* Risk stratification of high-risk metastatic neuroblastoma: A report from the HR-NBL-1/SIOPEN study. **Pediatr Blood Cancer.** v. 65, ed. 11, e. 27363, 2018.
- MORENO, L.; *et al.* A nomogram of clinical and biologic factors to predict survival in children newly diagnosed with high-risk neuroblastoma: Na International Neuroblastoma Risk Group Project. **Pediatr Blood Cancer.** v. 68, ed. 3, e. 28794, 2020.
- MIN, J-H.; PAVLETICH, N. P. Recognition of DNA damage by the Rad4 nucleotide excision repair protein. **Nature.** v. 449, ed. 7162, p. 570-575, 2007.
- MONTALVÃO-DE-AZEVEDO, R.; *et al.* RFC-1 80G>A Polymorphism in Case-Mother/Control-Mother Dyads Is Associated with Risk of Nephroblastoma and Neuroblastoma. **Genet Test Mol Biomarkers.** v. 19, ed. 2, p. 75-81, 2015.
- MOSSE, Y. P.; *et al.* Identification of *ALK* as the Major Familial Neuroblastoma Predisposition Gene. **Nature.** v. 455, ed. 7215, p. 930-935, 2008.
- NISH, R.; *et al.* Centrin 2 Stimulates Nucleotide Excision Repair by Interacting with Xeroderma Pigmentosum Group C Protein. **Mol Cell Biol.** v. 25, ed. 13, p. 5664-5674, 2005.
- NISHIKIMI, M.; OGASAWARA, K.; KAMESHITA, I.; TANIGUCHI, T.; SHIZUTA, Y. Poly(ADP-ribose)synthetase. The DNA binding domain and the automodification domain. **J Biol Chem.** v. 257, ed. 11, p. 6102-6105, 1982.
- PEUCHMAUR, M.; *et al.* Revision of the International Neuroblastoma Pathology Classification: Confirmation of Favorable and Unfavorable Prognostic Subsets in Ganglioneuroblastoma, Nodular. **Cancer.** v. 98, ed. 10, p. 2274-2281, 2003.
- PARK, J. R.; EGGERT, A.; CARON, H. Neuroblastoma: Biology, Prognosis, and Treatment. **Ped Clin of North Amer.** v. 55, ed. 1, p. 97-120, 2008.
- PARK, C-J.; CHOI, B-S. The protein shuffle. Sequential interactions among components of the human nucleotide excision repair pathway. **FEBS J.** v. 273, ed. 8, p. 1600-1608, 2006.
- PEARSON, A. D. J.; *et al.* High-dose rapid and standard induction chemotherapy for patients aged over 1 year with stage 4 neuroblastoma: a randomised trial. **Lancet Oncol.** v. 9, ed. 3, p. 247-256, 2008.
- POSTOW, M. A.; *et al.* Nivolumab and Ipilimumab versus Ipilimumab in Untreated Melanoma. **N Engl J Med.** v. 372, ed. 21, p. 2006-2017, 2015.
- PINTO, N. R.; *et al.* Advances in Risk Classification and Treatment Strategies for Neuroblastoma. **J of Clin Oncol.** v. 33, ed. 27, p. 3008-3017, 2015.
- PRASAD, R.; SHOCK, D. D.; BEARD, W. A.; WILSON, S. H. Substrate Channeling in

