



UNILA
Universidade Federal
da Integração
Latino-Americana

**INSTITUTO LATINO-AMERICANO DE
CIÊNCIAS DA VIDA E DA NATUREZA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BIOCIÊNCIAS**

**INVESTIGAÇÃO DE MUTAÇÕES GERMINATIVAS NO GENE CDH1 EM PACIENTES
ONCOLÓGICOS RESIDENTES NO MUNICÍPIO DE MISSAL/PR**

GEOVANNA MARQUES MOREIRA BERTIM

Foz do Iguaçu, Estado do Paraná

2023

**INVESTIGAÇÃO DE MUTAÇÕES GERMINATIVAS NO GENE CDH1 EM PACIENTES
ONCOLÓGICOS RESIDENTES NO MUNICÍPIO DE MISSAL/PR**

GEOVANNA MARQUES MOREIRA BERTIM

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, do Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza, da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientador(a): Profa. Dra. Maria Leandra Terencio

Foz do Iguaçu, Estado do Paraná

2023

GEOVANNA MARQUES MOREIRA BERTIM

**INVESTIGAÇÃO DE MUTAÇÕES GERMINATIVAS NO GENE CDH1 EM PACIENTES
ONCOLÓGICOS RESIDENTES NO MUNICÍPIO DE MISSAL/PR**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, do Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza, da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências.

BANCA EXAMINADORA

Dr(a). Maria Leandra Terencio
Orientador(a)
UNILA

Dr(a). Maria Claudia Gross
Examinador(a)
UNILA

Dr(a). Leila Braga Ribeiro
Examinador(a)
UFRR

Foz do Iguaçu, Estado do Paraná, 13 de dezembro de 2023.

Catálogo elaborado pelo Setor de Tratamento da Informação
Catálogo de Publicação na Fonte. UNILA - BIBLIOTECA LATINO-AMERICANA - PTI

B543

Bertim, Geovanna Marques Moreira.

Investigação de mutações germinativas no Gene CDH1 em pacientes oncológicos residentes no município de Missal - PR / Geovanna Marques Moreira Bertim. - Foz do Iguaçu, 2023.

95 f.: il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza, Programa de Pós-Graduação em Biociências. Foz do Iguaçu - PR, 2024.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Leandra Terencio.

1. Variantes germinativas. 2. Câncer gástrico. 3. Câncer de mama. I. Terencio, Maria Leandra. II. Título.

CDU 575.853:616-006

À minha família que apoiou e incentivou
minha caminhada até aqui. Sem vocês eu
nada seria.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer à minha orientadora Prof^a. Dr^a. Maria Leandra Terencio, pessoa incrível e inspiradora, que me deu a oportunidade de participar desse projeto e mais que isso, me abriu portas e me mostrou caminhos que eu nem imaginava que existiam. Por toda paciência, todos os ensinamentos, conselhos e palavras de conforto, obrigada, mil vezes obrigada! Você faz parte da profissional que eu sou e nunca esquecerei tudo que aprendi com você.

Agradeço também minha família que fez tudo isso ser possível e sempre acreditaram em mim, especialmente minha mãe Patrícia, meus avós Sérgio e Maria José, meus irmãos Alexandre e Sérgio Henrique e meu companheiro Pietro. Vocês são a motivação da minha vida! Essa conquista também é de vocês.

Aos meus amigos de longa data, obrigada por todos os momentos de encorajamento e por acreditarem sempre que eu era capaz de conquistar o mundo, em especial: Viviane, Isabela, Gustavo, Rafael, Aline, Jeniffer e Taiane.

Aos meus amigos de Foz do Iguaçu que me acolheram como família nos dias mais difíceis, me fazendo rir e me apoiando: Aline, Alexandre e Maria.

Às colegas de laboratório por todos os momentos de risadas e apoio científico, Rafaela, Natália, Maria, Patrícia e Emma.

À secretária do PPG-Biociências, em especial, ao servidor Erwin Becker, por sempre ajudar em tudo de bom grado. Obrigada por sua organização, comprometimento e disponibilidade. Você é o salvador dos alunos do PPG!

Gostaria de agradecer também a todos os pacientes e participantes desse estudo por confiarem em nosso trabalho e a Prefeitura de Missal, em especial, ao Diego Longo que sempre estava auxiliando em minhas solicitações com o sistema SYSGEO.

Agradeço à agência de fomento CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelo apoio financeiro que me permitiu concluir meu projeto e me manter em Foz do Iguaçu/PR.

Por fim, agradeço à UNILA e ao PPG-BC e todo corpo docente.

“Toda criança sonha em ter um superpoder e somente na vida adulta, no encontro com o mundo real, isso se torna possível: o poder de enxergar e criar a vida a partir dos próprios olhos e das próprias experiências.”

MALAFAIA, dos Passos Larissa (2023).

BERTIM, Geovanna Marques Moreira. 2023. **Investigação de mutações germinativas no gene CDH1 em pacientes oncológicos residentes no município de Missal/PR**. Orientadores: TERCENIO, Maria Leandra (orientadora). 95 f.. Dissertação (Mestrado) – PPG-BC (Programa de Pós-Graduação em Biociências), UNILA (Universidade Federal da Integração Latino-Americana), Foz do Iguaçu.

RESUMO

As neoplasias malignas são atualmente uma das principais causas de mortalidade no Brasil e no mundo. Sua alta incidência está fortemente ligada a hábitos e estilos de vida que atuam como fatores de risco para o desenvolvimento do câncer. O município de Missal, localizado no oeste do Paraná-Brasil, representa com destaque essa realidade, pois nos últimos anos uma análise comparativa de seus indicadores de assistência oncológica ambulatorial e hospitalar, bem como de taxas de mortalidade, apontou valores elevados quando comparados às populações vizinhas. Variantes germinativas do gene CDH1 estão relacionadas ao câncer gástrico, câncer de mama e outros tumores não gástricos. Nesse contexto, esta pesquisa teve como objetivo investigar alterações no gene CDH1 por meio de sequenciamento capilar em pacientes oncológicos residentes no município de Missal. Este estudo incluiu 33 pacientes oncológicos não aparentados com diagnóstico de câncer gástrico, de mama, colorretal e pancreático. Os éxons 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 13, 14 e 15 foram triados, incluindo regiões intrônicas adjacentes aos éxons, permitindo a identificação de possíveis mutações em sítios de *splicing*. Também foram analisados fatores de risco associados ao adoecimento oncológico como: idade do diagnóstico, hábitos de consumo alimentar, uso de álcool e tabaco, uso de anticoncepcional e terapia de reposição hormonal e sobrepeso. No total, foram identificadas 3 variantes germinativas, duas *missense* (c.1849G>A e c.1936A>G) e uma mutação sinônima (c.462A>G). Nenhuma variante germinativa patogênica do gene CDH1 foi identificada na população do estudo. Ainda, as análises estatísticas mostraram que a população amostrada possui histórico familiar de câncer, idade média do diagnóstico oncológico inferior ao da idade média brasileira e fatores de riscos significativos para o adoecimento oncológico.

Palavras-chave: variantes germinativas; câncer gástrico; câncer de mama.

BERTIM, Geovanna Marques Moreira. 2023. ***Investigation of germline mutations in the CDH1 gene in cancer patients living in the city of Missal/PR***. Advisors: TERCENIO, Maria Leandra (advisor). 95 s.. *Master's thesis (Master's degree) – PPG-BC (Graduate Program in Biosciences), UNILA (Federal University of Latin American Integration), Foz do Iguaçu.*

ABSTRACT

Malignant neoplasms are currently one of the main causes of mortality in Brazil and worldwide. Its high incidence is strongly linked to habits and lifestyles that act as risk factors for the development of cancer. The municipality of Missal, located in the west of Paraná-Brazil, represents this reality prominently, as in recent years a comparative analysis of its indicators of outpatient and hospital oncological care, as well as mortality rates, showed high values when compared to the populations neighbors. Germline variants of the CDH1 gene are related to gastric cancer, breast cancer and other non-gastric tumors. In this context, this research aimed to investigate changes in the CDH1 gene through hair sequencing in cancer patients living in the municipality of Missal. This study included 33 unrelated cancer patients diagnosed with gastric, breast, colorectal, and pancreatic cancer. Exons 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 13, 14 and 15 were screened, including intronic regions adjacent to the exons, allowing the identification of possible mutations in splice sites. Risk factors associated with cancer illness were also analyzed, such as: age at diagnosis, food consumption habits, use of alcohol and tobacco, use of contraceptives and hormone replacement therapy and excess weight. In total, 3 germline variants were identified, two missense (c. 1849G>A and c.1936A>G) and one synonymous mutation (c.462A>G). No pathogenic germline variants of the CDH1 gene were identified in the study population. Furthermore, statistical analyzes showed that the sampled population had a family history of cancer, an average age of oncological diagnosis lower than the Brazilian average age and significant risk factors for oncological diseases.

Keywords: *germline variants; gastric cancer; breast cancer.*

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Características relacionadas ao desenvolvimento do câncer..... | 18 |
| Figura 2. Estrutura da proteína E-caderina..... | 21 |
| Figura 3. Esquema mostrando o complexo caderina-catenina..... | 22 |
| Figura 4. Desenvolvimento de câncer gástrico..... | 23 |
| Figura 5. Consequências da inativação da proteína E-caderina..... | 25 |
| Figura 6. Estrutura da E-caderina evidenciando pontos mutacionais..... | 26 |
| Figura 7. Técnica de extração de DNA em coluna..... | 32 |
| Figura 8. Representação esquemática de anelamento dos primers no gene CDH1..... | 35 |
| Figura 9. Gel contendo a amplificação de amostras pelos <i>primers</i> 3 e 8..... | 36 |
| Figura 10. Eletroferograma mostrando a região onde foi encontrada a mutação..... | 45 |
| Figura 11. Eletroferograma mostrando a região onde foi encontrada a mutação c.1936A>G | 45 |
| Figura 12. Eletroferograma mostrando a região onde foi encontrada a mutação c.462A>G | 46 |
| Figura 13. Consequências previstas pela análise in silico no <i>software VEP</i> | 47 |
| Figura 14. Consequências em relação a codificação previstas pelo <i>software VEP</i> | 48 |
| Figura 15. Consequências previstas no <i>software VEP</i> para as mutações <i>missenses</i> c.1936A>G e c.1849 A>G..... | 49 |
| Figura 16. Consequências previstas no <i>software VEP</i> para a mutação sinônima c.462A>G | 49 |

ÍNDICE DE GRÁFICOS

| | |
|--|----|
| Gráfico 1. Frequência absoluta do consumo de álcool pela população geral de Missal e a parcela da população em estudo..... | 51 |
| Gráfico 2. Hábitos de consumo de frutas da população geral de Missal e da parcela da população em estudo..... | 52 |
| Gráfico 3. Hábitos de consumo de legumes e verduras da população geral de Missal e da parcela da população em estudo..... | 53 |
| Gráfico 4. Hábitos de consumo de industrializados da população geral de Missal e da parcela da população em estudo..... | 54 |
| Gráfico 5. Hábitos de consumo de alimentos embutidos da população geral de Missal e da parcela da população em estudo..... | 54 |
| Gráfico 6. Hábitos de consumo de doces da população geral de Missal e da parcela da população em estudo..... | 55 |
| Gráfico 7. Hábitos de consumo de frituras da população geral de Missal e da parcela da população em estudo..... | 55 |
| Gráfico 8. Hábitos de consumo de carnes da população geral de Missal e da parcela da população em estudo..... | 56 |
| Gráfico 9. Frequência relativa de todas as variáveis de consumo alimentar na população geral de Missal e na parcela da população em estudo..... | 57 |
| Gráfico 10. Frequência relativa das variantes relacionadas ao risco de adoecimento por câncer de mama na população geral de Missal e na parcela da população em estudo.... | 59 |

ÍNDICE DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1. Quantificação de DNA das amostras..... | 34 |
| Tabela 2. <i>primers</i> utilizados na amplificação das amostras..... | 35 |
| Tabela 3. Dados da parcela da população em estudo..... | 42 |
| Tabela 4. Mutações encontradas no sequenciamento das amostras..... | 44 |
| Tabela 5. Análise <i>in silico</i> das variantes <i>missenses</i> de acordo com os <i>softwares SIFT, PolyPhen e VEP</i> | 48 |
| Tabela 6. Frequência de consumo de álcool e tabaco na população geral de Missal e na parcela da população em estudo..... | 50 |
| Tabela 7. Variação estatística entre a população geral de Missal e a parcela da população em estudo em relação as variáveis 'Consumo de álcool' e 'Tabagismo'..... | 51 |
| Tabela 8. Frequência de consumo alimentar na população geral de Missal e na parcela da população em estudo..... | 52 |
| Tabela 9. Variação estatística entre a população geral de Missal e a parcela da população em estudo em relação as variáveis de consumo alimentar..... | 57 |
| Tabela 10. Frequência relativa e frequência absoluta das variantes relacionadas ao risco de adoecimento por câncer de mama na população geral de Missal e na parcela da população em estudo..... | 58 |
| Tabela 11. Variação estatística entre a população geral de Missal e a parcela da população em estudo em relação as variáveis de consumo alimentar..... | 59 |
| Tabela 12. Fatores de risco acumulados pelas pacientes portadoras de câncer de mama..... | 60 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|-------------------|--|
| ABRAOM | Arquivo Brasileiro Online de Mutações |
| A | Adenina |
| BLAST | Basic Local Alignment Search Tool |
| BRCA1 | <i>Breast cancer 1 gene</i> |
| BRCA2 | <i>Breast cancer 2 gene</i> |
| CDH1 | <i>Human Cadherin 1</i> |
| CDKN2A | <i>Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 2A</i> |
| CEP | Comitê de Ética em Pesquisa |
| CONEP | Comissão Nacional de Ética em Pesquisa |
| DGC | <i>Diffuse gastric cancer</i> |
| DNA | Ácido desoxirribonucleico |
| Dntp | Desoxirribonucleotídeo trifosfatado |
| EDTA | Ácido etilenodiaminotetracético |
| G | Guanina |
| HDGC | Câncer Gástrico Difuso Hereditário |
| HGVS | <i>Human Genome Variation Society</i> |
| IBGE | Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística |
| INCA | Instituto Nacional do Câncer |
| LOVD | <i>Leiden Open Variation Database</i> |
| LPCM | Laboratório de Pesquisa em Ciências Médica |
| mg | Miligramas |
| MgCL ₂ | Cloreto de magnésio |
| mL | Mililitros |
| mRNA | RNA mensageiro |
| NCBI | <i>National Center for Biotechnology Information</i> |
| OMS | Organização Mundial de Saúde |
| PCR | Reação em cadeia da polimerase |
| pH | Potencial hidrogeniônico |
| PR | Paraná |
| RB1 | Retinoblastoma 1 |
| RPM | Rotações por minuto |
| SNP | <i>Single Nucleotide Polimorphism</i> |
| TBE | Tampão tris-borato-EDTA |
| TP53 | <i>Tumor Supressor Gene TP53</i> |
| uL | Microlitro |

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| RESUMO | 7 |
| ABSTRACT | 8 |
| ÍNDICE DE FIGURAS | 9 |
| ÍNDICE DE GRÁFICOS | 10 |
| ÍNDICE DE TABELAS | 11 |
| LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS | 12 |
| 1. INTRODUÇÃO | 15 |
| 1.1. Referencial teórico | 15 |
| 1.1.1. Missal..... | 15 |
| 1.1.2. Câncer: dados epidemiológicos..... | 16 |
| 1.1.3. Câncer: etiologia e patogênese..... | 18 |
| 1.1.4. Principais fatores de risco..... | 20 |
| 1.1.5. Câncer gástrico hereditário..... | 20 |
| 1.1.6. Câncer gástrico hereditário e o gene CDH1..... | 21 |
| 1.1.7. Câncer de mama hereditário e o gene CDH1..... | 24 |
| 1.1.8. Mutações germinativas identificadas no gene CDH1..... | 25 |
| 1.1.9. Rastreamento molecular e manejo clínico para portadores de mutação germinativa em CDH1..... | 27 |
| 1.2. Justificativa | 28 |
| 1.3. Hipótese | 29 |
| 2. OBJETIVOS | 30 |
| 2.1. Geral | 30 |
| 2.2. Específicos | 30 |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS | 31 |
| 3.1. Aspectos éticos | 31 |
| 3.2. Seleção dos grupos familiares e coleta de dados | 31 |
| 3.3. Procedimentos Laboratoriais | 32 |
| 3.3.1. Coleta de amostras..... | 32 |
| 3.3.2. Extração de DNA e quantificação..... | 32 |
| 3.3.3. Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)..... | 34 |
| 3.3.4. Sequenciamento de DNA..... | 37 |
| 3.3.4.1. <i>Purificação</i> | 37 |
| 3.3.4.2. <i>Reação de sequenciamento</i> | 37 |
| 3.3.4.3 <i>Precipitação</i> | 38 |
| 3.4. Análise de dados | 38 |
| 3.4.1. Edição e alinhamento das sequências..... | 38 |
| 3.4.2. Análise in silico das variantes..... | 39 |
| 3.4.3. Análise dos fatores de risco associados..... | 40 |
| 4. RESULTADOS | 41 |

| | |
|--|----|
| 4.1. Perfil demográfico da população de estudo..... | 41 |
| 4.2. <i>Análise das sequências e variantes</i> | 44 |
| 4.3. Análise in silico das variantes..... | 46 |
| 4.4. Estilo de vida da população amostrada com relação aos fatores de risco..... | 49 |
| 4.5. Análise dos fatores de risco associados ao câncer de mama..... | 57 |
| 5. DISCUSSÃO..... | 61 |
| 5.1. Variantes descritas em literatura..... | 61 |
| 5.1.1. c.1849G>A..... | 61 |
| 5.1.2. c.1936G>A..... | 64 |
| 5.1.3. c.462A>G..... | 65 |
| 5.2. Missal e o perfil populacional..... | 66 |
| 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 73 |
| 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 74 |
| APÊNDICES..... | 89 |
| Apêndice A – Tabela de diluição dos <i>primers</i> | 89 |
| Apêndice B – Amostras sequenciadas por cada par de <i>primer</i> | 90 |
| ANEXOS..... | 91 |
| Anexo A – Parecer substanciado do CEP..... | 91 |
| Anexo B – Formulário de entrevista..... | 92 |
| Anexo C – Formulário de entrevista..... | 93 |
| Anexo D – Formulário de entrevista..... | 94 |
| Anexo E – Termo de consentimento livre esclarecido..... | 95 |

1. INTRODUÇÃO

As neoplasias malignas são hoje uma das principais causas de mortalidade no Brasil e no mundo. Sua alta incidência possui forte ligação com hábitos e estilos de vida que atuam como fatores de risco para o desenvolvimento do câncer. O município de Missal, localizado no oeste paranaense, representa de forma proeminente essa realidade, uma vez que nos últimos anos uma análise comparativa de seus indicadores de produção ambulatorial e hospitalar para tratamento oncológico, bem como as taxas de mortalidade, indicaram valores elevados quando comparados a populações vizinhas. Dados levantados pela Secretaria Municipal de Saúde do município apontavam que para o ano 2016, o câncer era a segunda maior causa de óbito da região, estando os cânceres de trato gastrointestinal e mama.

Variantes germinativas do gene CDH1 foram identificadas pela primeira vez em famílias com câncer gástrico difuso hereditário (HDGC), porém estudos posteriores revelaram que esta predisposição também se estende ao câncer mama lobular e outros tumores não gástricos, como câncer colorretal e de pâncreas. Neste contexto, o objetivo desta pesquisa foi investigar alterações no gene CDH1, em pacientes oncológicos residentes no município de Missal (Guilford *et al.*, 1998; Massari *et al.*, 2021; Adib *et al.*, 2021), bem como caracterizar hábitos da dieta/estilo de vida destes pacientes.

O conhecimento e a identificação dos genes envolvidos nos processos neoplásicos é de suma importância uma vez que permite uma melhor compreensão da doença e traz novos aportes informacionais que podem contribuir com o fechamento do diagnóstico, com a forma de tratamento e garantir um melhor prognóstico.