- Mammalian Base Excision Repair Pathways: Passing the Baton. **J Biol Chem.** v. 285, ed. 52, p. 40479-40488, 2010.
- PRITCHARD, J.; COTTERILL, S. J.; GERMOND, S. M.; IMESON, J.; KRAKER, J.; JONES, D. R. High dose melphalan in the treatment of advanced neuroblastoma: results of a randomised trial (ENSG-1) by the European Neuroblastoma Study Group. **Pediatr Blood Cancer.** v. 44, ed. 4, p. 348-357, 2005.
- PULZOVÁ, L. B.; WARD, T. A.; CHOVANEC, M. XPA: DNA Repair Protein of Significant Clinical Importance. **Int J Mol Sci.** v. 21, ed. 6, p. 2182, 2020.
- QIU, B.; MATTHAY, K. K. Advancing therapy for neuroblastoma. **Nat Rev Clin Oncol.** v. 19, p. 515-533, 2022.
- RAABE, E.H.; LAUDENSLAGER, M.; WINTER, C.; WASSERMAN, N.; COLE, K.; LAQUAGLIA, M.; MARIS, D. J.; MOSSE, Y. P.; MARIS, J. M. **Oncogene.** v. 27, ed. 4, p. 469-476, 2008.
- RABIK, C. A.; DOLAN, M. E. Molecular Mechanisms of Resistance and Toxicity Associated with Platinating Agents. **Cancer Treat Rev.** v. 33, ed. 1, p. 9-23, 2006.
- RECK, M.; *et al.* Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. **N Engl J Med.** v. 375, ed. 19, p. 1823-1833, 2016.
- RIEDL, T.; HANAOKA, F.; EGLY, J-M. The comings and goings of nucleotide excision repair factors on damaged DNA. **EMBO J.** v. 22, ed. 19, p. 5293-5303, 2003.
- ROSS, J. A.; SPECTOR, L. G.; ROBISON, L. L.; OLSHAN, A. F. Epidemiology of leukemia in children with Down syndrome. **Pediatr Blood Cancer.** v. 44, ed. 1, p. 8-12, 2005.
- RENAUD, E.; MICCOLI, L.; ZACAL, N.; BIARD, D. S.; CRAESCU, C. T.; RAINBOW, A. J.; ÂNGULO, J. F. Differential contribution of XPC, RAD23A, RAD23B and CENTRIN 2 to the UV-response in human cells. **DNA Repair.** v. 10, ed. 8, p. 835-847, 2011.
- SCHARER, O. D. Nucleotide Excision Repair in Eukaryotes. **Cold Spring Harb Perspect Biol.** v. 5, ed. 10, a. 012609, 2013.
- SMITH, V.; FORSTER, J. High-Risk Neuroblastoma Treatment Review. **Children (Basel).** v. 5, ed. 9, p. 114, 2018.
- SCRIMA, A.; *et al.* Structural basis of UV DNA damage recognition by the DDB1-DDB2 complex. **Cell.** v. 135, ed. 7, p. 1213-1223, 2008.
- STELIAROVA-FOUCHER, E. *et al.* International incidence of childhood cancer, 2001-10: a population-based registry study. **Lancet. Oncology.** v. 18, n. 6, p. 719-731, 2017.
- STATES, J. C.; MCDUFFIE, E. R.; MYRAND, S. P.; MCDOWELL, M.; CLEAVER, J. E. Distribution of mutations in the human xeroderma pigmentosum group A gene and their relationships to the functional regions of the DNA damage recognition protein. **Hum Mutat.** v. 12, ed. 2, p. 103-113, 1998.
- SEIF, A. E. Pediatric leukemia predisposition syndromes: clues to understanding leukemogenesis. **Cancer Genet.** v. 204, ed. 5, p. 227-244, 2011.
- SHIMADA, H.; *et al.* The International Neuroblastoma Pathology Classification (the Shimada system). **Cancer.** v. 86, ed. 2, p. 364-372, 1999.
- SHIMADA, H.; *et al.* Histopathologic Prognostic Factors in Neuroblastic Tumors: Definition of Subtypes of Ganglioneuroblastoma and an Age-Linked Classification of Neuroblastomas. **JNCI.** v. 73, ed. 2, p. 405-416, 1984.
- SHEN, M.; *et al.* Polymorphisms in DNA repair genes and risk of non-Hodgkin lymphoma among women in Connecticut. **Hum Genet.** v. 119, ed. 6, p. 659-668, 2006.
- SIDELL, N. Retinoic acid-induced growth inhibition and morphologic differentiation of

- human neuroblastoma cells in vitro. **J Natl Cancer Inst.** v. 68, ed. 4, p. 589-596, 1982.
- STERN, M. C.; CONTI, D. V.; SIEGMUND, K. D.; CORRAL, R.; YUAN, J.-M.; KOH, W.-P.; YU, M. C. DNA repair single-nucleotide polymorphisms in colorectal cancer and their role as modifiers of the effect of cigarette smoking and alcohol in the Singapore Chinese Health Study. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.** v. 16, ed. 11, p. 2363-2372, 2007.
- STRENGER, V.; KERBL, R.; DORNBUSCH, H. J.; LADENSTEIN, R.; AMBROS, P. F.; AMBROS, I. M.; URBAN, C. Diagnostic and prognostic impact of urinary catecholamines in neuroblastoma patients. **Pediatr Blood Cancer.** v. 48, ed. 5, p. 504-509, 2007.
- SHELL, S. M.; HAWKINS, E. K.; TSAI, M.-S.; HLAING, A. S.; RIZZO, C.; CHAZIN, W. J. Xeroderma pigmentosum complementation group C protein (XPC) serves as a general sensor of damaged DNA. **DNA Repair (Amst).** v. 12, ed. 11, p. 1010-1016, 2013.
- SHELL, S. M.; ZOU, Y. Other Proteins Interacting with XP Proteins. **Adv Exp Med Biol.** v. 637, p. 103-112, 2008.
- SUGASAWA, K.; AKAGI, J.-I.; NISHI, R.; IWAI, S.; HANAOKA, F. Two-step recognition of DNA damage for mammalian nucleotide excision repair: Directional binding of the XPC complex and DNA strand scanning. **Mol Cell.** v. 36, ed. 4, p. 642-653, 2009.
- THIELE, C. J.; REYNOLDS, C. P.; ISRAEL, M. A. Decreased expression of N-myc precedes retinoic acid-induced morphological differentiation of human neuroblastoma. **Nature.** v. 313, ed. 6001, p. 404-406, 1985.
- TUDEK, B. Base excision repair modulation as a risk factor for human cancers. **Mol Asp of Med.** v. 28, ed. 3-4, p. 258-275, 2007.
- TROCHET, D.; HONG, S. J.; LIM, J. K.; BRUNET, J.-F.; MUNNICH, A.; KIM, K.-S.; LYONNET, S.; GORIDIS, C.; AMIEL, J. Molecular consequences of PHOX2B missense, frameshift and alanine expansion mutations leading to autonomic dysfunction. **Hum Mol Genet.** v. 14, ed. 23, p. 3697-3708, 2005.
- VERMEULEN, W.; FOUSTERI, M. Mammalian Transcription-Coupled Excision Repair. **Cold Spring Harb Perspect Biol.** v. 5, ed. 8, p. a012625, 2013.
- WANG, K.; *et al.* Integrative genomics identifies *LMO1* as a neuroblastoma oncogene. **Nature.** v. 469, ed. 7329, p. 216-220, 2010.
- WANG, X.-G.; WANG, Z.-Q.; TONG, W.-M.; SHEN, Y. PARP1 Val762Ala polymorphism reduces enzymatic activity. **Bioch and Bioph Res Comm.** v. 354, ed. 1, p. 122-126, 2007.
- WOOD, R. D.; MITCHEL, M.; SGOUROS, J.; LINDAHL, T. Human DNA repair genes. **Science.** v. 291, ed. 5507, p. 1284-1289, 2001.
- WAKASUGI, M.; KAWASHIMA, A.; MARIOKA, H.; LINN, S.; SANCAR, A.; MORI, T.; NIKAIDO, O.; MATSUNAGA, T. DDB Accumulates at DNA Damage Sites Immediately after UV Irradiation and Directly Stimulates Nucleotide Excision Repair. **J of Bio Chem.** v. 277, ed. 3, p. 1637-1640, 2002.
- YANG, Z.-G.; MAO, L. Y.; ZOU, Y.; LIU, Y.; ZHANG, J.-T. Dimerization of Human XPA and formation of XPA2-RPA Protein Complex. **Biochemistry.** v. 41, ed. 43, p. 13012-13020, 2002.
- YASUDA, G.; *et al.* In Vivo Destabilization and Functional Defects of the Xeroderma Pigmentosum C Protein Caused by a Pathogenic Missense Mutation. **Mol Cell Biol.** v. 27, ed. 19, p. 6606-6614, 2007.
- YU, A. L.; *et al.* Anti-GD2 antibody with GM-CSF, interleukin-2, and isotretinoin for neuroblastoma. **N Engl J Med.** v. 363, ed. 14, p. 1324-1334, 2010.