1.1. Referencial teórico

1.1.1. Missal

Missal é um município localizado na região sul do Brasil e ao oeste do estado do Paraná que foi colonizado durante a década de 60 por imigrantes católicos de origem alemã, os quais estavam previamente estabelecidos no estado do Rio Grande do Sul. Em meados da década de 1980, somente com a dissolução de Medianeira, Missal foi oficialmente reconhecido como município. De acordo com o último censo, possui uma população de 11.064 habitantes e suas principais atividades econômicas são a agricultura e a pecuária (IBGE, 2022; Prefeitura de Missal, 2017).

Nos últimos anos o município apresentou um aumento no reporte de registros relacionados a procedimentos oncológicos, que podem se encontrar ligados ao estilo de vida da população e o ambiente em que essa está inserida uma vez que as principais fontes econômicas podem atuar como fatores de influência. Conforme dados da Rede de Assistência à Saúde, disponibilizados pelo TABNET (DATASUS), é observado que as neoplasias assumem a segunda posição tanto em termos de pacientes ambulatoriais quanto de internações, ficando apenas atrás das doenças respiratórias. Quanto aos registros de mortalidade, constata-se que os tumores ocupam o segundo lugar, correspondendo a 21% do total, enquanto as doenças do aparelho circulatório lideram as estatísticas de óbitos. No que concerne à distribuição por faixa etária, a incidência de tumores predomina principalmente entre indivíduos com idades entre 50 e 64 anos, seguidos pelo grupo etário de 20 a 49 anos.

1.1.2. Câncer: dados epidemiológicos

Câncer é a segunda principal causa de óbitos no mundo, atingindo países em todos os níveis socioeconômicos, sendo responsável por quase 10 milhões de mortes no ano de 2020. Com relação ao número de diagnósticos, 19,3 milhões de novos casos de câncer foram diagnosticados a nível mundial no ano de 2020 e estima-se que esse número cresça na medida em que as populações envelhecem, se expandem e adotam novos comportamentos em seu estilo de vida que elevam o risco de desenvolvimento cancerígeno. Os tipos de câncer mais diagnosticados a nível mundial são responsáveis por 60% do total de novos casos, dentre eles, encontram-se o câncer de pulmão (2,2 milhões de casos); câncer de mama (2,3 milhões de casos); câncer colorretal (1,9 milhão de casos); câncer de próstata (1,4 milhão de casos); e câncer de estômago (1,1 milhão de casos) (INCA, 2022; Ferlay *et al.*, 2021).

Dentre os tipos de cânceres com maior incidência em nível global, o câncer gástrico se encontra como a quarta principal causa de morte por câncer em ambos os sexos, com maior prevalência no sexo masculino (Yang *et al.*, 2023; Sung *et al.*, 2021). Em torno de um milhão de casos são diagnosticados a cada ano em todo o mundo, sendo o 5º câncer mais diagnosticado e o 7º em prevalência. Sua incidência é altamente variável, uma vez que fatores externos como localização geográfica e cultura estão intimamente ligados ao seu desenvolvimento. Encontram-se maiores taxas de prevalência na Ásia Oriental e Central e na América Latina, enquanto a África se destaca como região onde as taxas

possuem valores reduzidos quando em comparação com outras regiões (Rawla & Barsouk, 2019; Zhao *et al.*, 2023).

No Brasil, a incidência de casos de cânceres relacionados ao trato gastrointestinal compreende grande parte das neoplasias notificadas no país até o presente momento. De acordo com dados disponibilizados pelo INCA em 2021, em homens, foram notificados 309.750 novos casos de câncer, sendo que, dentre eles o câncer localizado na cavidade oral representa 5,0% (11.200 casos); câncer de esôfago 3,9% (8.690 casos); câncer de estômago 5,9% (13.360 casos); e câncer de cólon e reto 9,1% (20.540 casos). Nas mulheres foram notificados 316.280 novos casos, sendo o câncer de cólon e reto 9,2% desses (20.470 casos); e o câncer de estômago 3,5% (7.870 casos).

Ainda, o relatório disponibilizado contendo as estimativas para 2023 apontam que 704 mil novos casos de câncer serão diagnosticados, sendo que, para os homens os tipos mais frequentes de adoecimento oncológico em novos casos serão dados por câncer de pele não melanoma, com 102 mil casos; câncer de próstata, com 72 mil casos; câncer de cólon e reto, com 22 mil casos; câncer de pulmão, com 18 mil casos; câncer de estômago, com 13 mil casos; e cavidade oral, com 11 mil novos casos. Já para as mulheres, as estimativas mostram que devem ser notificados como principais responsáveis pelos novos casos os cânceres de pele não melanoma, com 118 mil casos; mama, com 74 mil casos; cólon e reto, com 24 mil casos; colo do útero, com 17 mil casos; pulmão, com 15 mil casos; e tireoide, com 14 mil novos casos (INCA, 2022).

Segundo a distribuição geográfica de casos no país, as regiões sul e sudeste concentram cerca de 70% da incidência dos novos casos. Para o ano de 2023 no estado do Paraná estima-se a notificação de 36,9 mil casos de câncer por ano, totalizando 110 mil novos diagnósticos. Segundo a localização primária da neoplasia maligna, e considerando a incidência por 100 mil habitantes, o câncer de mama feminino aparece em primeiro lugar com 3.650 novos casos. Já dentre os cânceres relacionados ao trato gastrointestinal, o câncer de cólon e reto aparece em 3º lugar com 2.560 novos casos; câncer de estômago em 5º lugar com 1.350 casos e câncer de pâncreas em 14º lugar com a estimativa de 830 novos casos. Estas estimativas revelam aumento da incidência de cânceres do trato gastrointestinal no estado do Paraná, quando comparada aos demais estados do país. Ainda, relatórios anteriores já traziam informações sobre altas taxas de câncer diagnosticadas no estado, sendo que entre os anos 2014 e 2018, 32,5 mil novos casos de câncer foram notificados anualmente no estado (INCA, 2021; INCA, 2022).

1.1.3. Câncer: etiologia e patogênese

Câncer é a terminologia genérica aplicada a um conjunto de mais de 100 doenças que tem em comum o crescimento desordenado de células com capacidade invasiva que surgem como resultado de uma série de mutações somáticas, que podem ou não, ter uma predisposição herdada associada (Strachan & Read, 2013).

A origem dos tumores malignos em humanos é um processo de múltiplas etapas caracterizado pelo acúmulo de alterações genéticas que impulsionam, de forma progressiva, a transformação de células saudáveis em derivados altamente malignos. Além da invasividade, as células neoplásicas precisam adquirir as seguintes capacitações básicas para se tornarem cancerosas (Figura 1): sustentar a sinalização proliferativa; evitar supressores de crescimento; resistir à morte celular; adquirir imortalidade replicativa; induzir angiogênese; reprogramar o metabolismo energético e evitar a destruição imunológica. Esse processo de tumorigênese é retroalimentado pelo acúmulo de danos no DNA, levando a instabilidade genômica e estresse mitótico (Hanahan & Weinberg, 2000; Hanahan & Weinberg, 2011; Strachan & Read, 2013; Matthews *et al.*, 2022).

Figura 1. Características relacionadas ao desenvolvimento do câncer



Fonte: Modificado de Hanahan & Weinberg, 2011.

Os oncogenes e os genes supressores tumorais são os principais alvos de mutações significativas com potencial cancerígeno. Isto acontece porque estes genes normalmente desempenham papéis fundamentais na manutenção do equilíbrio fisiológico celular. Os oncogenes ERBB2 (HER2), RAS, BRAF e MYC, se destacam por estarem envolvidos na tumorigênese dos cânceres mais frequentes na população, tais como mama, ovário, gástrico, pulmão e colo. Dentre os supressores tumorais, destacam-se BRCA1, BRCA2, TP53, RB1, CDH1 e CDKN2A (Kenemans *et al.*, 2004; Carvalho *et al.*, 2020; Silva Carvalho *et al.*, 2020; Boutelle & Attardi, 2021; Zhao *et al.*, 2023).

Além das mutações genéticas, mudanças herdáveis ou adquiridas em nível de expressão gênica também podem ser responsáveis pelo desenvolvimento de neoplasias malignas, sendo estas, chamadas de alterações epigenéticas. Tais alterações persistem na expressão genética resultando em mudanças na estrutura da cromatina sem que haja modificação na sequência de DNA da célula. A geração e disponibilidade em larga escala de dados epigenéticos de todo o genoma ampliou o leque investigativo das doenças em nível molecular, tais como os papéis dos mecanismos de metilação do DNA no desenvolvimento do câncer. Genes supressores tumorais são muitas vezes silenciados epigeneticamente por metilação (Strachan & Read, 2013; Dmitrijeva *et al.*, 2018; Campagna *et al.*, 2021; Pérez *et al.*, 2022).

Os cânceres do trato gastrointestinal são doenças consideradas heterogêneas e são resultantes de um longo e múltiplo processo de acumulação gradual de alterações a nível genético e epigenético, levando à desregulação das vias oncogênicas e supressoras de tumor. Grande parte das neoplasias gástricas são do tipo adenocarcinomas, ou seja, lesões em que as células tumorais crescem em um padrão glandular. Estas podem ser decompostas em dois tipos, de acordo com a classificação histomorfológica de Lauren: forma difusa e forma intestinal. Os tumores difusos são formados por lesões pouco diferenciadas e infiltrativas que não demonstram evidências de formações glandulares. Dentre as duas formas apresentadas, a primeira encontra-se mais associada com a hereditariedade (Molina Castro *et al.*, 2017; Cerrato-Izaguirre *et al.*, 2021; Carneiro, 2022; Cosma *et al.*, 2022; Kole *et al.*, 2022). Os tumores intestinais seguem uma linha evolutiva por meio de uma série de etapas, sendo o início destas uma gastrite crônica que progride para atrofia da mucosa e posteriormente para metaplasia intestinal, displasia e carcinoma com subsequente metástase. Estudos apontam a participação do *Helicobacter pylori* (H pylori) em todas as etapas do processo (Cutait, 2001; Smith *et al.*, 2006).

1.1.4. Principais fatores de risco

Os cânceres gastrointestinais são doenças multifatoriais que possuem influência direta com fatores ambientais, demográficos e genéticos. Alguns desses fatores de risco são considerados não modificáveis, enquanto outros são tidos como fatores potenciais (Karimi *et al.*, 2014).

Os principais fatores de risco modificáveis são os associados ao estilo de vida inadequado, como sedentarismo, obesidade, uso de álcool e tabagismo, onde o risco aumenta de acordo com a quantidade consumida; dietas ricas em sal e carne vermelha e processada, infecções por microrganismos como a bactéria *H. Pylori* e o vírus Epstein-Bar e exposição química, como trabalhos com processamento de metais. Entre os fatores de risco não modificáveis destacam-se a idade avançada do paciente, sendo a faixa etária média de diagnósticos de aproximadamente 70 anos; o sexo, uma vez que homens possuem uma maior taxa de incidência da doença; e as características hereditárias, principalmente a presença de variantes patogênicas germinativas, muito comuns nas Síndromes Hereditárias do Câncer (Tsugane & Sasazuki, 2007; Boysen *et al.*, 2009; Howlader *et al.*, 2011; Karimi *et al.*, 2014; Mukaisho *et al.*, 2015; World Cancer, 2017; Bray *et al.*, 2018; Praud *et al.*, 2018; Guindalini *et al.*, 2019; Kim *et al.*, 2019; Machlowska *et al.*, 2020; Deng *et al.*, 2021; Bar-Mashiah *et al.*, 2022; Wu *et al.*, 2022; Corso *et al.*, 2023; Zhao *et al.*, 2023).

1.1.5. Câncer gástrico hereditário

O desenvolvimento do câncer gástrico na maior parte das vezes é esporádico, entretanto, 1 a 3% corresponde aos casos caracterizados pela Síndrome Hereditária de Câncer Gástrico (Guindalini *et al.*, 2019). De acordo com Lancaster *et al.*, 2015, uma síndrome hereditária de câncer ocorre em indivíduos possuintes de predisposições genéticas para determinados tipos de câncer, o que pode levar os mesmos ao desenvolvimento precoce da doença em decorrência da herança de mutações patogênicas de linha germinativa em um ou mais genes. A maior parte das síndromes hereditárias ocorre de forma autossômica dominante.

Nesse contexto, o câncer gástrico difuso (Diffuse gastric cancer- DGC) é o tipo de câncer mais bem caracterizado e muito frequente em heranças familiares. O mesmo, compreende um adenocarcinoma pouco diferenciado que se infiltra na parede do estômago fazendo com que ali haja um espessamento, sem formar uma massa distinta. O DGC, possui uma característica única marcada pelo aparecimento histológico de focos de célu-

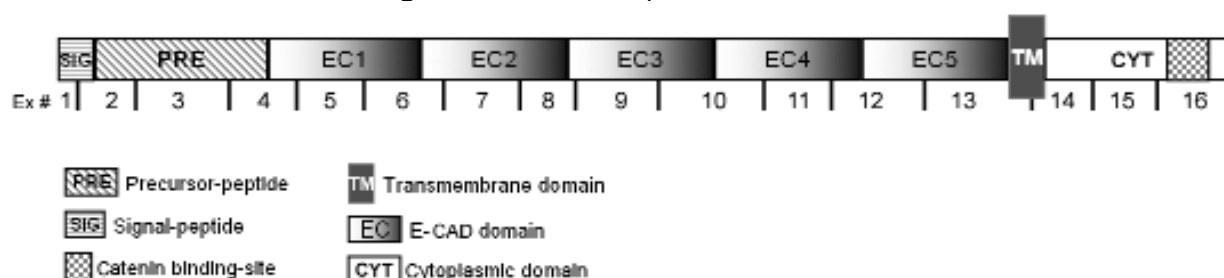
las tidas como anel de sinete. Em famílias onde há dois ou mais casos da doença difusa em parentes de primeiro ou segundo grau, utiliza-se o termo Câncer Gástrico Difuso Hereditário (Hereditary diffuse gastric cancer- HDGC), ou Síndrome Hereditária de Câncer Gástrico. Na maioria destas, observa-se o aparecimento de um caso de câncer gástrico difuso diagnosticado antes dos 40 anos de idade e um ou mais casos de câncer de mama lobular diagnosticado antes dos 50 anos (Fewings *et al.*, 2018; Kaurah & Huntsman, 2018; Corso & Bonanni, 2020; Corso *et al.*, 2020; Carneiro, 2022; Gregory & Davis, 2023).

Estudos indicam que a faixa etária média de início do HDCG é de 38 anos, podendo variar entre e dentro das famílias. Nos estágios iniciais da doença, os sintomas são inespecíficos, sendo os mesmos geralmente detectados pelo indivíduo ou pelos profissionais de saúde quando a doença se encontra em estágio avançado. Na fase tardia, os sintomas incluem dor abdominal, náusea, vômito, disfagia, plenitude pós-prandial, perda de apetite e perda de peso. Em fase metastática, pode-se haver aumento do fígado, icterícia, ascite, nódulos cutâneos e fraturas (Kaurah & Huntsman, 2018; Kole *et al.*, 2022; Lim *et al.*, 2023).

1.1.6. Câncer gástrico hereditário e o gene *CDH1*

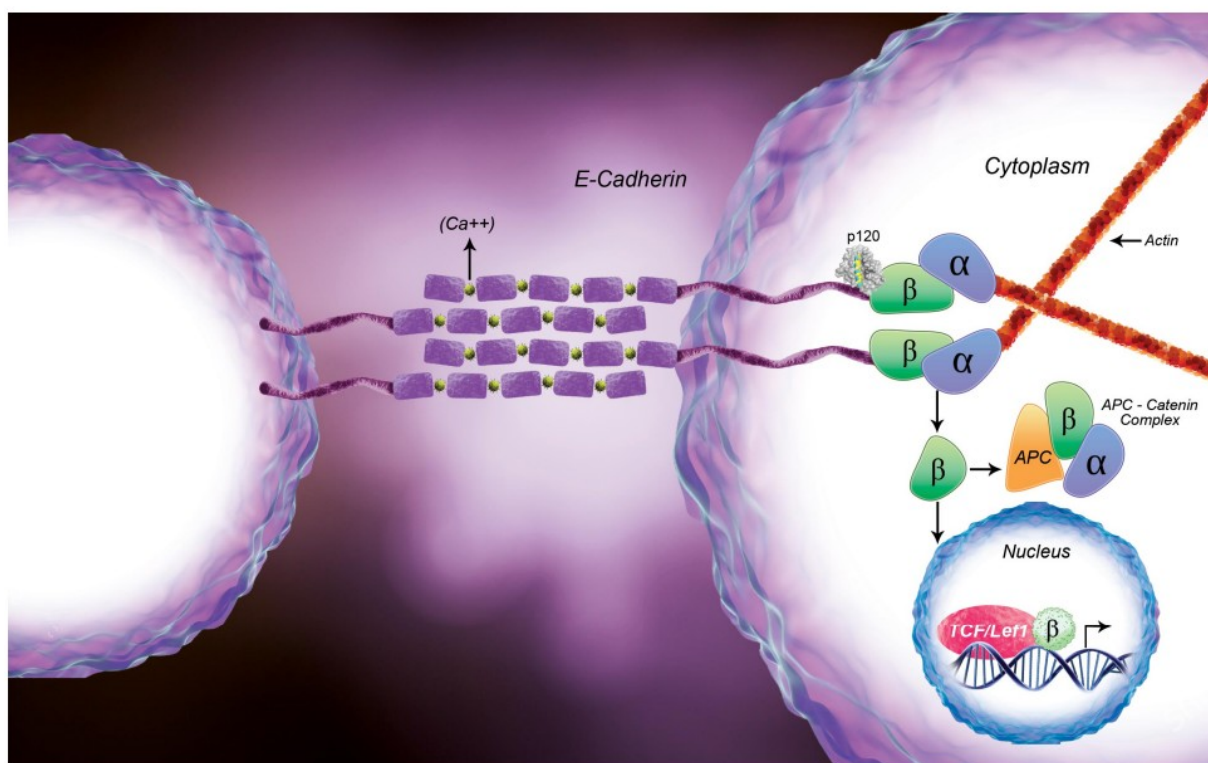
Cerca de 30% dos casos de HDCG está relacionada com mutações germinativas no gene *CDH1*, um supressor tumoral que codifica a proteína E-caderina. Tal gene possui por volta de 100KB e se localiza no braço curto do cromossomo 16q22, compreendendo 16 éxons e 15 íntrons (Hansford *et al.*, 2015; Oliveira *et al.*, 2006). A proteína codificada por ele, a E-caderina, é integrante da família das caderinas, que consiste em um grupo de glicoproteínas que realizam a mediação da adesão célula-célula dependente de cálcio, expressa em tecidos epiteliais. Os 16 éxons do gene da E-caderina codificam um peptídeo de sinal de 27 aminoácidos, um peptídeo precursor de 154 aminoácidos e uma proteína madura de 728 aminoácidos (Figura 2).

Figura 2. Estrutura da proteína E-caderina



Quando madura a E-caderina possui três domínios distintos, sendo eles um domínio extracelular, um domínio transmembranar e um domínio citoplasmático, os quais a capacitam para interagir com outras proteínas e realizar processos relacionados com a membrana plasmática da célula. Sua função adesiva é resultado da interação ocorrente entre seu domínio citoplasmático com cateninas, sendo elas a B-catenina e Y-catenina, que se ligam a caderina por intermédio de uma α -catenina e o citoesqueleto da actina. Quando fosforilada, a B-catenina regula a adesão célula a célula por meio da E-caderina, formando o complexo caderina/catenina (Figura 3). Adiante, a B-catenina possui uma importante interação com a proteína supressora de tumor APC, o que a torna uma das peças-chave durante o processo de desenvolvimento tumoral (Aberle *et al.*, 1996; Berx *et al.*, 1998; Guindalini *et al.*, 2019).

Figura 3. Esquema mostrando o complexo caderina-catenina



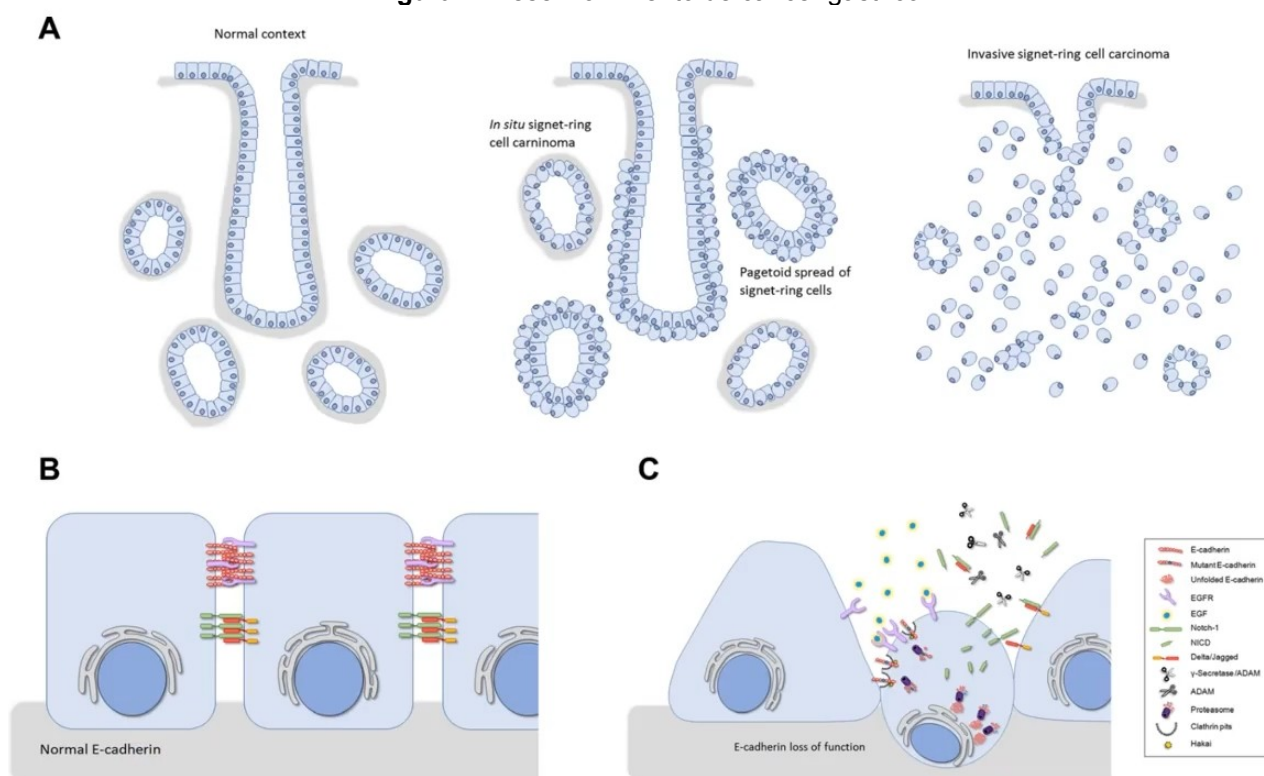
Fonte: Guindalini, 2016.

Em tecidos adultos, a E-caderina auxilia na manutenção da homeostase do epitélio e transpõe sinais do meio extracelular para o núcleo para possíveis alterações na expressão do gene (Luo *et al.*, 2018; Kole 2022). Sendo assim, as mutações encontradas na proteína E-caderina, em sua maioria, são do tipo truncadas. Isso faz com que o gene produza uma proteína anormalmente curta e não funcional, muitas vezes resultan-

do na perda completa da mesma devido ao desenvolvimento de códon de parada prematuros.

A deficiência de E-caderina leva a perda de função em diversos processos celulares e pode comprometer a capacidade de sobrevivência das células, sua redução ou ausência foi detectada em diversos tipos de câncer. Juntamente com as mutações no gene *CDH1* e alterações genéticas e epigenéticas na glicoproteína, ocorre a ruptura do complexo formado entre caderina e catenina, complexo caderina-catenina, que é essencial para processos celulares ligados à adesão, resultando então em um aumento da motilidade celular seguido de um decurso na morfologia epitelial e consecutivo aumento da invasividade tumoral por meio da transição epitelial-mesenquimal, onde uma célula perde sua capacidade de adesão e sua polaridade apical. Essa condição é correlativa com estágio avançado e mau prognóstico da doença (Figura 4) (Gall & Frampton, 2013; Corso *et al.*, 2014; Shenoy, 2019; Cosma *et al.*, 2022).

Figura 4. Desenvolvimento de câncer gástrico



Fonte: Corso *et al.*, 2014.

De acordo com Shenoy, 2019, a herança presente no HDGC é do tipo autossômica dominante, sendo a suscetibilidade a doença condicionada a herança de ao menos uma cópia da variante patogênica. Entretanto, nos casos de HDGC, ambos os alelos do gene *CDH1* devem ser silenciados para a perda da proteína E-caderina. Estudos mostram que

o segundo alelo é silenciado por meio de hipermetilação do sítio promotor de *CDH1*, resultando em perda da heteroziguidade, mutações somáticas e silenciamento epigenético. Portanto, o desenvolvimento e a progressão do HDCG se encontram pautados em um processo com vários estágios, com a perda precoce da E-caderina conferindo motilidade as células e a subsequente perda de outros genes modificadores, como o TP53, potencializando a invasividade dessas e levando a tumorigênese (Luo *et al.*, 2018).

Um ponto importante a se considerar em relação a estrutura da E-caderina é que o domínio citoplasmático tende a apresentar um acúmulo de mutações. Essa estrutura em específico desempenha um papel fundamental na proteína, pois dá suporte a montagem do complexo de cateninas que fornecem a ancoragem ao citoesqueleto de actina para realizar a adesão célula a célula. Sendo assim, essa região configura um ponto vulnerável e as mutações ali presente conferem danos que podem levar a perda total da função proteica (Melo *et al.*, 2017).

1.1.7. Câncer de mama hereditário e o gene *CDH1*

Estudos envolvendo o papel E-caderina em outros tipos de câncer demonstram que mutações na proteína levam a redução de sua expressão em cânceres de pele, cabeça, pulmão, mama, tireoide, cólon e ovário (Wijnhoven *et al.*, 2000).

De acordo com Hansford 2015, a penetrância das mutações germinativas descritas para o gene *CDH1* é alta e está diretamente relacionada com aumento do risco de câncer gástrico e câncer de mama. Uma sequência de eventos está ligada a perda da expressão da proteína em tumores gástricos e de mama que ocorrem de forma somática, como mutações somáticas pontuais, perda de heteroziguidade, hipermetilação do promotor e repressão da transcrição proteica (Corso *et al.*, 2020; Silva Carvalho *et al.*, 2020; Massari *et al.*, 2021) (Figura 5).

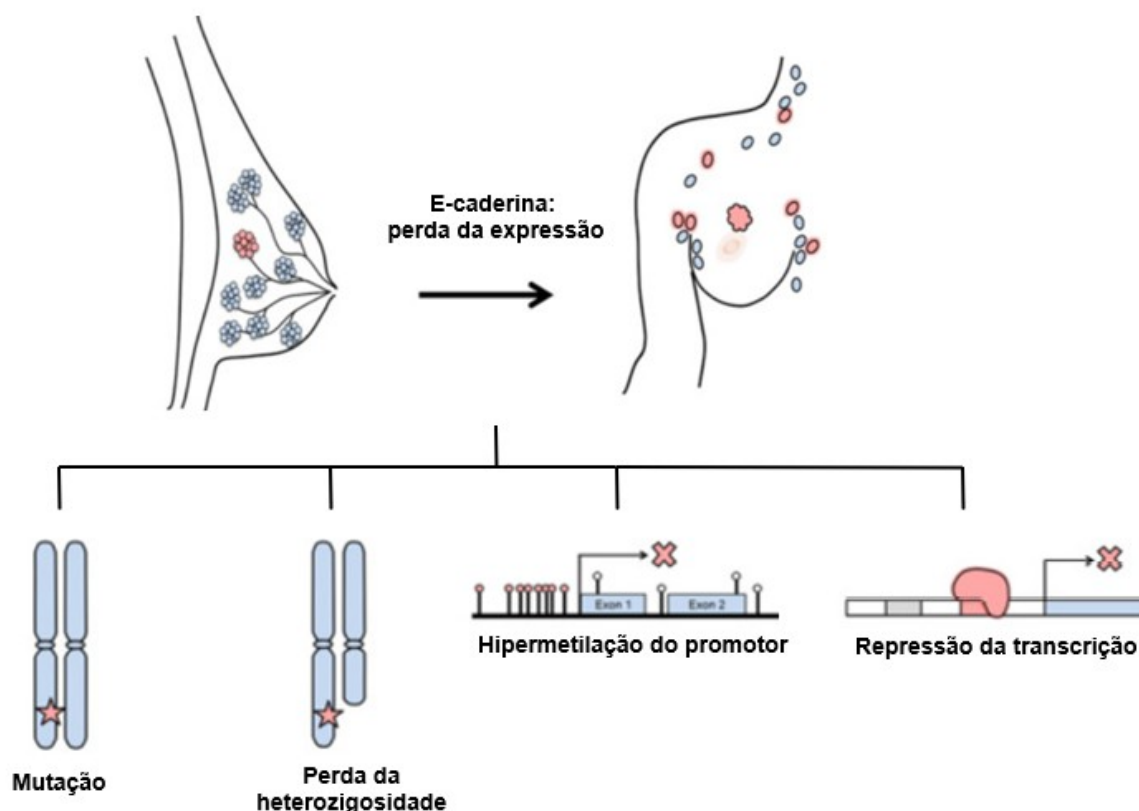
A função regular da E-caderina no câncer de mama é de inibição de metástase. Porém, diante da inativação somática da proteína, se apresentam padrões agressivos de câncer com invasão linfovascular e metástase, sendo um evento precoce no câncer de mama lobular *in situ* e um precursor do câncer de mama lobular invasivo (Liu *et al.*, 2017; Yang *et al.*, 2018). Nesse contexto, mutações no gene *CDH1*, inativadoras de E-caderina, tem sido frequentemente descritas em casos de câncer de mama, principalmente em casos em que o câncer se torna invasivo (Corso *et al.*, 2018).

A hipermetilação do promotor *CDH1* é o mecanismo predominante de perda de expressão da E-caderina em casos de tumores não gástricos. Entretanto, mutações do

gene podem atuar diretamente na ligação de moléculas a sequências específicas de DNA, reprimindo a transcrição da proteína e ativando genes mesenquimais que promovem a transição epitelial-mesenquimal e levam a perda da adesão celular (Liu *et al.*, 2014; Lamouille *et al.*, 2014; Massari *et al.*, 2021).

Atualmente a literatura atribui que o risco de câncer de mama para mulheres portadoras de mutação no CDH1 é de 42% e que metade dos casos diagnosticados como carcinomas lobulares invasivos, possuem ligação com mutações no gene CDH1 seguida da perda adicional de heterozigiosidade da proteína em seu locus cromossômico, sendo esses os dois fatores determinantes para disfunção proteica e perda de expressão (Hansford, 2015; Hanby & Hughes, 2008; Yang *et al.*, 2018; Silva Carvalho, 2020; Corso *et al.*, 2020; Adib *et al.*, 2021).

Figura 5. Conseqüências da inativação da proteína E-caderina



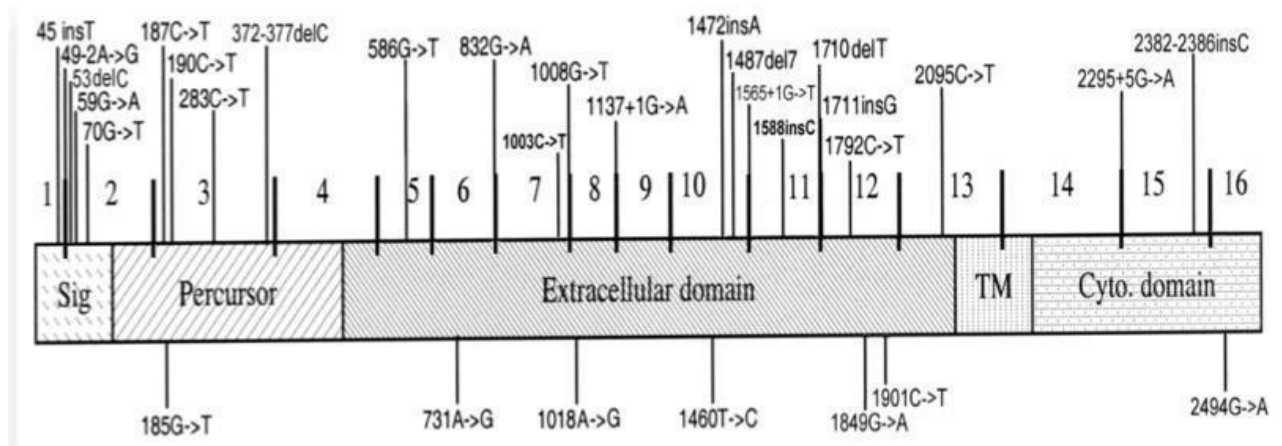
Fonte: Adaptado de Corso *et al.*, 2020.

1.1.8. Mutações germinativas identificadas no gene CDH1

Grande parte das mutações presentes no gene CDH1 não possuem seu significado clínico totalmente elucidado. Entretanto, muitas dessas mutações se apresentam como truncadas, levando a perda completa da proteína codificada pelo gene devido a ocorrência de códons de parada prematuros (Shenoy, 2017). As alterações genéticas se encon-

tram espalhadas por todo gene, onde também se destacam as alterações do tipo *missense*, que levam a substituição de um aminoácido e desencadeiam a perda parcial da função proteica (Melo *et al.*, 2017; Corso *et al.*, 2018; Corso *et al.*, 2023). A figura 6 destaca as principais regiões onde ocorrem mutações com significância clínica descritas para a E-caderina.

Figura 6. Estrutura da E-caderina evidenciando pontos mutacionais



Fonte: Oliveira, 2006.

Em 1998, Guilford *et al.*, identificaram a primeira associação genética entre mutações de linha germinativa no gene *CDH1* e síndrome hereditária em três famílias na Nova Zelândia por meio de análise de ligação. Desde então, mais de 122 variantes patogênicas germinativas já foram identificadas para o *CDH1* em todo o mundo. Destas, em 4% dos casos estudados trata-se de grandes deleções e em 30% trata-se de alterações *missense* encontradas em regiões de alta incidência de adenocarcinoma gástrico, tais como o leste asiático e a América Latina (Hansford *et al.*, 2015; Cerrato-Izaguirre *et al.*, 2022).

Na América do Sul, 46 variantes germinativas já foram descritas e o Brasil é o país com o maior número de variantes relatadas. No Chile foram identificadas 11 variantes: (c.285C>A; c.197A>C; c.48p6C>T; c.88C>A; c.531p10G>C; c.1272A>T; c.1531C>T; c.1893A>T; c.2052C>T; c.2076T>C e c.2253C>T), na Colômbia foram identificadas duas variantes: (c.2245C>T; c.1913G>A); na Argentina foi identificada apenas uma variante germinativa: (c.1913G>A); no Brasil foram identificadas 30: (c.48p6C>T; c.49-59G>T; c.163p57G>A; c.163p59G>C; c.313T>A; c.324A>G; c.345G>A; c.387G>T; c.387p27C>T; c.388-44G>A; c.531p10G>C; c.532-18C>T; c.833-16C>G; c.1676G>A; c.1806C>A; c.1849G>A; c.1896C>T; c.1937e13T>C; c.2076T>C; c.2164p16InsA; c.2253C>T; c.2439p10C>T; c.2439p56T>G; c.2634C>T; c.160C>A; c.347GInsGA; c.1763-176DelTG; c.185G>T; c.1018A>G e c. 1023T>G e no México foram identificadas duas variantes

(c.160C>A; c.347Gln>GA) (Kaurah *et al.*, 2007; Van Donselaar *et al.* 2007; Do Nascimento Borges *et al.*, 2010; Moreira-Nunes *et al.*, 2014; de Campos *et al.*, 2015; El-Husny *et al.*, 2016; Guindalini *et al.*, 2019; Norero *et al.*, 2019; Cerrato-Izaguirre *et al.*, 2022).

Conforme observado, o Brasil e o Chile são os países que geram mais dados genéticos relacionados ao cenário mutacional dos adenocarcinomas gástricos. Nos demais países da América Latina a escassez destas informações dificulta a implementação de programas clínicos envolvendo medicina de precisão e manejo de grupos familiares com necessidade de aconselhamento genético (Corso *et al.* 2011; Guindalini *et al.* 2014; Cerrato-Izaguirre *et al.*, 2022).

1.1.9. Rastreamento molecular e manejo clínico para portadores de mutação germinativa em CDH1

Em casos de HDGC e outras síndromes hereditárias é adotado como parecer clínico primordial o teste genético de linha germinativa, uma ferramenta clínica que possibilita a identificação de síndromes de predisposição ao câncer ou indivíduos com alto risco de desenvolver câncer gástrico (Slavin *et al.*, 2019).

A identificação de mutações patogênicas no genoma do indivíduo pode ser utilizada para avaliações de risco, gestão e vigilância da doença e terapias profiláticas acerca do HDGC (Fewings *et al.*, 2018). A penetrância das mutações germinativas no gene *CDH1* é alta, e o risco de desenvolvimento de HDGC para indivíduos nascidos com uma mutação patogênica no gene *CDH1* é de cerca de 70%, podendo essa possibilidade permanecer até os 80 anos de idade. Esse fato destaca a importância de identificar indivíduos portadores de mutações para que estratégias de rastreamento molecular sejam empregadas corretamente para que seja feito o manejo clínico correto do paciente (Hansford *et al.*, 2015; Van Der Post *et al.*, 2019).

Sendo assim, em 2015, a International GC Linkage Consortium, ampliou os critérios para avaliação do risco de desenvolvimento de HDGC em famílias a partir de testes para averiguar a existência de mutações de linha germinativa no gene *CDH1*. Os testes devem ser oferecidos a qualquer indivíduo ou núcleo familiar que cumpram os seguintes critérios: família com dois ou mais casos documentados de Câncer Gástrico, independentemente da idade, em parentes de primeiro e segundo grau, sendo um desses Câncer Gástrico Difuso confirmado; histórico pessoal de Câncer Gástrico Difuso apresentado antes dos 40 anos; antecedentes pessoais ou familiares de Câncer Gástrico Difuso e câncer de mama lobular que foram diagnosticados antes dos 50 anos; indivíduo com diagnóstico

de células em anel de sinete ou disseminação pagetóide das mesmas (Van Der Post *et al.*, 2019).

Atualmente, aos pacientes que preenchem os critérios para avaliação de risco elaborados pela International GC Linkage Consortium e consentem em investigar a mutação presente no *CDH1*, são oferecidos testes de rastreamento e aconselhamento genético, geralmente, com acompanhamento de uma equipe multidisciplinar. As análises genéticas atribuídas buscam averiguar a existência de grandes e pequenas mutações, sendo o sequenciamento Sanger e o Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA), os mais utilizados (Mastoraki *et al.*, 2011; Van Der Post *et al.*, 2019).

Quando identificados previamente, indivíduos portadores de mutação no *CDH1* são orientados por um profissional habilitado a realizar a gastrectomia total profilática como método preventivo, uma vez que, grande parte dos procedimentos endoscópicos isolados não identificam a maioria das lesões precoces. Caso o paciente opte pela não realização do procedimento, é recomendado vigilância endoscópica protocolada e acompanhamento com patologistas. O mesmo também é recomendado a famílias nas quais a mutação germinativa ainda não foi identificada (Van Der Post *et al.*, 2019; Corso *et al.*, 2020; Bar-Mashiah *et al.*, 2022; Cosma *et al.*, 2022; Lim *et al.*, 2023).

1.2. Justificativa

Nos últimos anos, o município de Missal/PR, na região oeste do estado do Paraná, apresentou um acentuado aumento no número de registros nos procedimentos ambulatoriais oncológicos, fazendo com que as neoplasias passassem a ocupar a segunda posição no quadro de incidência populacional e mortalidade no município. As faixas etárias de 50-64 anos, e de 20-29, destacam-se com maior prevalência quanto a presença (19,6%) e a mortalidade (37,5%) por neoplasias.