- YU, A. L.; *et al.* Long-Term Follow-up of a Phase III Study of ch14.18 (Dinutuximab) + Cytokine Immunotherapy in Children with High-Risk Neuroblastoma: COG Study ANBL0032. **Clin Cancer Res**. v. 27, ed. 8, p. 2179-2189, 2021.
- YU, S-W.; *et al.* Mediation of poly(ADP-ribose) polymerase-1-dependent cell death by apoptosis-inducing factor. **Science**. v. 297, ed. 5579, p. 259-263, 2002.
- YOKOI, M.; MASUTANI, C.; MAEKAWA, T.; SUGASAWA, K.; OHKUMA, Y.; HANAOKA, F. The xeroderma pigmentosum group C protein complex XPC-HR23B plays an important role in the recruitment of transcription factor IIH to damaged DNA. **J Biol Chem**. v. 275, ed. 13, p. 9870-9875, 2000.
- ZHANG, Y.; *et al.* Genetic polymorphisms in base-excision repair pathway genes and risk of breast cancer. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**. v. 15, ed. 2, p. 353-358. 2006.
- ZIENOLDDINY, S.; *et al.* Polymorphisms of DNA repair genes and risk non-small cell lung cancer. **Carcinogenesis**. v. 27, ed. 3, p. 560-567, 2006.

ANEXOS I – Aprovação Comitê de Ética de Pesquisa em Seres Humanos (UEL)



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Implicações Prognósticas e Terapêuticas de Marcadores Genéticos, Imunológicos, Virais e de Estresse Oxidativo em Neoplasias Hematológicas e Tumores de Wilms, Meduloblastoma e Neuroblastoma

Pesquisador: MARLA KARINE AMARANTE

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP.);

Versão: 2

CAAE: 59515722.7.0000.5231

Instituição Proponente: CCS - Departamento de Patologia, Análises Clínicas e Toxicológicas

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.583.966

Apresentação do Projeto:

Trechos extraídos do original do(a) pesquisador(a):

Apoio Financeiro: Financiamento Próprio

Desenho: "As amostras obtidas serão transportadas em frascos de transportes recomendados, sob refrigeração para o laboratório de Virologia Básica e Aplicada, Departamento de Microbiologia, Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Londrina. O laboratório possui estrutura e materiais para manipulação em biossegurança nível 2 (NB2). A coordenadora do laboratório de virologia tem ampla experiência na manipulação de vírus de importância médica humana, incluindo cepas virais resistentes a alguns antivirais. Após processamento das amostras estas serão armazenadas em freezer -80°C, e serão utilizadas para avaliação proposta neste estudo. Após a obtenção dos resultados, estes serão compartilhados entre os colaboradores do projeto para produção das disseminações científicas. O grupo proponente possui experiência no tema, além de ser um grupo multiprofissional, vinculados a diferentes Centros: Ciências da Saúde (CCS) e Ciências Biológicas (CCB) da UEL, UEM, PUC/Londrina e, Laboratório de Biologia de Tumores da UNIOESTE e FIOCRUZ/Curitiba/PR e Rio de Janeiro/RJ. Destaca-se a atuação em projetos de