Tendo em vista que o município fora colonizado, em sua maioria, descendentes de alemães provenientes do Rio Grande do Sul, que é o estado brasileiro com o maior número de cidades onde o câncer é a primeira causa de morte, o adoecimento oncológico nessa população pode estar sendo influenciado de maneira significativa pela composição genética dos mesmos.

Considerando que variantes germinativas do gene *CDH1* já foram e seguem sendo identificadas em vários tipos de cânceres, inclusive em tumores não gástricos, o presente projeto visou rastrear o gene *CDH1* e caracterizar os hábitos da dieta/estilo de vida de pacientes oncológicos portadores de câncer gastrointestinal e câncer de mama, residentes na

cidade de Missal, de forma a contribuir com informações que possam ser utilizadas para a elaboração e adoção de políticas de promoção da saúde, prevenção e detecção precoce.

1.3. Hipótese

- variantes patogênicas do gene *CDH1* estão presentes na maioria dos casos população em estudo;
- variantes patogênicas germinativas do gene *CDH1* são responsáveis pelo adoecimento oncológico da maioria dos pacientes com diagnóstico precoce da população em estudo; e
- a população amostrada acometida por câncer mama no município de Missal/PR possui variantes germinativas no gene *CDH1*

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

Identificar e caracterizar mutações germinativas no gene CDH1 em pacientes oncológicos portadores de câncer gastrointestinal e câncer de mama e, quando necessário, seus familiares, residentes no Município de Missal-PR.

2.2. Específicos

- identificar mutações germinativas do gene CDH1 em pacientes diagnosticados com cânceres do sistema gastrointestinal e mama, por meio da técnica de sequenciamento genético de Sanger;
- caracterizar os hábitos de vida e de exposição a fatores de risco na população em estudo e correlacioná-los com os dados genéticos; e
- contribuir com informações sobre a influência do gene CDH1 no perfil de adoecimento oncológico local, a fim de possibilitar o desenvolvimento de estratégias de prevenção condizentes com as necessidades da população.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Aspectos éticos

O presente projeto configurou-se como um dos objetivos propostos no Projeto “*Estabelecimento Do Perfil De Adoecimento Oncológico Da População De Missal/Pr*”, desenvolvido por meio de uma parceria entre a Universidade Federal da Integração Latino-Americana e a Prefeitura Municipal e a Secretaria de Saúde de Missal/PR. O mesmo foi aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa (CEP)/ Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)/Plataforma Brasil, CAAE número 79421517.9.0000.0107 (Anexo 1).

3.2. Seleção dos grupos familiares e coleta de dados

Para o estudo, foram convidados a participar, de forma voluntária, os pacientes com mais de 18 anos diagnosticados com câncer gastrointestinal e câncer de mama, residentes no município de Missal há três anos ou mais. Para participarem do rastreamento genético, os pacientes passaram por uma entrevista com temáticas pré-estabelecidas e padronizadas, onde responderam um questionário para obtenção de dados pessoais (idade, raça, ancestralidade, nível de escolaridade, cidade em que mora, zona da cidade que mora), questões relacionadas às condições de moradia, renda familiar, hábitos de vida (hábitos de fumo, consumo de bebidas alcoólicas e prática regulares de exercício), e informações sobre possíveis exposições a agrotóxicos (Anexo 2).

Para enquadramento do paciente em câncer hereditário, considerou-se o histórico familiar positivo para qualquer tipo de câncer, informado pelos pacientes nos questionários, considerando o grau de parentesco, excluindo familiares que não possuíam consanguinidade, como por exemplo, esposa, marido, cunhado etc.

A coleta de informações foi conduzida pela parceria entre o Laboratório de Pesquisas em Ciências Médicas (LPCM) da UNILA e a Prefeitura Municipal de Missal, com a colaboração de agentes comunitários de saúde responsáveis pela aplicação direta de questionários aos residentes de Missal que participaram do estudo populacional. Para garantir a qualidade das entrevistas, todos os envolvidos passaram por um treinamento abrangente sobre os tópicos relevantes para a condução das entrevistas, incluindo a leitura de materiais informativos e simulações práticas. Os dados obtidos por meio dos questionários foram compilados e estão disponibilizados no sistema SYSGEO <<https://sysgeo.com.br/sistemas>>.

Em todos os casos foi adotado um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 3), que foi lido e assinado pelo participante.

3.3. Procedimentos Laboratoriais

3.3.1. Coleta de amostras

Dos indivíduos que se enquadraram nos critérios previamente estabelecidos, foram coletados 6 mL de sangue periférico, por punção venosa, em tubos estéreis identificados contendo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) (50uL de EDTA (k3) a 15%), utilizando agulhas e seringas descartáveis. Todas as amostras foram armazenadas em freezer - 20°C para posterior processamento e análise, no Laboratório de Pesquisa em Ciências Médicas (LPCM) da UNILA.

3.3.2 Extração de DNA e quantificação

Com o intuito de garantir o sigilo dos pacientes que participaram do estudo, todas as amostras coletadas foram enumeradas para posterior utilização.

Para extração de DNA genômico foi utilizada a técnica de extração por coluna (Figura 7) do kit Geno Plus Genomic DNA Extraction Miniprep System (Viogene), realizada de acordo com o protocolo fornecido pelo fabricante e descrita a seguir.



Fonte: Adaptado de Oliveira, 2005.

Para a etapa de lise das células sanguíneas foram pipetados 300µL do sangue total em um microtubo com capacidade de 1,5 mL. A esse tubo foi adicionado 1 mL de *RL buffer*, misturado por inversão e incubado por 5 minutos. Ao final do tempo de incubação, as amostras foram submetidas a centrifugação, a 5000 RPM, por três minutos. Em seguida o sobrenadante foi descartado e foi adicionado as mesmas, 0,8 mL de *RL buffer*, sen-

do essas novamente submetidas ao processo de centrifugação, por 2 minutos. Após a centrifugação, 20µL de *Proteinase K* e 180µL de LYS buffer foram adicionados às amostras as quais foram homogeneizadas em agitador *vórtex* por 20 segundos e incubadas a 60°C por 30 minutos. A cada 5 minutos, as amostras foram homogeneizadas utilizando agitador *vórtex*. Paralelamente a essa etapa de lise, o TE buffer (pH 8,0) foi incubado para aquecimento a 70°C.

Após o tempo de incubação, foram adicionados 300µL de FX Buffer e 200µL de etanol 98% às amostras que foram novamente homogeneizadas por inversão e centrifugadas a 8000 RPM por 2 minutos. O conteúdo total foi transferido para uma coluna de extração contendo uma membrana de sílica acoplada a um tubo coletor e submetido a um processo de lavagem utilizando 0,5 mL de *WS buffer* e centrifugação a 15000 RPM por 2 minutos. Após a centrifugação, o tubo coletor foi descartado e a coluna contendo a membrana de sílica foi disposta em um novo tubo coletor. Este procedimento foi repetido por mais duas vezes a fim de garantir a retirada de todos os resíduos e impurezas que poderiam vir a interferir no processo de PCR e garantir a concentração do DNA.

Após o processo de lavagem deu-se início ao processo de eluição. Nesta etapa as colunas das amostras foram acopladas em um microtubo de 1,5 mL já previamente identificado e o DNA foi eluído com 200µL de *TE buffer* aquecido. Após 5 minutos de repouso, as amostras foram centrifugadas por 2 minutos a 15000 RPM. Ao final da centrifugação, as colunas foram descartadas e o DNA extraído das amostras foi armazenado a -20°C para posterior análise de qualidade.

A quantificação e integridade do DNA extraído das amostras foi verificada em espectrofotômetro *NanoDrop (Thermo Scientific)* com alíquotas de 1 µL. Para garantir a pureza do DNA, foram avaliados os seguintes parâmetros de absorbância: $A_{260}/A_{230} \geq 1,7$ (Avaliar contaminação por sais, polissacarídeos e compostos orgânicos) e $260/A_{280} = 1,8$ a 2,0 (Avaliar contaminação por proteínas). Além disso, a integridade da banda também foi analisada por eletroforese padrão (com tampão Tris-Borato-EDTA 1X e corrida a 70 V por 40 minutos) em gel de agarose 1% usando-se 2 µL DNA. A visualização do DNA no gel, corado com *BlueGreen*, foi feita no fotodocumentador *Loccus*.

Todas as 33 amostras passaram pelo processo de extração de DNA. A confirmação da concentração do DNA extraído foi realizada a partir da quantificação de concentração de cada amostra, utilizando o espectrofotômetro *NanoDrop*, e por meio da corrida eletroforética em gel de agarose para confirmação da presença do DNA extraído. Conforme observado na tabela 1, todas as amostras apresentaram DNA em boa concentração, as quais foram padronizadas na concentração de 10ng/µl.

Tabela 1. Quantificação de DNA das amostras

| Nº da amostra de DNA | [] de DNA (ng) | Nº da amostra de DNA | [] de DNA (ng) |
|-------------------------|-----------------|-------------------------|-----------------|
| 1 | 23,5 | 73 | 19,4 |
| 4 | 12,9 | 77 | 20,7 |
| 16 | 11,9 | 79 | 19,9 |
| 17 | 16,7 | 80 | 41,6 |
| 21 | 11,6 | 81 | 13,5 |
| 23 | 21,7 | 94 | 13,9 |
| 25 | 30,4 | 99 | 25,6 |
| 45 | 25,0 | 102 | 39,1 |
| 49 | 17,6 | 108 | 54,0 |
| 53 | 15,2 | 109 | 27,2 |
| 54 | 17,0 | 127 | 39,0 |
| 57 | 19,7 | 130 | 19,1 |
| 62 | 24,9 | 132 | 21,4 |
| 63 | 16,6 | 133 | 24,4 |
| 64 | 14,3 | 179 | 39,6 |
| 66 | 15,6 | 180 | 27,6 |
| 71 | 27,6 | | |

Fonte: Bertim, 2023.

Após as análises de integridade e quantificação, as amostras ficaram armazenadas em freezer -20°C do banco de amostras do LPCM até o momento da amplificação das regiões de interesse.

3.3.3. Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

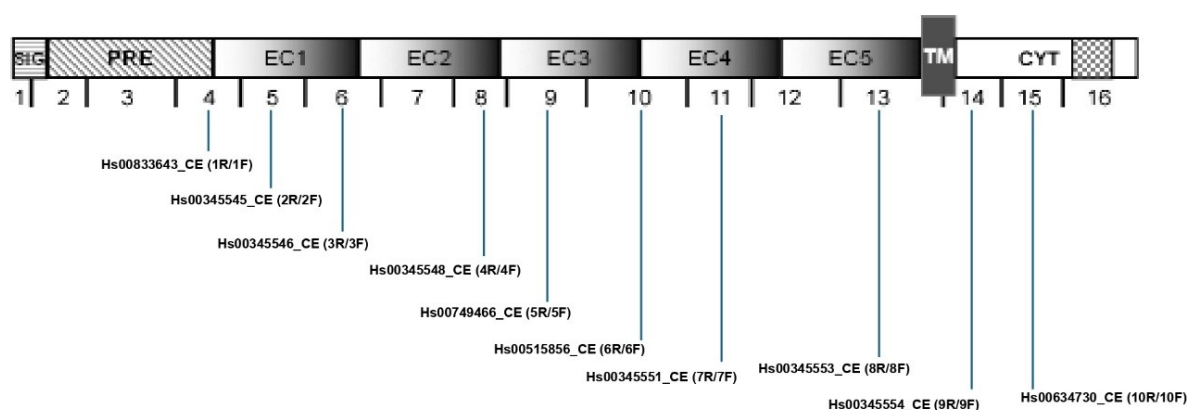
Para amplificação das regiões de interesse do gene *CDH1* foram utilizados 10 pares de *primers* conforme especificado na tabela 2. Os *primers* elencados neste estudo anelam em regiões que permitem o rastreamento de toda área de interesse dos exons 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 13, 14 e 15, inclusive regiões intrônicas próximas aos exons, permitindo a identificação de possíveis mutações em sítios de *splicing*.

Todos os oligonucleotídeos foram selecionados a partir do catálogo da *Thermo Fisher Scientific* por se ligarem em regiões do gene *CDH1* que apresentam variantes germinativas com significância clínica já descritas (Figura 8).

Tabela 2. *primers* utilizados na amplificação das amostras

| Primer | Sentido | Sequência (5' - 3') | Éxon | Região de codificação | Tamanho | Primer ID |
|--------|-----------|------------------------------|------|-----------------------|---------|---------------|
| 1R | Senso | TTGGTTTTGTTTTGATTGGTCATTTTGG | | | | |
| 1F | Antisenso | ACCCAGTCTCTCTTCTGTCTTCT | 4 | 68808233-68808506 | 274 pb | Hs00833643_CE |
| 2R | Senso | CAGAGAAGTACCAAGGAGAGAAAGG | | | | |
| 2F | Antisenso | ACAGGTTGACATCTTGGGTCTAAA | 5 | 68808608-68809115 | 508 pb | Hs00345545_CE |
| 3R | Senso | GGTCTCAGAGCCTAGGAAGGTG | | | | |
| 3F | Antisenso | AAGGGAAGATTGTTCTTAAACTCTCC | 6 | 68808608-68809115 | 476 pb | Hs00345546_CE |
| 4R | Senso | GAGGTTCCGTGCCTAGAAGAC | | | | |
| 4F | Antisenso | TGAGACTATGAAATCAGTAGGTGCTT | 8 | 68811998-68812512 | 515 pb | Hs00345548_CE |
| 5R | Senso | GCCAAGCAGCAGTACATTCTACA | | | | |
| 5F | Antisenso | CTGCAAGTCAGTTGAAAAATCCTCAC | 9 | 68815530-68815791 | 262 pb | Hs00749466_CE |
| 6R | Senso | CCGGCCTATTGTTGGTTTTCAAAT | | | | |
| 6F | Antisenso | GAATGAACTCTCCCTCCAAAAGAA | 10 | 68819150-68819517 | 368 pb | Hs00515856_CE |
| 7R | Senso | TAGACTTGGTCTGGTGAAGGCAAT | | | | |
| 7F | Antisenso | GCATGCTACAAAGTTAGATACCAGGAA | 11 | 68821923-68822423 | 501 pb | Hs00345551_CE |
| 8R | Senso | ACATCTTCAAGTGTATTGAAGGCAG | | | | |
| 8F | Antisenso | CTCACTGAGGTGCAGAACAGTA | 13 | 68828032-68828527 | 496 pb | Hs00345553_CE |
| 9R | Senso | CACAGCCTATATCTGGATCCACACA | | | | |
| 9F | Antisenso | CAGGCAAGCTGAAAACATAGTAAAG | 14 | 68829418-68829916 | 499 pb | Hs00345554_CE |
| 10R | Senso | CCATTTCACTTTCTCTTCCATCAACAAC | | | | |
| 10F | Antisenso | AAÇACGAGCAGAGAATCATAAGGC | 15 | 68833075-68833348 | 274 pb | Hs00634730_CE |

Fonte: Bertim, 2023.

Figura 8. Representação esquemática de anelamento dos primers no gene CDH1

Fonte: adaptado de Oliveira *et al.*, 2006.

Os dez pares de *primers* foram diluídos de acordo com instruções fornecidas pelo fabricante (Apêndice A).

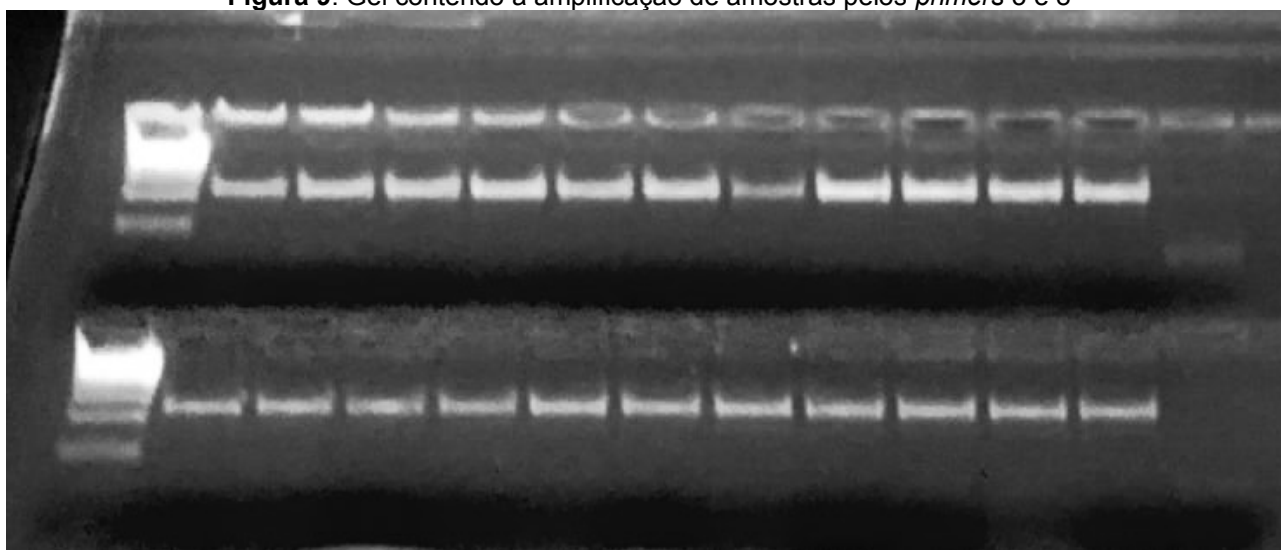
As reações de amplificação foram realizadas em termociclador Eppendorf– Mastercycler Gradient, em reações com volume final de 15 µL contendo: 7,05µL de água ultra-pura, 1,5µL de tampão 10X ((NH₄)₂SO₄ 2M, Tris-HCl 2M, MgCl₂ 1M e Tween 20 a 1%),

3 μ L de dNTP a 2,5 mM, 0,6 μ L para cada *primer*, 0,15 μ L de Taq DNA Polimerase a 1U e 1,5 μ L de DNA.

Para todas as reações de amplificação, o perfil de reação utilizado foi: 94°C por 5 minutos, 35 ciclos de 94°C por 35 segundos, temperatura de anelamento por 40 segundos e 72°C por 40 segundos. Por fim, uma extensão final a 72°C por 5 minutos. As temperaturas de anelamento variaram de acordo com o *primer* utilizado, sendo assim para os *primers* 1, 2, 6, 7, 9 e 10 foi utilizada a temperatura de 58 °C, para os *primers* 5, 8 e 11 foi utilizada a temperatura de 57 °C e para os *primers* 3 e 4 foi utilizada a temperatura de 60 °C para anelamento. Essa variável foi baseada em uma análise de gradientes de temperatura realizada a fim de determinar o melhor pico de amplificação das amostras utilizando os *primers* em questão.

Os produtos de PCR amplificados foram confirmados e validados por eletroforese utilizando gel de agarose 1% preparado com 1,5 g de agarose dissolvida em 150 mL de tampão TBE (*Tris-Borato-EDTA*). A migração dos fragmentos no gel foi realizada em cuba horizontal com tampão TBE 1X a 130V por 40 minutos. Em cada poço no gel foram aplicados 2 μ L de produto de PCR e 1 μ L de Blue Green Loading Dye. Um marcador de peso molecular 1 Kb DNA Ladder (*Thermo Fisher*) foi adicionado ao gel para permitir a confirmação, por comparação, do tamanho da banda amplificada. Após a corrida, as bandas foram visualizadas no transiluminador *L-Pix Touch* (*Loccus*). A figura 9 evidencia a confirmação de amplificação dos *primers* 3 e 8.

Figura 9. Gel contendo a amplificação de amostras pelos *primers* 3 e 8



Fonte: Terencio, 2021.

3.3.4. Sequenciamento de DNA

3.3.4.1. Purificação

Para o processo de purificação, foram adicionados 4µL da solução enzimática Exo-Sap-IT™ (Applied Biosystems) em um microtubo contendo 10µL do produto de PCR. Após, as amostras foram colocadas em um termociclador Veriti™ 96-Well Thermal Cycler, seguindo o seguinte protocolo: 37 °C por 30 minutos para a remoção de oligonucleotídeos não utilizados; 15 minutos a 80 °C para inativar a ExoSap; e, por fim, 10°C por 1 minuto para conservação das amostras.