Endereço: LABESC - Sala 14

Bairro: Campus Universitário

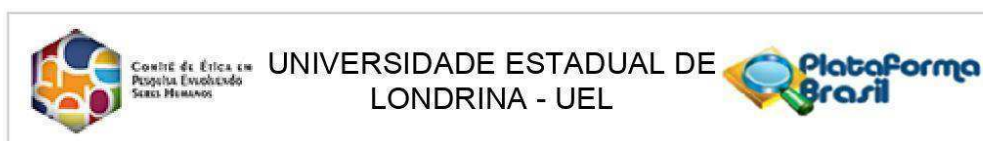
UF: PR

Município: LONDRINA

Telefone: (43)3371-5455

CEP: 86.057-970

E-mail: cep268@uel.br



Continuação do Parecer: 5.583.966

pesquisadores e pessoal técnico integrante do projeto;
- justificar fundamentadamente, perante o sistema CEP/CONEP, interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Coordenação CEP/UEL.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1962343.pdf	04/08/2022 16:45:58		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	2_TCLE_responsavel_legal_pela_crianc a_saudavel.pdf	04/08/2022 16:44:56	MARLA KARINE AMARANTE	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	2_TCLE_responsavel_legal_pela_crianc a_paciente.pdf	04/08/2022 16:44:41	MARLA KARINE AMARANTE	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	2_1_Termo_de_Assentimento_crianca_ saudavel.pdf	04/08/2022 16:44:24	MARLA KARINE AMARANTE	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	2_1_Termo_de_Assentimento_crianca_ paciente.pdf	04/08/2022 16:44:10	MARLA KARINE AMARANTE	Aceito
Outros	Respostas_Comite_Etica.docx	12/07/2022 17:56:06	MARLA KARINE AMARANTE	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Tumores_Hematologicos_e_Pe diaticos.pdf	12/07/2022 17:54:50	MARLA KARINE AMARANTE	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao_apoio_LAVIR.pdf	12/07/2022 17:53:47	MARLA KARINE AMARANTE	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	4_TCLE_pacientes_adultos.pdf	12/07/2022 17:50:41	MARLA KARINE AMARANTE	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	3_TCLE_controles_saudaveis_adultos.p df	12/07/2022 17:49:05	MARLA KARINE AMARANTE	Aceito

Endereço: LABESC - Sala 14

Bairro: Campus Universitário

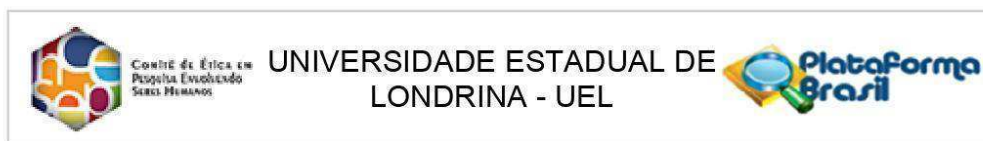
UF: PR

Telefone: (43)3371-5455

Município: LONDRINA

CEP: 86.057-970

E-mail: cep268@uel.br



Continuação do Parecer: 5.583.966

Declaração de concordância	6_Declaracao_coparticipacao_HCL.pdf	09/06/2022 09:38:17	MARLA KARINE AMARANTE	Aceito
Outros	7_Termo_responsabilidade_coleta.pdf	09/06/2022 09:36:40	MARLA KARINE AMARANTE	Aceito
Cronograma	9_Cronograma.pdf	09/06/2022 09:34:05	MARLA KARINE AMARANTE	Aceito
Outros	8_Termo_de_confidencialidade_e_Sigilo.pdf	09/06/2022 09:32:57	MARLA KARINE AMARANTE	Aceito
Folha de Rosto	Folha_rosto_20220608.pdf	08/06/2022 10:20:46	MARLA KARINE AMARANTE	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

LONDRINA, 15 de Agosto de 2022

Assinado por:
Adriana Lourenço Soares Russo
(Coordenador(a))

Endereço: LABESC - Sala 14

Bairro: Campus Universitário

UF: PR

Município: LONDRINA

CEP: 86.057-970

Telefone: (43)3371-5455

E-mail: cep268@uel.br

ANEXOS II – Aprovação Comitê de Ética em Pesquisa PUCPR

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE
CATÓLICA DO PARANÁ - PUC/
PR



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Survivina no Neuroblastoma Pediátrico: Marcador Prognóstico e Alvo Terapêutico

Pesquisador: Selene Elifio Esposito

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 80073124.9.0000.0020

Instituição Proponente: Pontifícia Universidade Católica do Paraná

Patrocinador Principal: Associação Paranaense de Cultura - PUCPR
Fundação Araucária

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 7.119.811

Apresentação do Projeto:

Conforme projeto apresentado:

O neuroblastoma é o tumor sólido mais comum em crianças e representa cerca de 8% de todos os casos de câncer pediátrico. O tratamento no neuroblastoma avançou nos últimos 50 anos com o surgimento da terapia multimodal, mas ainda existem grandes desafios a serem vencidos. Devido à diversidade clínica, típica do neuroblastoma, diversos fatores clínicos e biológicos têm sido empregados para a estratificação dos pacientes em grupos de risco e definição da terapia mais apropriada. No entanto, o resultado clínico é muito variável, principalmente para os grupos de alto risco, cujas taxas de sobrevivência permanecem inferiores a 40%. A proteína survivina é um alvo terapêutico promissor na oncologia por ser abundante em tecidos tumorais, mas não em tecidos não-tumorais. A expressão desta proteína se mostrou associada à hipóxia, condição de baixo teor de oxigênio que tem prognóstico desfavorável em NB. O presente projeto tem o objetivo de analisar polimorfismos genéticos no gene BIRC5, que codifica a proteína survivina, e a expressão imunohistoquímica da survivina como um marcador prognóstico quando associada aos outros fatores clínicos e biológicos. A análise experimental envolverá a marcação imunohistoquímica da survivina, além das proteínas HIF-1 e PI3K, ambas associadas com a hipóxia em neuroblastoma. As marcações serão feitas em amostras de tumor primário, aspirado de medula óssea e sítios metastáticos, quando disponíveis. A etapa *in vitro*,

Endereço: Rua Imaculada Conceição, nº 1155 - prédio administrativo, térreo
Bairro: Prado Velho **CEP:** 80.215-901
UF: PR **Município:** CURITIBA
Telefone: (41)3271-2103 **Fax:** (41)3271-2103 **E-mail:** nep@pucpr.br

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE
CATÓLICA DO PARANÁ - PUC/
PR**



Continuação do Parecer: 7.119.811

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2343816.pdf	21/08/2024 11:11:26		Aceito
Outros	CARTA_DE_RESPOSTA_AO_CEP_PUCPR.pdf	15/07/2024 13:01:30	ÉDIPO GIOVANI FRANÇA LARA	Aceito
Outros	TCUD_assinado.pdf	15/07/2024 12:57:58	ÉDIPO GIOVANI FRANÇA LARA	Aceito
Outros	Solicitacao_de_Isencao_do_Termo_de_Consentimento_Livre_e_EsclarecidoassinadoSEE.pdf	15/07/2024 12:47:48	ÉDIPO GIOVANI FRANÇA LARA	Aceito
Outros	DECLARACAO_DE_COLABORACAO_Selene.pdf	15/07/2024 12:45:59	ÉDIPO GIOVANI FRANÇA LARA	Aceito
Outros	Carta_de_Esclarecimento_TCLE_assinado.pdf	15/07/2024 12:45:22	ÉDIPO GIOVANI FRANÇA LARA	Aceito
Outros	CARTA_AUTORIZACAO_Diretor_Tecnico.pdf	15/07/2024 12:44:11	ÉDIPO GIOVANI FRANÇA LARA	Aceito
Outros	Autorizacao_Chefe_oncologia_assinado.pdf	15/07/2024 12:43:15	ÉDIPO GIOVANI FRANÇA LARA	Aceito
Outros	RESULTADO_EDITAL_INTERNO_03_2023_APOIO_A_PESQUISAS_RELACIONADAS_A_CRIANCAS_E_ADOLESCENTES_Assinado.pdf	15/07/2024 12:41:09	ÉDIPO GIOVANI FRANÇA LARA	Aceito
Outros	Analise_Final_Fomento_fundacao_araucaria.pdf	15/07/2024 12:40:35	ÉDIPO GIOVANI FRANÇA LARA	Aceito
Outros	Autorizacao_Coordenacao_Laboratorio_Multiusuarios_PUCPR.pdf	15/07/2024 12:38:41	ÉDIPO GIOVANI FRANÇA LARA	Aceito
Outros	Autorizacao_Coordenacao_Laboratorio_de_Patologia.pdf	15/07/2024 12:37:38	ÉDIPO GIOVANI FRANÇA LARA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_CEP_NB_PUCPR_HPP.pdf	15/07/2024 12:31:49	ÉDIPO GIOVANI FRANÇA LARA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TALE_HPP_7_12.pdf	13/07/2024 11:12:56	ÉDIPO GIOVANI FRANÇA LARA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_HPP_maiores_18_anos.pdf	13/07/2024 11:12:43	ÉDIPO GIOVANI FRANÇA LARA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_HPP_13_18_anos.pdf	13/07/2024 11:12:31	ÉDIPO GIOVANI FRANÇA LARA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de	TCLE_Consentimento_Pais_HPP_marcado2024_nao_seguimento.pdf	13/07/2024 11:12:05	ÉDIPO GIOVANI FRANÇA LARA	Aceito