3.3.4.2. Reação de sequenciamento

O sequenciamento das amostras foi realizado pelo método de Sanger *et al.*, 1977, utilizando terminadores marcados com fluorescência. Para as reações de sequenciamento foi utilizado o kit *Big Dye Terminator v3.1 (ThermoFisher)*, onde cada didesoxinucleotídeo é marcado com fluorescência que é captada pelo sequenciador automático ABI 3500 (*Applied Biosystems*).

As reações de sequenciamento foram feitas em placas com 96 poços para um volume final de 10 µL utilizando 2 µL de produto de PCR purificado, 2 µL de *Big Dye Terminator v3.1 Cycle*, 2 µL de *5X Sequencing Buffer (Applied Biosystems)*, 1 µL de cada *primer* em reações separadas e água em quantidade suficiente para completar o volume. A ciclagem ocorreu no termociclador *Applied Biosystems™ Veriti™*, utilizando 30 ciclos de temperatura. O perfil de reação utilizado foi: 95°C por 1 minuto, seguido de 25 ciclos de 95°C por 10 segundos, 50°C por 5 segundos e 60°C por 4 minutos cada. Ainda, os *primers* utilizados aqui foram os mesmos utilizados na amplificação dos fragmentos por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR).

O sequenciamento das amostras ocorreu de acordo com os procedimentos acima descritos, gerando um arquivo final com 234 sequências. Vale ressaltar que apesar de todas as amostras gerarem produtos de amplificação para todos os *primers*, nem todas geraram sequências com qualidade para serem incluídas na planilha de análises, provavelmente por problemas relacionados as etapas de sequenciamento, mais especificamente na fase de desnaturação com formamida e/ou no momento da injeção devido a concentração inadequada de produto (em quantidade insuficiente ou excessiva) após a reação de precipitação. Uma tabela especificando quais amostras geraram sequencias para cara par de *primer* pode ser visualizada no apêndice A.

Ainda, todas as análises foram realizadas em duplicata para garantir a maior cobertura dos *primers* sob as regiões de codificação alvo.

3.3.4.3 Precipitação

Após a reação de sequenciamento as amostras foram submetidas a um tratamento de precipitação para eliminar resíduos de baixo peso molecular tais como sais, iniciadores e dNTPs não incorporados durante a reação. Neste processo adicionou-se a cada poço da placa 32,5 μL do mix EtOH/EDTA (2,5 μL 125mM EDTA + 30,0 μL de etanol 100%). Após homogeneização em vórtex as placas foram incubadas em temperatura ambiente por 15 minutos, sem contato com direto com a luz. Posteriormente, as placas foram centrifugadas em uma velocidade de 5000 rpm a 4°C por 25 minutos. Posteriormente o sobrenadante foi descartado por inversão em papel toalha para retirada do excesso do mix de precipitação e as placas foram submetidas a centrifugação na velocidade de 300 rpm por 1 minuto.

Após a centrifugação, 30 μL de etanol 70% foi adicionado em cada poço, e as placas foram novamente seladas e centrifugadas a 5000 rpm por 15 minutos na temperatura de 4°C. Ao final, o sobrenadante foi descartado, as placas foram invertidas em papel toalha e novamente centrifugadas a 300 rpm durante 1 minuto. Após esta etapa, e para garantir a evaporação completa do etanol, as placas foram incubadas protegidas da luz em um termociclador *Veriti™ 96-Well Thermal Cycler* por 15 minutos a 37°C.

Em seguida seguiu-se o processo de desnaturação com a adição de 10 μL de formamida Hi-Di™ em cada poço das amostras. Após homogeneização em vórtex, as placas foram incubadas no termociclador a 95°C por 1 minuto. Por fim, as placas foram injetadas em sequenciador automático de eletroforese capilar ABI 3500 (*Genetic Analyzer, Applied Biosystems*), baseado no método de *Sanger*.

3.4. Análise de dados

3.4.1. Edição e alinhamento das sequências

Os eletroferogramas gerados no sequenciamento foram analisados no software de análise de sequências CHROMAS <www.technelysium.com.au/chromas.html>, no qual foi realizado o *trimming* para remoção de bases ou fragmentos de baixa qualidade. Em sequência, de forma individualizada e utilizando o software *Bioedit*, as sequências foram alinhadas e comparadas com a sequência referência do gene CDH1 (Caderina 1-

NM_004360.5), descrita no bando de dados *GenBank* do NCBI <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/1519311738>>.

O alinhamento possibilitou a identificação e isolamento das alterações encontradas que após confirmação de identidade de sequências através do software online BLAST. A nomenclatura das mutações encontradas basearam-se na sequência referência de cDNA do gene CDH1 (Caderina 1- NM_004360.4) e foram classificadas de acordo com o tipo de alteração genética, funcionalidade e frequência, utilizando os seguintes bancos de dados: Arquivo Brasileiro Online de Mutações (ABRAOM); ClinVar; dbSNP; *Leiden Open Variation Database* (LOVD); e *The Human Gene Mutation Database* (HGMD). Vale ressaltar que a descrição das alterações se baseou nas recomendações da *Human Genome Variation Society* (HGVS) (<http://www.hgvs.org/>), com numeração a partir da primeira posição do códon inicial de tradução.

3.4.2. Análise in silico das variantes

A predição de patogenicidade e demais efeitos da variante foi prevista utilizando a ferramenta *VEP* (do inglês, *Variant Effect Predictor*), disponível em <<https://www.ensembl.org/Tools/VEP>>.

Os algoritmos utilizados pela ferramenta fornecem dados variados a partir da coordenada da variante e as alterações do nucleotídeo, incluindo: as consequências das variantes na sequência de proteínas; quais genes e transcritos são afetados pela variante analisada; e scores para predição do impacto funcional da variante em relação ao seu potencial danoso, pelas ferramentas *SIFT* (do inglês, *Sorting Intolerant From Tolerant*) e *PolyPhen* (do inglês, *Polymorphism Phenotyping*).

O *SIFT* utiliza a ferramenta *BLAST* como auxílio para encontrar e alinhar sequências similares a indicada inicialmente na busca e cria uma matriz de valores de posição dessas. A partir dessa matriz, é calculada a probabilidade de substituição e gerado um *score* de 0 a 1 para classificar as variantes, sendo esse valor baseado em dois parâmetros: variante tolerada (se $>0,05$); e prejudicial (se $\leq 0,05$).

A ferramenta *PolyPhen* também emprega um *score*, gerado com auxílio da ferramenta *BLAST*, que varia de 0 a 1 para classificar as variantes como benignas (se $<0,9$) ou prejudiciais (se $\geq 0,9$). No entanto, essa abordagem pode gerar resultados conflitantes ao serem comparados com outras análises.

3.4.3. Análise dos fatores de risco associados

As análises de fatores de risco associados foram realizadas a partir das informações compiladas dos questionários respondidos pela população de Missal e disponibilizados no sistema SYSGEO. As variáveis consideradas na análise foram: idade, gênero, ascendência, uso de tabaco, consumo de álcool, histórico familiar de câncer, idade de diagnóstico, consumo alimentar (consumo de carne vermelha, frituras, doces, frutas, legumes e verduras, embutidos e industrializados), uso de anticoncepcional, uso de terapias de reposição hormonal, sobrepeso e menopausa tardia.

Para a análise das variáveis de consumo alimentar os dados foram tabulados de duas formas, considerando que os indivíduos relataram a frequência de consumo baseada em um padrão semanal que variava entre consumir de 1 a 7 dias na semana ou não consumir. Para a determinação da frequência absoluta e relativa do consumo alimentar, considerou-se como sim quem relatou consumir entre 1 e 7 dias na semana e como não quem relatou não consumir. Para o consumo de álcool, os participantes declararam se o consumo era baixo, médio, alto ou se não consumiram. Seguindo o padrão dos hábitos de consumo alimentar, quem relatou consumir foi contabilizado como sim e quem relatou não consumir, como não.

Para estabelecer a proporção de indivíduos que possuem histórico familiar de câncer, considerou-se o grau de parentesco e foram excluídos familiares que não possuíam consanguinidade, como por exemplo, esposa, marido, cunhado etc.

Para verificar a existência de significância estatística dos fatores de risco avaliados entre a população de Missal e a parcela da população em estudo, foi realizado o teste de qui-quadrado considerando estatisticamente significativos os resultados onde o valor de p fosse $<0,05$.

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando os *softwares* *GraphPad* e *Open-Epi* <https://www.openepi.com/Menu/OE_Menu.htm>.

4. RESULTADOS

4.1. Perfil demográfico da população de estudo

Participaram deste estudo 33 pacientes oncológicos cujas informações demográficas são mostradas na Tabela 3. Desta amostra total, foram analisados os dados de 23 pacientes diagnosticadas com câncer de mama; 9 pacientes diagnosticados com neoplasias gástricas (estômago, intestino e pâncreas); e 1 paciente diagnosticado com câncer de boca.

A idade populacional média dos participantes foi 60 anos, e a média de idade no diagnóstico foi 53 anos. Vinte e seis participantes (78,8%) possuem descendência alemã, dois (6,1%) possuem descendência italiana, e cinco (15,1%) possuem descendência brasileira. Vinte e quatro pacientes (72,7%), possuem histórico familiar de câncer.

Ainda, de forma geral, na parcela da população em estudo apenas 8 pacientes (24,2%) apresentaram histórico familiar positivo para câncer de mama e 5 (15,1%) apresentaram histórico familiar positivo para câncer gástrico. Essa análise baseou-se na presença de casos de câncer de mama ou gástrico em familiares próximos, considerando o grau de parentesco.

De todas as sequencias analisadas para o gene CDH1, somente três pacientes (9%), todas elas do sexo feminino e com câncer de mama, apresentaram variações no gene CDH1. Dessas, duas (6%) se enquadram nos critérios previamente estabelecidos para câncer hereditário.

Tabela 3. Dados da parcela da população em estudo

| Nº amostra de DNA | Idade | Idade de diagnóstico | Descendência | Tipo de câncer | Histórico familiar | Presença de mutação |
|-------------------|-------|----------------------|--------------|----------------|--|---------------------|
| 1 | 76 | 66 | Alemã | Boca | 2º grau não especificado – Tireoide Cônjuge - Tireoide | Não |
| 4 | 75 | 70 | Alemã | Intestino | 2º grau não especificado – Mama | Não |
| 16 | 47 | NC | Alemã | Mama | 3º grau não especificado – Mama e ossos | Sim |
| 17 | 48 | 45 | Alemã | Intestino | NC | Não |
| 21 | 69 | 69 | Alemã | Intestino | Irmão – Tipo de câncer não especificado | Não |
| 23 | 62 | 50 | Alemã | Mama | NC | Não |
| 25 | 61 | 51 | Italiana | Mama | Cônjuge – Pele | Não |
| 45 | 51 | 48 | Alemã | Intestino | Mãe – Tipo de câncer não especificado Tio – Tipo de câncer não especificado | Não |
| 49 | 69 | 60 | Alemã | Estômago | Mãe – Estômago Filha – Útero Cônjuge – Pele | Não |
| 53 | 79 | 68 | Alemã | Intestino | NC | Não |
| 54 | 63 | NC | Alemã | Pâncreas | Avô – Tipo de câncer não especificado Tia – Tipo de câncer não especificado | Não |
| 57 | 60 | 54 | Brasileira | Mama | NC | Não |
| 62 | 53 | 47 | Alemã | Intestino | Mãe – Intestino | Não |
| 63 | 48 | 48 | Brasileira | Mama | Pai – Cérebro Irmã – Intestino | Não |
| 64 | 45 | 44 | Alemã | Mama | Tio – Leucemia Tio – Rim | Sim |
| 66 | 40 | 33 | Brasileira | Mama | 3º grau não especificado - Fígado | Não |
| 71 | 56 | 50 | Alemã | Mama | Pai – Boca e esôfago | Não |
| 73 | 69 | 48 | Brasileira | Mama | Tia - Mama | Não |
| 77 | 73 | 71 | Alemã | Mama | NC | Sim |
| 79 | 53 | 50 | Alemã | Mama | 1º grau não especificado – Mama e fígado | Não |
| 80 | 40 | 34 | Italiana | Mama | Avô – Intestino e esôfago Pai – Pele e fígado Mãe – Mama | Não |

| | | | | | | |
|------------|----|----|------------|----------|---|-----|
| 81 | 73 | 53 | Alemã | Mama | 2º grau não especificado – Ossos Sobrinho – Leucemia Cônjuge – Pele | Não |
| 94 | 40 | 44 | Brasileira | Mama | Tia – Mama, pulmão e intestino Tio – Bexiga | Não |
| 99 | 71 | 70 | Alemã | Mama | Pai – Rosto | Não |
| 102 | 74 | 56 | Alemã | Mama | NC | Não |
| 108 | 45 | 36 | Alemã | Mama | Avô – Pele 3º grau não especificado – Seio Tio - Pulmão | Não |
| 109 | 71 | 59 | Alemã | Mama | Pai – Fígado | Não |
| 127 | 56 | NC | Alemã | Mama | NC | Não |
| 130 | 87 | 86 | Alemã | Mama | NC | Não |
| 132 | 78 | 70 | Alemã | Mama | NC | Não |
| 133 | 24 | 22 | Alemã | Mama | Avô – Garganta Pai – Leucemia Primo – Cérebro | Não |
| 179 | 54 | 36 | Alemã | Mama | Tia – Mama | Não |
| 180 | 65 | 43 | Alemã | Pâncreas | Primo – Cabeça e coluna | Não |

Legenda: *NC: nada consta.

Fonte: Bertim, 2023.

4.2. Análise das sequências e variantes

Dos 33 pacientes rastreados, três apresentaram mutações relacionadas ao gene CDH1 (amostras 16, 64 e 77), todas mulheres portadoras de neoplasia mamária. No entanto, informações sobre o tipo histológico do tumor (lobular ou não lobular) não estavam disponíveis no banco de dados consultado neste estudo. Todas as alterações encontradas tratava-se de Polimorfismo de Nucleotídeo Único (SNPs).

Na tabela 4 constam informações sobre o código da amostra de cada paciente; a posição genômica da variante, considerando o GRCh38; o domínio; a identificação destas variações no Banco de Dados de Polimorfismo de Nucleotídeo Único (dbSNP); a descrição da alteração causada (cDNA); a alteração proteica resultante; a classificação da variante e a alteração molecular. Considerando o total de amostras analisadas, a prevalência de variantes encontradas na análise foi de 9%.

Tabela 4. Mutações encontradas no sequenciamento das amostras

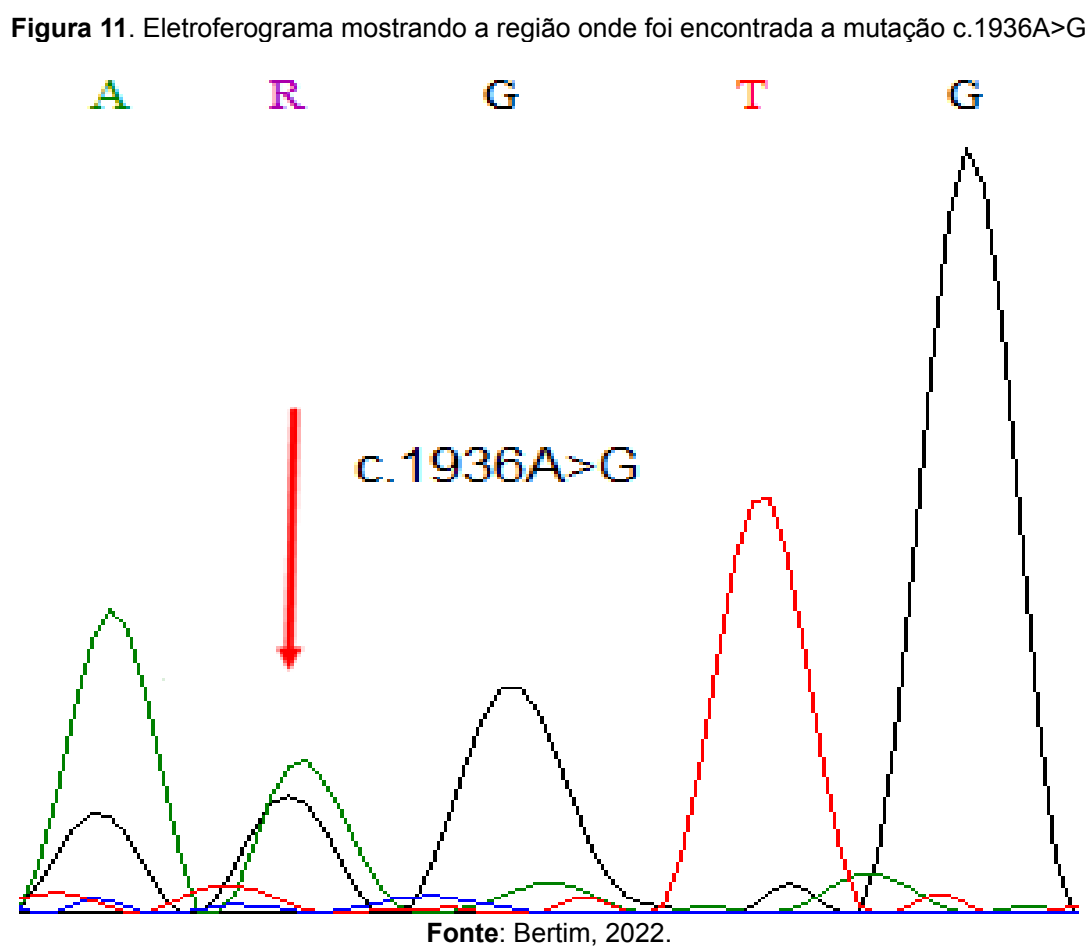
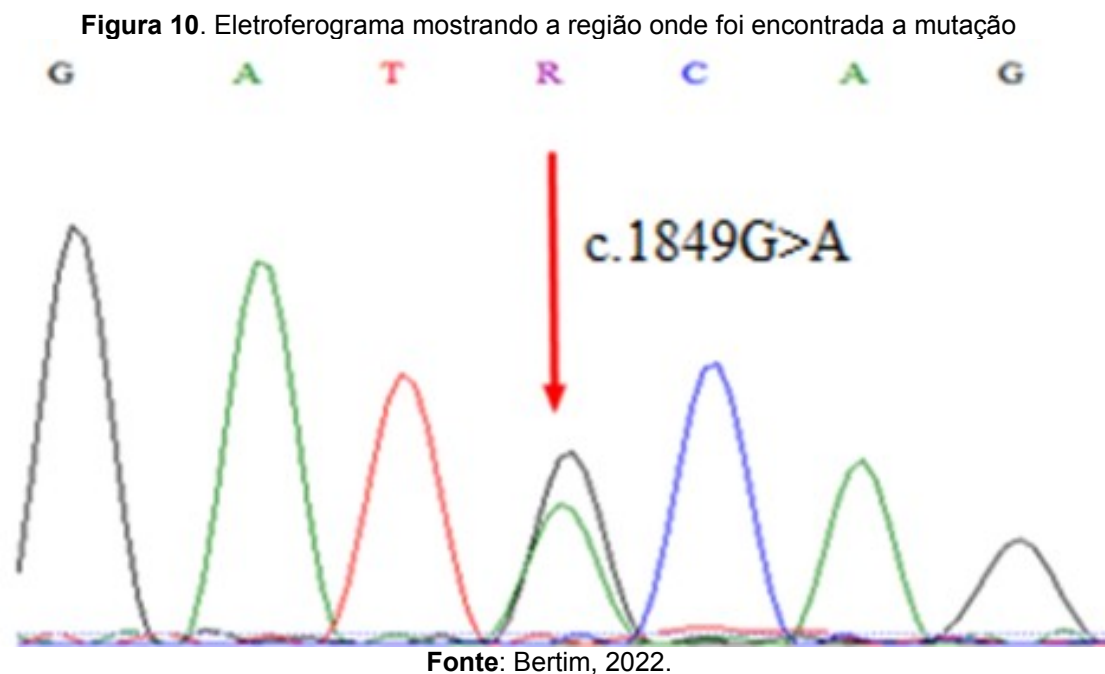
| Paciente | Posição genômica | | ID dbSNP | cDNA | Alteração proteica | Classificação | Alteração molecular |
|----------|------------------|---------------|---------------------|------------|--------------------|-------------------------------|---------------------|
| | - GRCh38 | Domínio | | | | | |
| 16 | 16: 68.822.138 | Ligado ao DNA | <i>rs33935154</i> | c. 1849G>A | p.Ala617Thr | Variante de nucleotídeo único | Missense |
| 64 | 16: 68822225 | Ligado ao DNA | <i>rs771064558</i> | c.1936A>G | p.Thr646Ala | Variante de nucleotídeo único | Missense |
| 77 | 16: 68808498 | Ligado ao DNA | <i>rs1057520261</i> | c.462A>G | p.Arg154= | Variante de nucleotídeo único | Mutação sinônima |

Fonte: Bertim, 2022.