Endereço: Rua Imaculada Conceição, nº 1155 - prédio administrativo, térreo
Bairro: Prado Velho **CEP:** 80.215-901
UF: PR **Município:** CURITIBA
Telefone: (41)3271-2103 **Fax:** (41)3271-2103 **E-mail:** nep@pucpr.br

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE
CATÓLICA DO PARANÁ - PUC/
PR



Continuação do Parecer: 7.119.811

Ausência	TCLE_Consentimento_Pais_HPP_marc o2024_nao_seguinto.pdf	13/07/2024 11:12:05	ÉDIPO GIOVANI FRANÇA LARA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE__HPP_pais.pdf	13/07/2024 11:10:56	ÉDIPO GIOVANI FRANÇA LARA	Aceito
Folha de Rosto	folhaDeRosto_prof_a_Selene.pdf	21/05/2024 09:41:50	ÉDIPO GIOVANI FRANÇA LARA	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CURITIBA, 03 de Outubro de 2024

Assinado por:

Rafaella Stradiotto Bernardelli
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Imaculada Conceição, nº 1155 - prédio administrativo, térreo
Bairro: Prado Velho **CEP:** 80.215-901
UF: PR **Município:** CURITIBA
Telefone: (41)3271-2103 **Fax:** (41)3271-2103 **E-mail:** nep@pucpr.br

ANEXOS III - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para os responsáveis legais dos pacientes.



Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Prezado (a) Participante:

Você está sendo convidado (a) a participar (a) da pesquisa intitulada **“Implicações Prognósticas e Terapêuticas de Marcadores Genéticos, Imunológicos, Virais e de Estresse Oxidativo em Neoplasias Hematológicas e Tumores de Wilms, Meduloblastoma e Neuroblastoma”**, que tem por objetivo analisar determinados tipos de moléculas que podem influenciar na doença. Você será esclarecido (a) sobre a pesquisa em qualquer aspecto que desejar.

A participação é totalmente voluntária, podendo recusar-se a participar, ou mesmo desistir a qualquer momento, sem que isto acarrete qualquer ônus ou prejuízo à criança. Esclarecemos, também, que as informações obtidas nos prontuários serão utilizadas somente para os fins desta pesquisa e serão tratadas com o mais absoluto sigilo e confidencialidade, de modo a preservar a sua identidade. Os procedimentos da pesquisa envolvem a obtenção de aproximadamente 4mL de sangue periférico ou 0,5 mL de medula óssea ou blocos de parafina. Este material coletado será suficiente para a realização desta pesquisa, portanto não restará material coletado. Esclarecemos ainda, que você não pagará e nem será remunerado (a) por sua participação.

Em relação aos benefícios, espera-se no final do projeto compreender um pouco sobre a participação das moléculas estudadas no processo imune contra o câncer. O presente estudo não trará nenhum dano físico ao (a) participante, a exceção de algum desconforto relativo a coleta de sangue, que para ser minimizado, será realizada por profissional experiente. A coleta de medula será realizada pelo médico oncopediátrico no centro cirúrgico do Hospital do Câncer de Londrina. Caso ocorra qualquer outro tipo de risco ou desconforto (tanto no âmbito físico, psíquico, moral, intelectual, social, cultural ou espiritual) o participante será prontamente atendido e amparado pelos responsáveis por este projeto, que estarão presentes em todas as coletas.

Caso tenha dúvidas ou necessite de maiores esclarecimentos poderá contatar Dra. Marla Karine Amarante, Laboratório de Estudos de Polimorfismos, Departamento de Patologia, Análises Clínicas e Toxicológicas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina, Av. Robert Koch, 60- Operária, Londrina- PR 86038-350, Telefone: (43) 3371-2322, celular (43) 999903100, e-mail: marla@uel.br, ou procurar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina, situado junto ao LABESC – Laboratório Escola, no Campus Universitário, telefone 3371-5455, e-mail: cep268@uel.br. Este termo deverá ser

preenchido em duas vias de igual teor, sendo uma delas devidamente preenchida, assinada e entregue ao responsável.