Na paciente 16 foi encontrada a variante c.1849G>A que preenche critérios para ser classificada como benigna (Figura 10). A alteração ocorre no nucleotídeo 1849 (*rs33935154*), resultando em uma substituição de guanina por adenina (c.1849G>A). Essa troca de bases é considerada uma variação *missense*, pois leva à substituição do aminoácido alanina na posição 617 da proteína codificada pelo gene. No lugar da alanina, foi incorporada uma treonina (p.Ala617Thr).

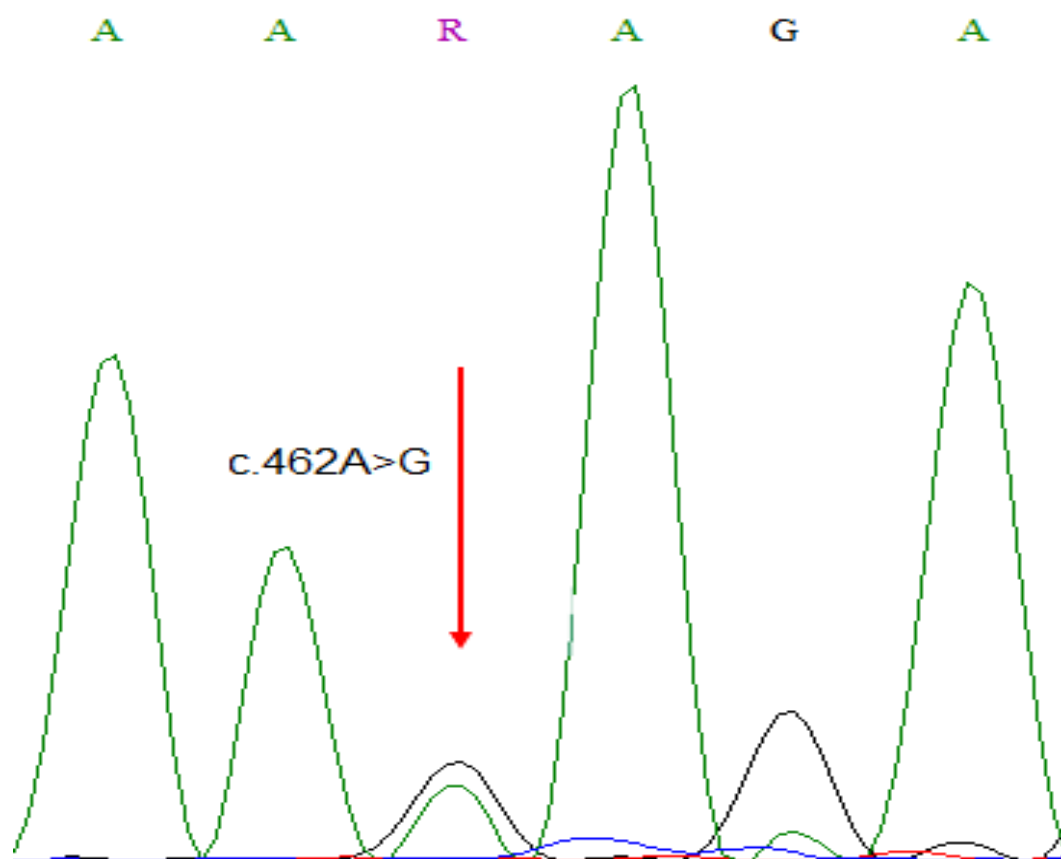
Na paciente 64, foi identificada uma variante *missense* documentada na literatura como c.1936A>G (Figura 11). Nesse caso, a substituição de uma base adenina por uma base guanina na posição 1936 do gene resulta na modificação do produto proteico, Thr646Ala, onde o aminoácido treonina (Thr) é substituído pelo aminoácido alanina (Ala) na posição 646 da proteína. Até o presente momento, os registros na literatura mostram uma discrepância de informações sobre a patogenicidade dessa variante, uma vez que

ela acarreta modificações no produto proteico. A variante já foi relatada como benigna, porém, alguns estudos a classificam como variante de significado clínico incerto (VSI).



Por fim, no paciente 77 foi identificada a variante c.462A>G (*rs1057520261*), descrita na literatura como uma variante sinônima (Figura 12). A alteração se trata de uma substituição de adenina por guanina na posição 462 do gene CDH1. Apesar da troca pontual de bases, a sequência de aminoácidos do produto proteico, p.Arg154=, permanece inalterada. A notação p.Arg154= indica que na posição 154 da proteína, não há nenhuma alteração ou mutação no aminoácido arginina. O significado clínico dessa alteração apresenta interpretações conflitantes, com alguns estudos relatando-a como benigna, enquanto outros não estabeleceram sua patogenicidade definitivamente.

Figura 12. Eletroferograma mostrando a região onde foi encontrada a mutação c.462A>G



Fonte: Bertim, 2022.

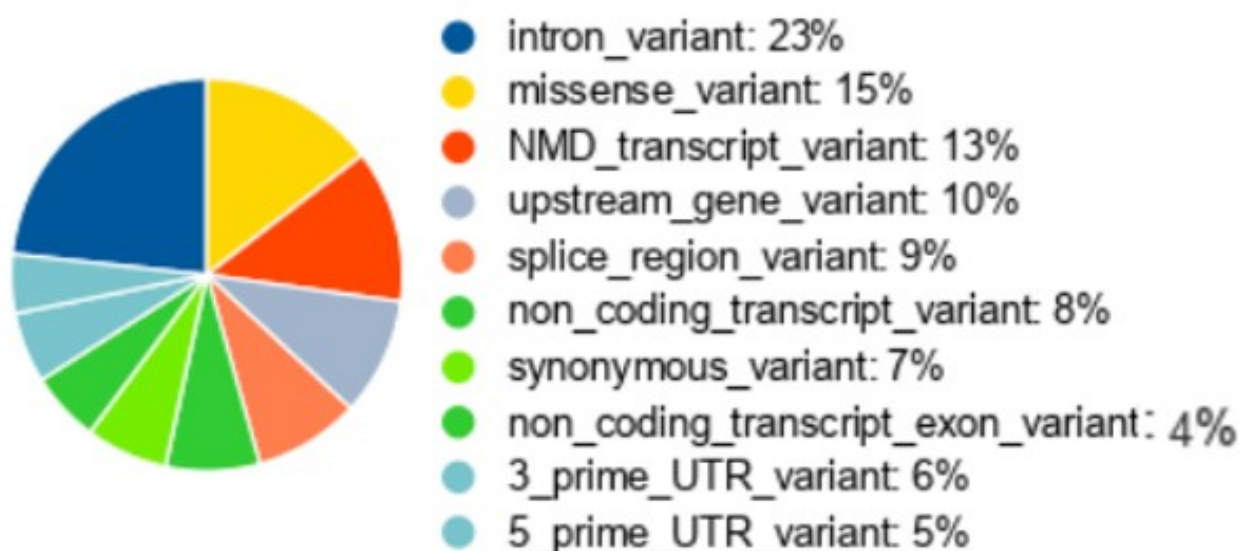
4.3. Análise in silico das variantes

O software *VEP* (*Variant Effect Predictor*) foi utilizado para prever a patogenicidade, consequências e o significado clínico das variantes encontradas. Ao todo foram analisadas duas variantes *missense* e uma variante sinônima. Vale ressaltar que os dados obtidos pela combinação das ferramentas *SIFT* e *PolyPhen* são gerados apenas para análise das variantes *missense*.

A classificação das variantes analisadas listou dez possíveis consequências e a porcentagem de frequência dessas nos bancos de dados. A figura 13 mostra as porcentagens relacionadas às consequências gerais obtidas no VEP, sendo essas: variante intrônica; variante *missense*; variante com associação a mutações *nonsense* (*NMD transcript variant*); variantes de região regulatória (*upstream gene variant*); variantes de região de *splicing* (*splice region variant*); variante sinônima (*synonymous variant*); variante de éxon contendo transcritos não codificantes (*non coding transcript exon variant*); variante não traduzida na extremidade 3' (*3' prime UTR variant*); e variante não traduzida na extremidade 5' (*5' prime UTR variant*).

Figura 13. Consequências previstas pela análise in silico no software VEP

Consequences (all)



Fonte: Variant Effect Predictor (Esemblr), 2023.

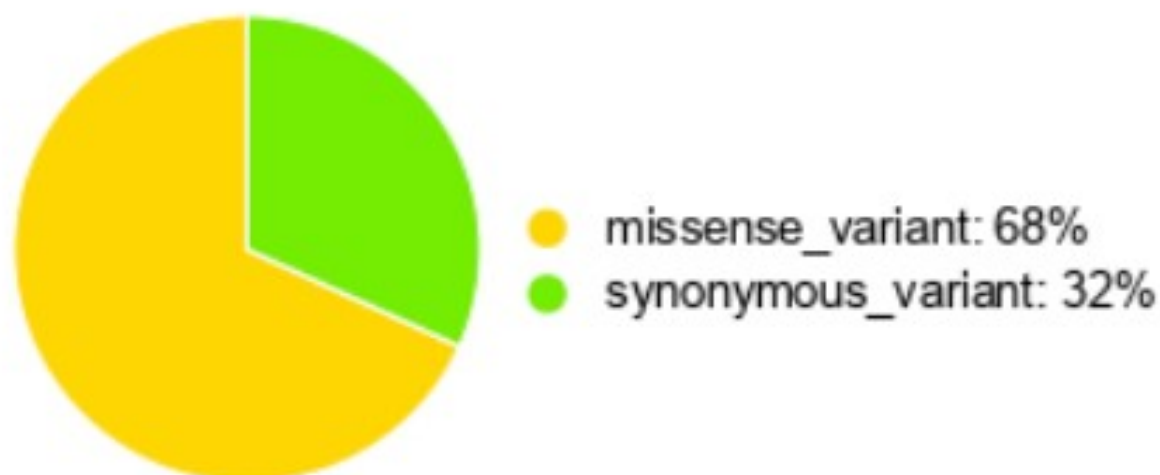
O software também fornece um gráfico onde é possível observar as porcentagens das consequências em relação a codificação (Figura 14).

Para as variantes do tipo *missense*, foram compilados dados a partir de uma combinação de resultados obtidos no VEP, utilizando as ferramentas *SIFT* (do inglês, *Sorting Intolerant From Tolerant*) e *PolyPhen* (do inglês, *Polymorphism Phenotyping*) (Tabela 5).

Considerando os dados apresentados na tabela 5, a variante c.1849G>A apresentou um score de 0,001, valor inferior a 0,05, o que a classifica como prejudicial. Porém, quando observamos o resultado gerado pela ferramenta *PolyPhen* a variante apresenta um resultado contraditório, pois é classificada como benigna devido ao seu escore estar abaixo do valor de referência.

Figura 14. Consequências em relação a codificação previstas pelo software VEP

Coding consequences



Fonte: Variant Effect Predictor (Esemblr), 2023.

Tabela 5. Análise *in silico* das variantes *missenses* de acordo com os softwares *SIFT*, *PolyPhen* e *VEP*

| Variantes | SIFT (0 – 1) ¹ | PolyPhen (0 – 1) ² | Significado clínico (VEP) ³ |
|-----------------------------|------------------------------|----------------------------------|---|
| c. 1849G>A (p.Ala617Thr) | 0,01 | 0,003 | Conflito de interpretação sobre patogenicidade (VUS; Benigna; Provavelmente benigna; Patogênica) |
| c.1936A>G (p.Thr646Ala) | 0,52 | 0,001 | Conflito de interpretação sobre patogenicidade (VUS; Provavelmente benigna) |

Dados categóricos com base nos valores de corte de cada ferramenta:

¹SIFT: variante prejudicial se $\leq 0,05$; variante tolerada/benigna se $> 0,05$.

²PolyPhen: danosa se $\geq 0,9$; benigna se $< 0,9$.

³VEP: Conflito de interação sobre patogenicidade: nos bancos de dados há submissões conflitantes sobre o potencial patogênico da variante.

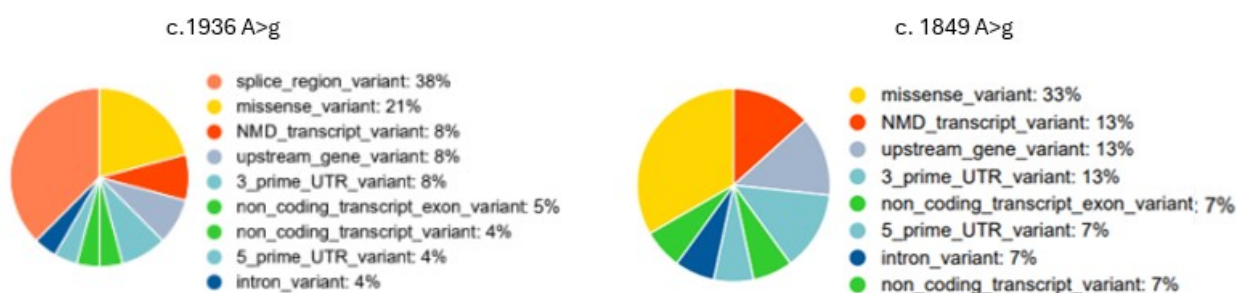
Abreviações: VUS – variante de significado incerto.

Fonte: Bertim, 2023.

No que diz respeito a variante c.1936A>G, essa apresentou um score de 0,52, valor acima do padrão, o que a classifica como uma variante tolerada ou benigna tanto na análise *SIFT* quanto na análise *PolyPhen*, uma vez que seu escore fica abaixo do limiar padrão.

Ainda, as variantes *missense* apresentaram diferentes resultados em relação as suas consequências gerais (Figura 15). A variante c.1936A>G apresentou um grande potencial como variante em região de *splicing*, o que pode ter um impacto significativo em sua função genômica.

Figura 15. Consequências previstas no *software* VEP para as mutações *missenses* c.1936A>G e c.1849 A>G

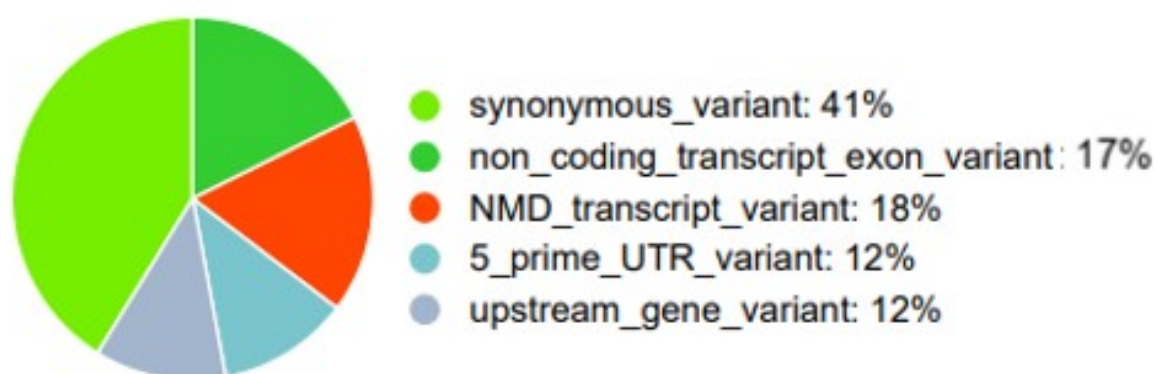


Fonte: Adaptado de *Variant Effect Predictor (Ensembl)*, 2023.

Em relação a única variante sinônima encontrada, c.462A>G, os resultados fornecidos pela ferramenta VEP mostram conflitos em relação a sua consequência clínica. Apesar de muitos resultados a classificarem como provavelmente benigna, o filtro de busca também indica interações conflitantes de patogenicidade, o que nos mostra a probabilidade dessa variante já ter sido relatada como uma variante de significado incerto (VUS). Entretanto, os dados são inconclusivos pois não apresentam evidência clínica confirmada.

Ainda assim, a variante apresentou consequências gerais variadas em relação a sua função genômica (Figura 16).

Figura 16. Consequências previstas no *software* VEP para a mutação sinônima c.462A>G



Fonte: Adaptado de *Variant Effect Predictor (Ensembl)*, 2023.

4.4. Estilo de vida da população amostrada com relação aos fatores de risco

Utilizando como base os principais fatores de risco para desenvolvimento de câncer elencados nos questionários respondidos pelos participantes do estudo no sistema SYS-GEO, foi realizado um levantamento de informações acerca do perfil demográfico e estilo de vida dos pacientes.

Os resultados se referem a parcela da população estudada e da população geral do município de Missal que participou de estudos semelhantes respondendo aos questionários. Ao todo, 62% da população foi analisada (6648 pessoas), sendo 3180 homens e 3648 mulheres. A média de idade da população é de 41 anos.

No que diz respeito ao estilo de vida dos pacientes, os fatores de risco elencados para análise foram: consumo de álcool, tabagismo e hábitos de consumo alimentares. Na tabela 6, é possível observar a frequência absoluta (N) e relativa (%) da parcela estudada e da população geral em relação ao consumo de álcool e tabagismo.

Tabela 6. Frequência de consumo de álcool e tabaco na população geral de Missal e na parcela da população em estudo

| Fatores de risco associados | Frequência de consumo | |
|-----------------------------|---------------------------------------|------------------------------------|
| | População total de Missal N= 6.648 | População em estudo N= 33 |
| Consumo de álcool | 2859 ¹ (43%) ² | 10 ¹ (30%) ² |
| Tabagismo | 1129 ¹ (17%) ² | 3 ¹ (9%) ² |

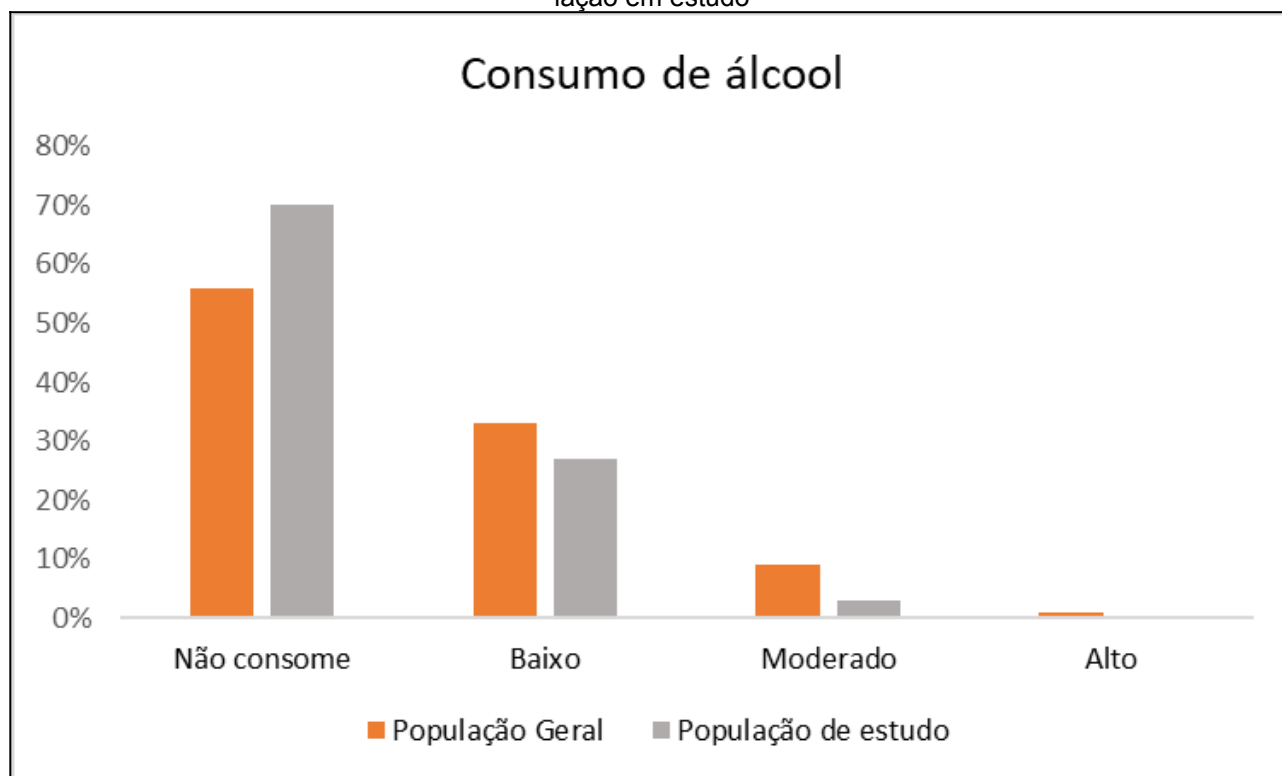
¹Frequência absoluta;

²Frequência relativa.

Fonte: Bertim, 2023.

O consumo de álcool também foi analisado de acordo com o nível de uso, sendo: baixo, moderado, alto ou não consome. No gráfico 1 é possível observar que a população geral de Missal possui uma maior frequência de consumo de álcool quando em comparação a parcela em estudo.

Gráfico 1. Frequência absoluta do consumo de álcool pela população geral de Missal e a parcela da população em estudo



Fonte: Bertim, 2023.

A variação estatística encontrada na comparação da frequência absoluta das populações analisadas encontra-se na tabela 7. Houve significância estatística entre as populações para a variável 'Consumo de álcool', uma vez que, a população geral de Missal apresentou uma maior taxa de consumo como visto anteriormente.

Tabela 7. Variação estatística entre a população geral de Missal e a parcela da população em estudo em relação as variáveis 'Consumo de álcool' e 'Tabagismo'

| Variável | Valor X ² | p.valor* |
|-------------------|----------------------|----------|
| Consumo de álcool | 6,804 | 0,0091** |
| Tabagismo | 1,190 | 0,2753 |

*p.valor= significativo se <0,05;

** valor estatisticamente significativo.

Fonte: Bertim, 2023.

Em um contexto geral a parcela da população em estudo possui um estilo de vida equilibrado em relação a alimentação, com um aumento da frequência de consumo alimentar para alimentos industrializados (Tabela 8).

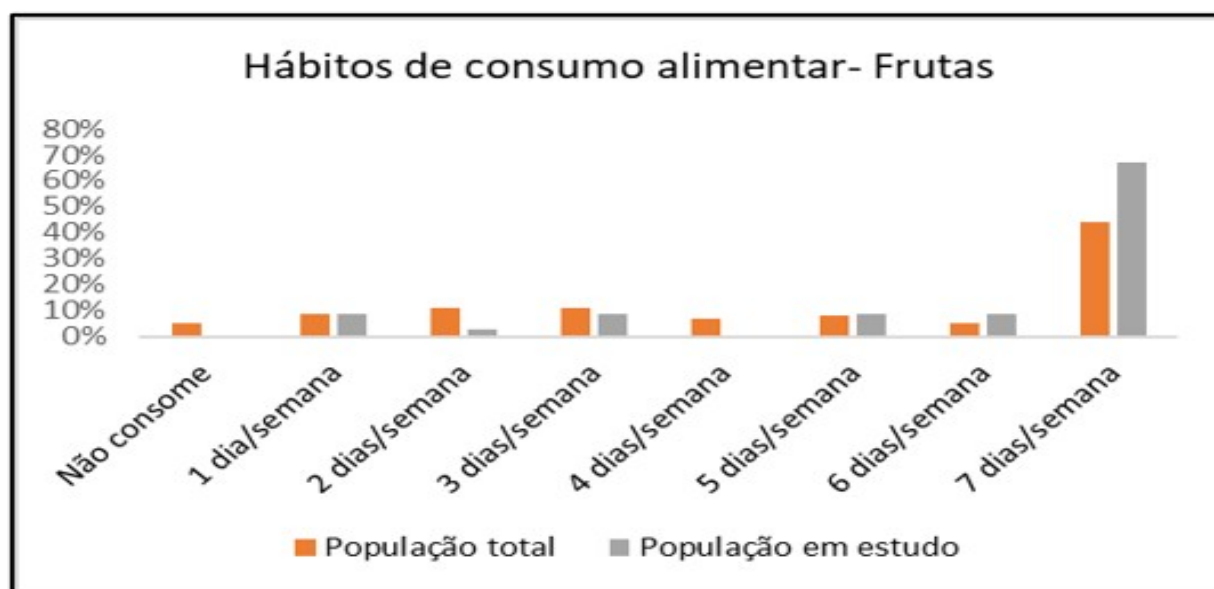
Tabela 8. Frequência de consumo alimentar na população geral de Missal e na parcela da população em estudo

| Fatores de risco associados- Consumo alimentar | Frequência de consumo | |
|---|--|-------------------------------------|
| | População total de Missal N= 6.648 | População em estudo N= 33 |
| Frutas | 6315 ¹ (95%) ² | 33 ¹ (100%) ² |
| Legumes e verduras | 6515 ¹ (98%) ² | 32 ¹ (97%) ² |
| Industrializados | 4454 ¹ (67%) ² | 28 ¹ (87%) ² |
| Embutidos | 4986 ¹ (75%) ² | 19 ¹ (58%) ² |
| Doces | 5717 ¹ (86%) ² | 27 ¹ (82%) ² |
| Frituras | 5717 ¹ (86%) ² | 24 ¹ (73%) ² |
| Carne vermelha | 6448 ¹ (97%) ² | 31 ¹ (93%) ² |

¹Frequência absoluta;²Frequência relativa.

Fonte: Bertim, 2023.

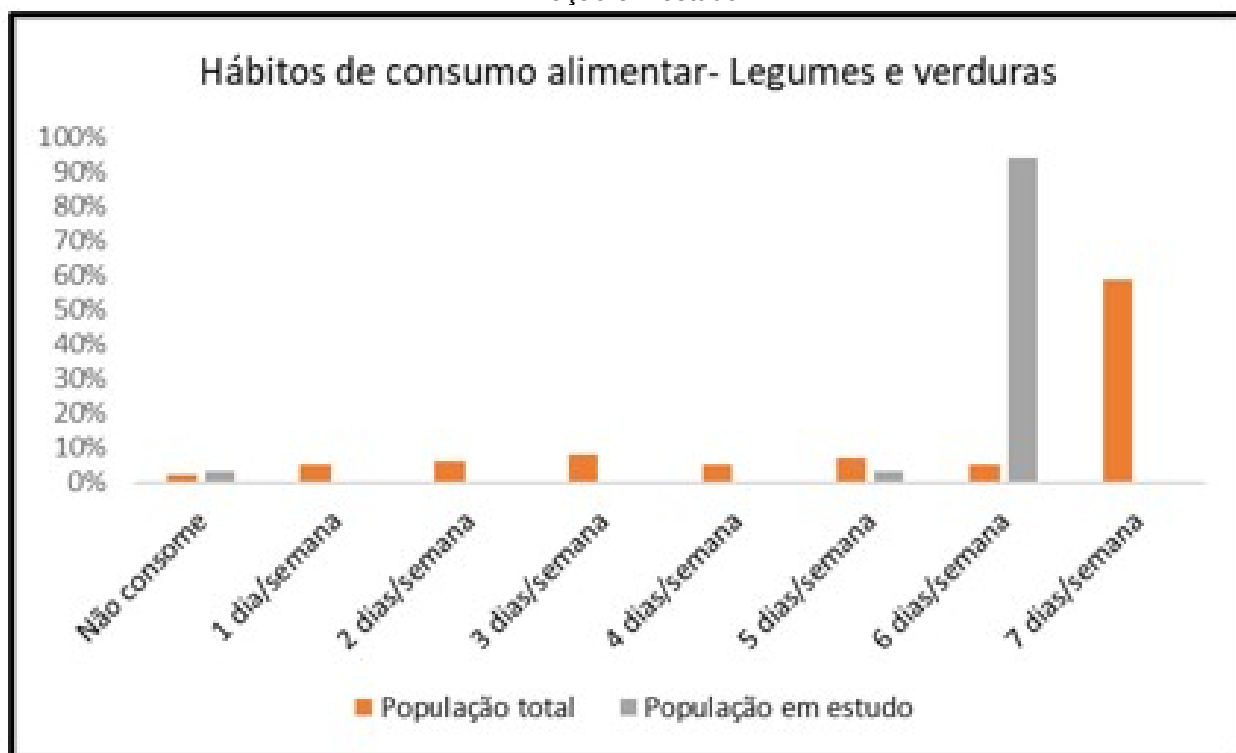
Quanto aos hábitos de consumo de frutas, 67% da população relata consumir frutas 7 dias na semana, enquanto 9% relatam consumir de 5 a 6 dias na semana, 3% consomem de 2 a 3 dias na semana e 6% consomem 1 dia na semana (Gráfico 2).

Gráfico 2. Hábitos de consumo de frutas da população geral de Missal e da parcela da população em estudo

Fonte: Bertim, 2023.

Já em relação ao consumo de legumes e verduras, 94% da população declara que o consumo acontece 6 dias por semana, enquanto 3,0% consomem 5 dias por semana ou não consomem (Gráfico 3).

Gráfico 3. Hábitos de consumo de legumes e verduras da população geral de Missal e da parcela da população em estudo



Fonte: Bertim, 2023.

No gráfico 4 encontram-se os dados sobre o consumo de produtos industrializados. De acordo com os dados apresentados, 45% dos pacientes consomem esses produtos 7 dias na semana, enquanto 3% consomem de 3 a 4 dias na semana e 24% consomem apenas um dia na semana ou não consome.

Para o consumo de embutidos 13% da população declara consumir embutidos 7 dias na semana, 3% consomem 6 dias na semana, 6% consomem 5 dias na semana, 3% consomem 3 dias na semana, 12% consomem 2 dias na semana, 21% consomem 1 dia na semana e 42% relatam não fazer o consumo de embutidos (Gráfico 5).

O consumo de doces varia entre consumir 7 dias na semana ou não consumir, sendo que, 31% alegam consumir doces 7 dias na semana, 3% consomem 6 dias na semana, 9% consomem de 2 a 3 dias na semana, 24% consomem 1 vez na semana e 18% relatam não consumir doces (Gráfico 6).

O mesmo se aplica ao consumo de frituras, no gráfico 7 observa-se que 31% da população diz consumir frituras 7 dias na semana, enquanto 3% consomem 6 dias na semana, 9% consomem 2 dias na semana e 27% consomem 1 dia na semana ou não consome.

Gráfico 4. Hábitos de consumo de industrializados da população geral de Missal e da parcela da população em estudo



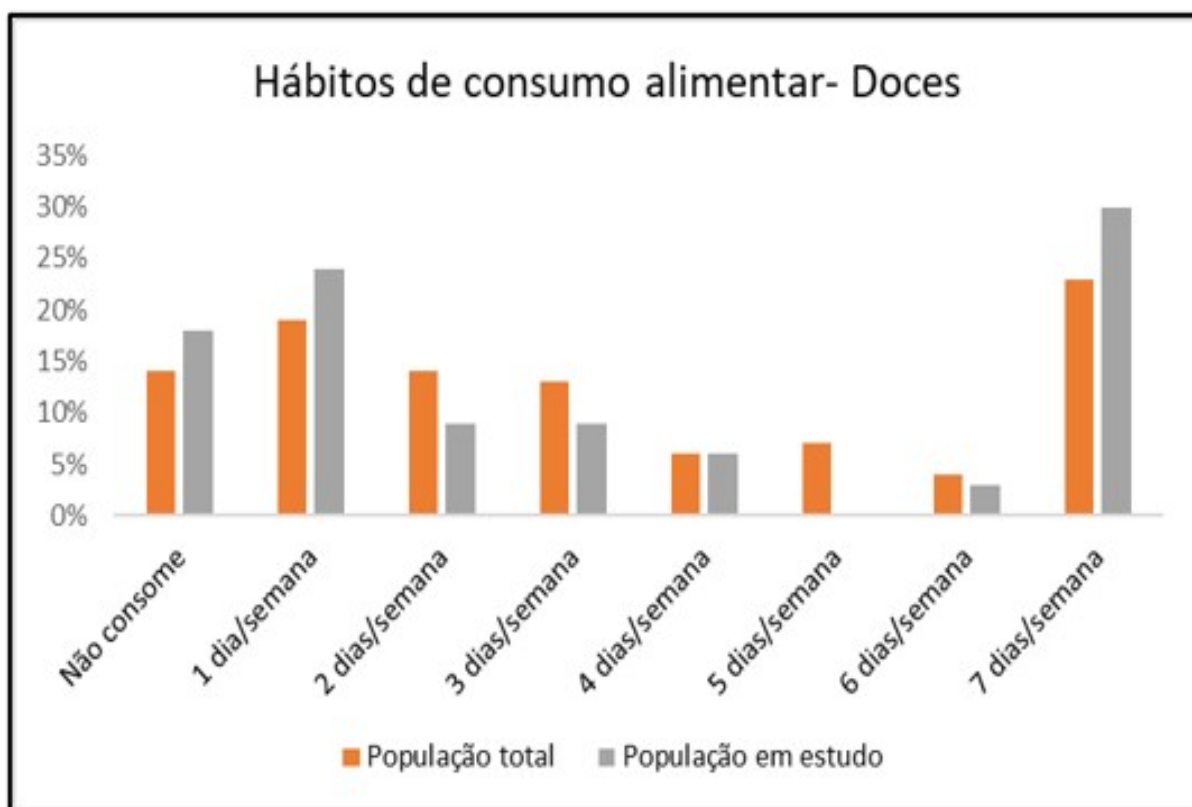
Fonte: Bertim, 2023.

Gráfico 5. Hábitos de consumo de alimentos embutidos da população geral de Missal e da parcela da população em estudo



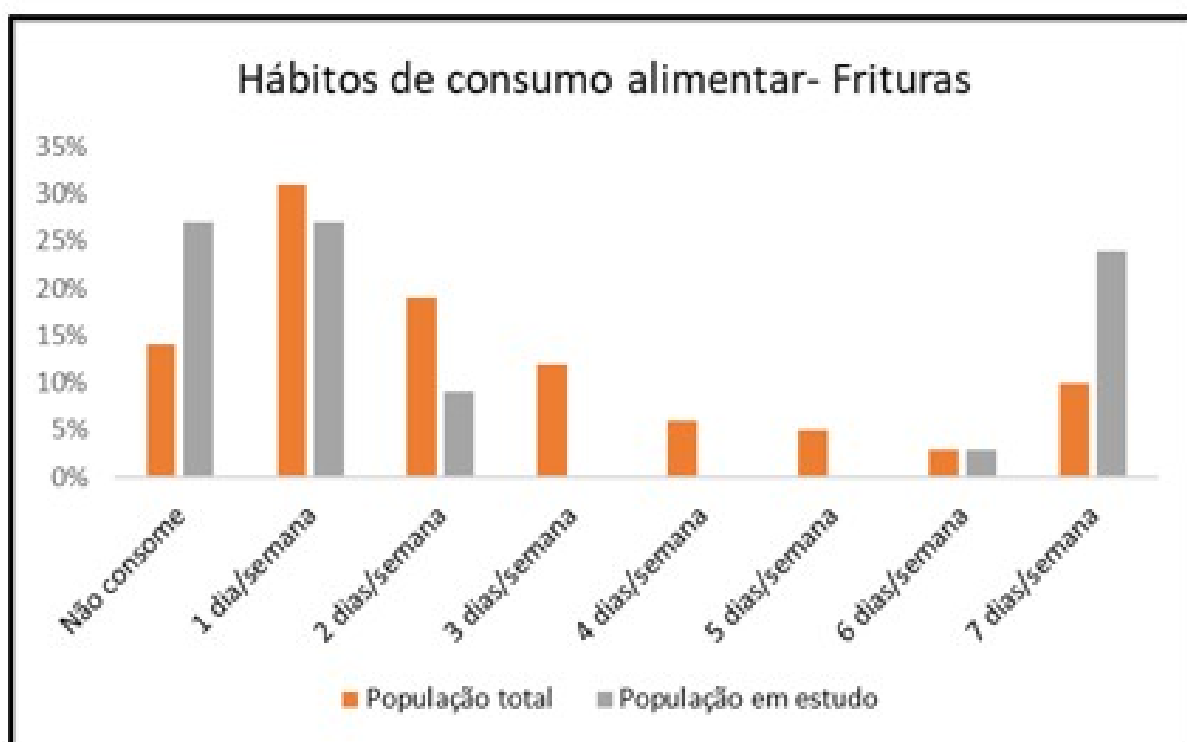
Fonte: Bertim, 2023.

Gráfico 6. Hábitos de consumo de doces da população geral de Missal e da parcela da população em estudo



Fonte: Bertim, 2023.

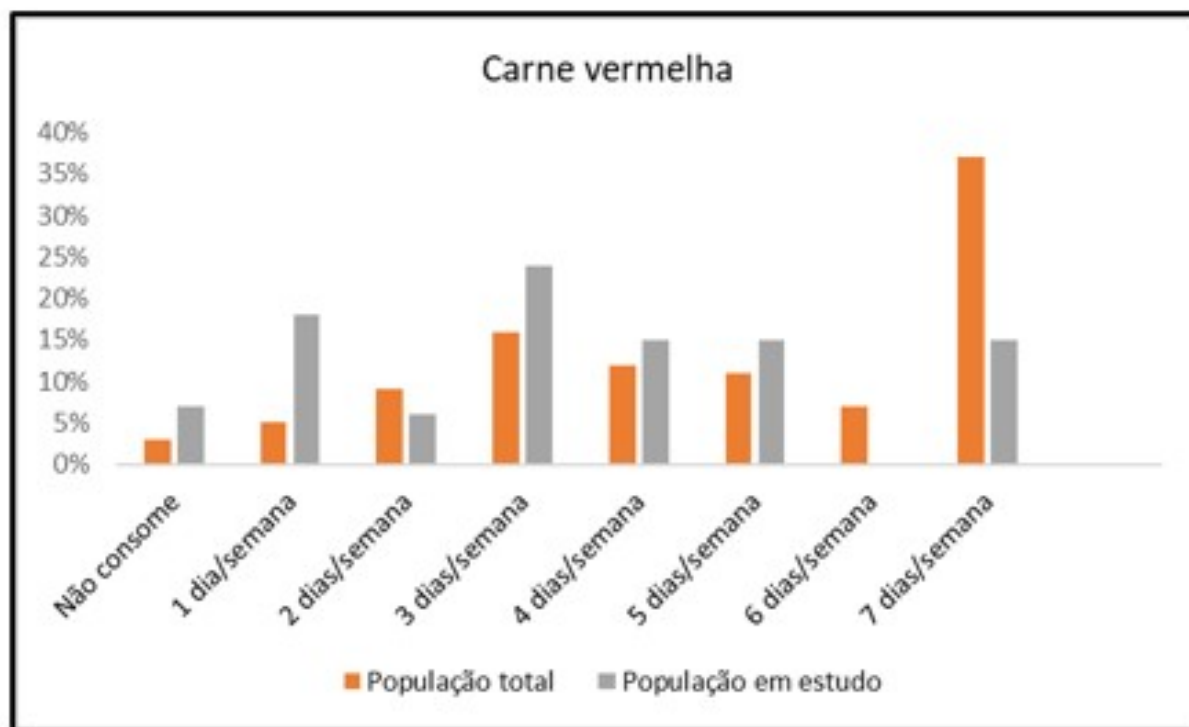
Gráfico 7. Hábitos de consumo de frituras da população geral de Missal e da parcela da população em estudo



Fonte: Bertim, 2023.