Pesquisador Responsável:

Dra. Marla Karine Amarante

Eu, (nome) _____, declaro que fui devidamente esclarecido
(a) sobre os procedimentos do estudo e concordo em permitir a participação **voluntaria** do (a) meu
(minha) **filho(a)** _____.

Assinatura pai, mãe ou responsável (ou impressão dactiloscópica):

Data: _____

ANEXOS IV - Termo de Assentimento para indivíduos maiores de 5 anos de idade.



Termo de Assentimento

Prezado (a) Participante:

Eu, Marla Karine Amarante, coordenadora do projeto “**Implicações Prognósticas e Terapêuticas de Marcadores Genéticos, Imunológicos, Virais e de Estresse Oxidativo em Neoplasias Hematológicas e Tumores de Wilms, Meduloblastoma e Neuroblastoma**” e pesquisadora da Universidade Estadual de Londrina (UEL), juntamente com outros pesquisadores da UEL e do Hospital do Câncer de Londrina (HCL), estamos investigando fatores (moleculares e infecciosos) que podem influenciar nestas doenças. De forma benéfica, os resultados desse estudo poderão responder a relação dos fatores com a doença e possíveis novos exames para um diagnóstico precoce. Para isso, precisamos analisar materiais de pacientes voluntários e seus prontuários, pois essas informações são muito importantes para estes estudos. Os materiais necessários são: sangue (cerca de 4 mL), ou saliva, ou medula óssea (0,2 mL), ou blocos de parafina de material tumoral que já foram coletados e analisados pelos médicos patologistas. Estes materiais serão suficientes para a realização desta pesquisa e não serão necessárias novas coletas.

Você gostaria de participar dessa pesquisa?

Informamos que você será **bem informado** sobre a pesquisa no que desejar saber e que sua **participação é totalmente voluntária**. Você pode não querer, ou desistir de participar a qualquer momento, sem nenhum prejuízo a você e você não receberá nenhum pagamento pela participação.

As informações dos prontuários serão utilizadas somente para esta pesquisa e serão tratadas com o mais absoluto segredo para preservar sua identidade. Este estudo não lhe causará nenhum mal ou dano físico, podendo apenas ocorrer algum desconforto na coleta de sangue, mas para ser minimizado, será realizada por profissional experiente. Na coleta de medula óssea, o médico responsável no Centro Cirúrgico do HCL que realizará a coleta. Mesmo assim, caso aconteça qualquer outro tipo de risco ou desconforto, você será prontamente atendido e amparado pelos responsáveis por este projeto, que estarão presentes em todas as coletas.

Os resultados destas pesquisas serão apresentados em congressos e publicadas em jornais ou revistas científicas, mas em hipótese alguma terão seus dados pessoais revelados.

Caso tenha dúvidas ou necessite de maiores esclarecimentos poderá contatar Dra. Marla Karine Amarante, Laboratório de Virologia Básica e Aplicada, Departamento de Microbiologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina, Rodovia Celso Garcia Cid, PR445, Km 380- Campus Universitário, Londrina- PR, 86057-970, celular (43) 999903100, e-mail:

marla@uel.br, ou procurar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina, situado junto ao LABESC – Laboratório Escola, no Campus Universitário, telefone 3371-5455, e-mail: cep268@uel.br. Este termo deverá ser preenchido em duas vias de igual teor, sendo uma delas devidamente preenchida, assinada e entregue ao responsável.

Pesquisador Responsável:

Dra. Marla Karine Amarante

Eu _____ aceito participar desta pesquisa. Entendi que posso dizer “sim” e participar, mas que, a qualquer momento, posso dizer “não” e desistir que ninguém vai ficar furioso.

Os pesquisadores tiraram minhas dúvidas e conversaram com os meus responsáveis legais. Recebi uma cópia deste termo de assentimento e concordo em participar da pesquisa.

Londrina ____ de _____ de _____.