Sobre o consumo de carne vermelha, 15% dos pacientes dizem consumir carne vermelha 7 dias na semana, 15% consomem de 4 a 5 dias na semana, 24% consomem 3 dias na semana, 6% consomem 2 dias na semana, 18% consomem 1 dia na semana e 7% não consomem carne vermelha (Gráfico 8).

Gráfico 8. Hábitos de consumo de carnes da população geral de Missal e da parcela da população em estudo



Fonte: Bertim, 2023.

Ainda, os dados compilados foram comparados entre as populações. A tabela 9 mostra a variação estatística entre a população geral e a parcela em estudo, onde observa-se que as variáveis de risco 'Consumo de alimentos industrializados' e 'Consumo de alimentos embutidos' apresentaram significância estatística ($p < 0,05$). A parcela da população em estudo possui uma maior taxa de consumo de alimentos industrializados, enquanto a população geral de Missal tende a consumir mais alimentos embutidos.

A variação também pode ser observada na frequência relativa apresentada entre as populações analisadas (Gráfico 9).

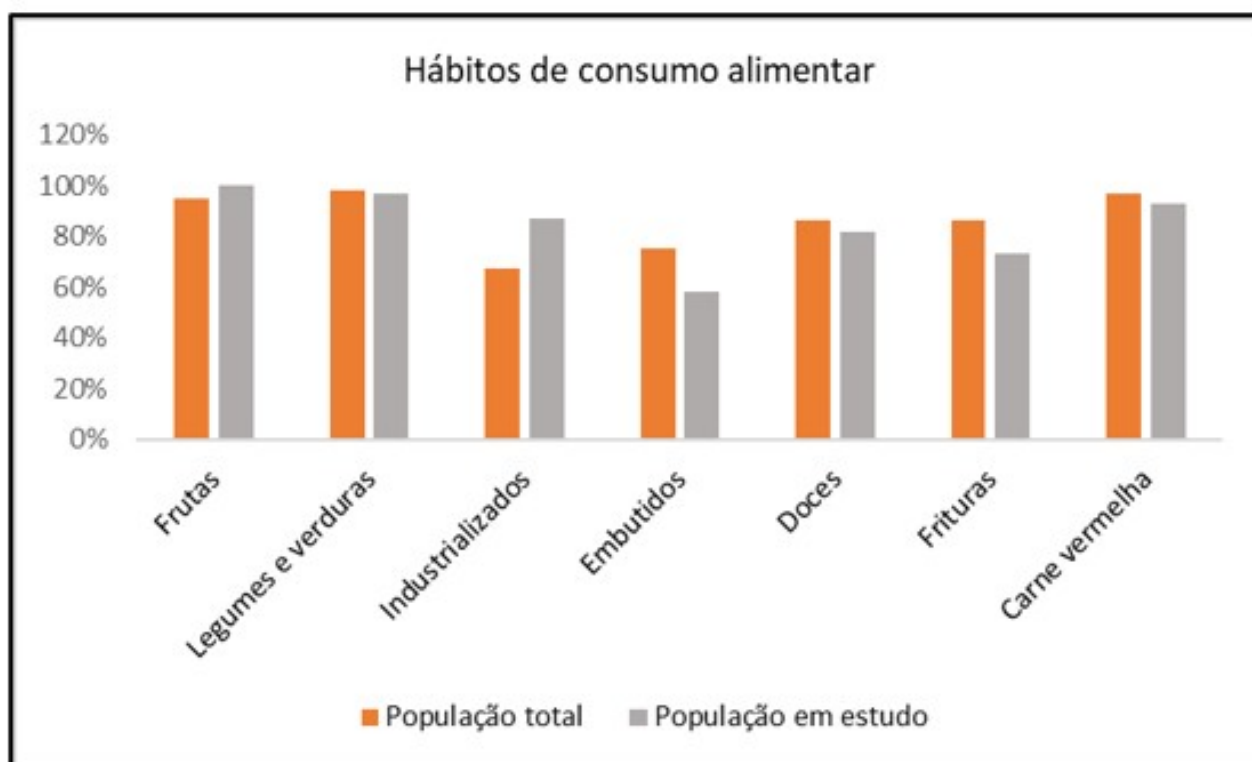
Tabela 9. Variação estatística entre a população geral de Missal e a parcela da população em estudo em relação as variáveis de consumo alimentar

| Variável | Valor X ² | p.valor* |
|--------------------|----------------------|----------|
| Frutas | 1,740 | 0,1872 |
| Legumes e verduras | 0,177 | 0,6738 |
| Industrializados | 4,739 | 0,0295** |
| Embutidos | 5,305 | 0,0213** |
| Doces | 0,4753 | 0,4906 |
| Frituras | 4,782 | 0,0288 |
| Carne vermelha | 1,043 | 0,3071 |

*p.valor= significativo se <0,05;
** valor estatisticamente significativo.

Fonte: Bertim, 2023.

Gráfico 9. Frequência relativa de todas as variáveis de consumo alimentar na população geral de Missal e na parcela da população em estudo



Fonte: Bertim, 2023.

4.5. Análise dos fatores de risco associados ao câncer de mama

A população de Missal analisada foi composta de 3.468 com média de idade de 40 anos. Dessas, 45 (1,3%) apresentaram diagnóstico de câncer de mama.

Dos pacientes participantes do presente estudo, 23 (70%) são mulheres portadoras de câncer de mama diagnosticadas com idade média de 50 anos. De acordo com os dados obtidos pelos questionários respondidos pelos pacientes e disponibilizados no Sistema SYSGEO, foi realizada uma análise dos principais fatores de risco para o desenvolvimento da doença, sendo eles: idade precoce de diagnóstico; Sobrepeso; Consumo de álcool; Tabagismo; Uso de anticoncepcional; Uso de reposição hormonal; Menopausa tardia; e Histórico familiar de qualquer tipo de câncer em parentes de primeiro, segundo e terceiro grau, exceto cônjuge.

Na tabela 10 é possível observar a frequência absoluta e relativa dos fatores de risco investigados na população feminina de Missal e na população de estudo. Todas as pacientes da população de estudo apresentaram ao menos um fator de risco ligado ao adoecimento por câncer de mama.

Tabela 10. Frequência relativa e frequência absoluta da das variantes relacionadas ao risco de adoecimento por câncer de mama na população geral de Missal e na parcela da população em estudo

| Fatores de risco associados | Frequência | |
|--|--|--|
| | População feminina de Missal N= 3.468 | População feminina em estudo (CA de Mama) N= 23 |
| Idade de diagnóstico (em caso positivo para CA de mama) | μ = 49 anos | μ = 50 anos |
| Sobrepeso | 600 ¹ (16%) ² | 5 ¹ (22%) ² |
| Consumo de álcool | 1206 ¹ (33%) ² | 4 ¹ (17%) ² |
| Tabagismo | 413 ¹ (11%) ² | 0 ¹ (0%) ² |
| Uso de anticoncepcional | 1577 ¹ (43%) ² | 9 ¹ (33%) ² |
| Uso de reposição hormonal | 300 ¹ (8%) ² | 4 ¹ (17%) ² |
| Menopausa tardia | 72 ¹ (2%) ² | 5 ¹ (22%) ² |
| Histórico familiar de câncer | 2160 ¹ (59%) ² | 15 ¹ (65%) ² |

¹Frequência absoluta;

²Frequência relativa;

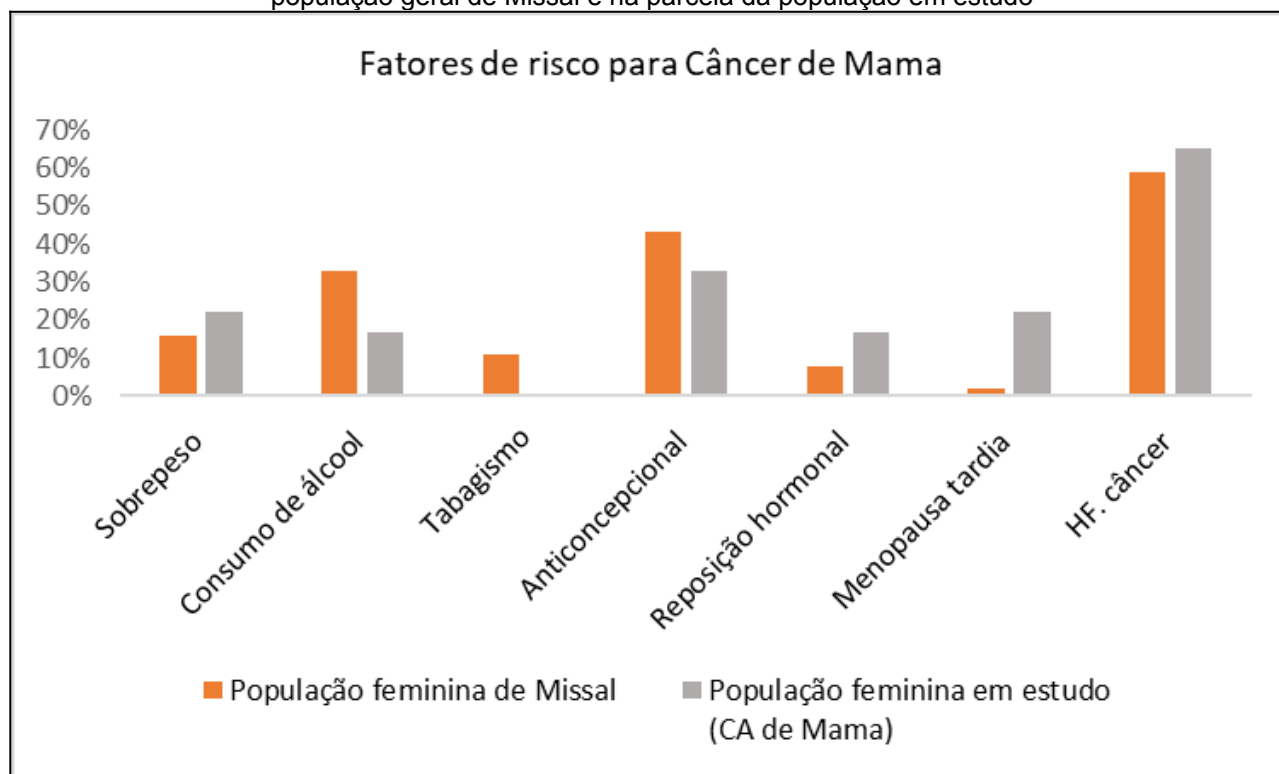
μ = média.

Fonte: Bertim, 2023.

A população em estudo apresentou maior frequência relativa para as variáveis de risco sobrepeso (22%); uso de reposição hormonal (17%); menopausa tardia (22%); e histórico familiar de câncer (65%) (Gráfico 10).

A variação estatística entre as populações analisadas de acordo com cada fator de risco pode ser observada na tabela 11. A variável 'Menopausa tardia' apresentou diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$), sendo que, a população em estudo apresenta uma maior proporção em relação a esse fator de risco.

Gráfico 10. Frequência relativa das variantes relacionadas ao risco de adoecimento por câncer de mama na população geral de Missal e na parcela da população em estudo



Fonte: Bertim, 2023.

Tabela 11. Variação estatística entre a população geral de Missal e a parcela da população em estudo em relação as variáveis de consumo alimentar

| Variável | Valor X ² | p.valor* |
|------------------------------|----------------------|----------|
| Sobrepeso | 0,314 | 0,5752 |
| Tabagismo | 3,107 | 0,0780 |
| Consumo de álcool | 3,049 | 0,0808 |
| Uso de anticoncepcional | 0,370 | 0,5426 |
| Uso de reposição hormonal | 2,196 | 0,1384 |
| Menopausa tardia | 23,11 | 0,0001** |
| Histórico familiar de câncer | 0,083 | 0,7723 |

*p.valor= significativo se $< 0,05$;

** valor estatisticamente significativo.

Fonte: Bertim, 2023.

Ainda, 18 pacientes da população em estudo apresentaram acúmulo de dois ou mais fatores de risco para câncer de mama. Dessas, 2 são portadoras de uma mutação no gene CDH1 (Tabela 12).

Tabela 12. Fatores de risco acumulados pelas pacientes portadoras de câncer de mama

| Fatores de risco acumulados | Nº de pacientes | Presença de mutação |
|--|-----------------|---|
| Consumo de álcool+ Idade de diagnóstico precoce+ Histórico familiar de câncer+ Uso de anticoncepcional | 2 | Sim (Paciente 64- c.1936A>G) |
| Idade de diagnóstico precoce+ Histórico familiar de câncer+ Uso de anticoncepcional | 6 | Não |
| Idade de diagnóstico precoce+ Histórico familiar de câncer+ Uso de anticoncepcional+ sobrepeso | 3 | Não |
| Histórico familiar de câncer+ Idade de diagnóstico precoce+ Uso de anticoncepcional+ Uso de Reposição Hormonal | 1 | Sim (Paciente 16- c. 1849G>A) |
| Histórico familiar de câncer+ Uso de Reposição Hormonal | 1 | Não |
| Histórico familiar de câncer+ Uso de Reposição Hormonal+ Sobrepeso+ Menopausa tardia | 2 | Não |
| Histórico familiar de câncer+ Sobrepeso+ Menopausa tardia | 1 | Não |
| Sobrepeso+ Menopausa tardia | 1 | Não |
| Histórico familiar de câncer+ Menopausa tardia | 1 | Não |

Fonte: Bertim, 2023.

5. DISCUSSÃO

A identificação de pacientes com predisposição hereditária ao câncer desempenha um papel fundamental no manejo clínico adequado. Identificar portadores de mutações causadoras pode auxiliar na avaliação e redução de riscos, além de fornecer orientação para suas famílias. É importante ressaltar que os cânceres hereditários podem apresentar fenótipos distintos, o que requer abordagens de tratamento personalizadas. Compreender a base genética dessas condições permite um cuidado mais eficaz e direcionado, incluindo estratégias de prevenção, rastreamento e terapias específicas (Valente, 2014; INCA, 2021; Carneiro, 2022; Gregory & Davis, 2023).

Para a população em estudo evidenciou-se a presença de variantes em três pacientes, representando 9% da população analisada. Todas as variantes são do tipo polimorfismo de nucleotídeo único (do inglês *single nucleotide polymorphisms*- SNP) e se encontram relatadas em bancos de dados referentes a populações de estudos distintos.

5.1. Variantes descritas em literatura

Dentre a população de estudo analisada, observou-se a presença de duas variantes *missense*, c.1849G>A, e c.1936A>G, que possuem sua evidência clínica confirmada, e de uma variante sinônima, c.462A>G cujo significado clínico apresenta interpretações conflitantes.

5.1.1. c.1849G>A

O SNP c.1849G>A é classificado como uma variante de linha germinativa e leva a substituição do aminoácido alanina, encontrado na posição 617 da cadeia proteica, por uma treonina (Ala617Thr). Na literatura e nos bancos de dados, essa alteração já foi reportada em onze estudos, sendo eles em populações de pacientes com câncer gástrico, câncer de mama e câncer endometrial. Seu significado clínico se encontra em conflito, uma vez que, esse SNP já foi relatado como patogênico, benigno, e como uma *VUS* (do inglês, *Variant of Uncertain Significance*) (NCBI, 2023).

Um estudo realizado por Risinger, 1994, identificou a mutação pela primeira vez em uma paciente com câncer de endométrio. A princípio o SNP em questão fora descrito na literatura como sendo uma variante somática e patogênica e se encontrava dentre um grupo de alterações rastreadas para elucidar a característica de supressão tumoral do

gene CDH1. Posteriormente, a mutação foi novamente descrita como patogênica, porém dessa vez, germinativa, em um paciente diagnosticado com câncer gástrico difuso (Ascanõ *et al.*, 2001).

Essa alteração ocorre na quinta repetição extracelular (EC5) da E-caderina e afeta diretamente uma sequência conservada de aminoácidos que codifica um dos sítios de ligação de cálcio da proteína. Sabe-se que as caderinas utilizam os íons de cálcio para estabilização de sua conformação ativa, sendo assim, a desestruturação de um dos sítios de ligação de cálcio na proteína pode levar a problemas em sua adesão celular, facilitando o processo de motilidade e invasão das células neoplásicas. Sendo assim, é viável utilizar a atividade das repetições presentes na proteína como referência, com base na sua homologia de sequência. Portanto, supunha-se que a variante poderia ser considerada patogênica, uma vez que, exerce influência direta na desestruturação dos sítios de ligação de cálcio da proteína, o que resulta em problemas relacionados à adesão e motilidade celular, acelerando o processo de carcinogênese (Aberle *et al.*, 1996; Suriano *et al.*, 2003).

Um estudo realizado por Suriano *et al.* 2003, em uma população africana acometida por câncer gástrico difuso, apresentou um resultado discrepante aos antes propostos. Duas pacientes diagnosticadas precocemente apresentaram a mutação e foi analisado a função dessa em ensaios de invasão e fechamento de ferida e ensaios de agregação, ambos *in vitro*. A alteração não apresentou potencial patogênico, sendo assim, o que foi concluído é que a patogenicidade da mutação não poderia ser totalmente elucidada pois os resultados obtidos nos ensaios demonstraram apenas alterações funcionais leves.

Deste modo, os estudos a cerca da variante contribuíram para um maior esclarecimento de sua patogenicidade, porém, quando consultada nos bancos de dados a mesma apresenta conflito de informações sobre seu significado clínico por falta de informações. Anteriormente fora relatada como patogênica, porém, dados atuais mostram que a variante c.1849G>A classifica-se como benigna, uma vez que foi evidenciado que a alteração proteica causada por ela não prejudica a funcionalidade da proteína (NCBI, 2022).

Em nosso estudo, a paciente identificada como portadora da variante c.1849G>A, foi diagnosticada com câncer de mama aos 40 anos de idade e realizou a retirada do tumor cirurgicamente. Ainda, possui histórico familiar positivo para câncer de mama e ossos, derivado de parentes de 3º grau, o que configura acúmulo de fatores de risco para a doença.

Em relação ao seu estilo de vida, a mesma apresenta uma alimentação equilibrada e não possui nenhuma doença secundária. Entretanto, fez uso de contraceptivos orais por 21 anos. O risco aumentado de câncer de mama com o uso de contraceptivos orais não é

consistentemente respaldado na literatura. Muitos estudos demonstram que eles não parecem aumentar o risco de câncer da mama entre as usuárias (Britt *et al.*, 2020; Kanadys *et al.*, 2021; Baranska *et al.*, 2021; Kamani & Gültekin, 2022).

Nota-se que a idade do diagnóstico apresentada pela paciente é precoce considerando a média de adoecimento por câncer de mama no Brasil (INCA, 2019). De acordo com Carneiro, 2022, o diagnóstico precoce de câncer está intimamente ligado a fatores genéticos hereditários, uma vez que, portadores de mutação no gene CDH1 estão propensos a apresentarem um alelo silenciado/inativado de forma vertical, o que acelera ou potencializa o processo de carcinogênese.

Sendo assim, o diagnóstico precoce e o histórico familiar positivo da paciente para câncer de mama podem contribuir para a possível participação da variante em questão no processo de carcinogênese da paciente, uma vez que, variantes de linha germinativa tendem a acelerar o processo de adoecimento (Van der post *et al.*, 2019). Porém, não se pode afirmar que esse fator interfere diretamente em seu processo oncológico devido a falta de evidências apresentadas pela paciente, como por exemplo a classificação histológica do tumor, bem como de evidências relacionadas a variante apresentada por ela.

Nas análises *in silico* realizadas os dados dispostos em literatura foram confirmados. A variante apresenta significado incerto e conflitos de identidade, pois se encontra relatada como patogênica e também como benigna. Observa-se também que está apresentando diferentes consequências, variando de acordo com seu local de expressão. Além de ser uma variante missense, ela se encontra em uma região regulatória do gene o que implica diretamente na expressão e regulação do produto proteico, uma vez que, pode alterar a sequência de nucleotídeos e impedir a ligação de proteínas inicializadoras (Costa & Pacheco, 2013).

Em contrapartida, a alteração também pode se apresentar como uma variante intrônica ou como uma variante presente em regiões não codificantes de alguns éxons, além de apresentar discrepância nas análises utilizando ferramentas anexas de predição de dano ou deleção. Os resultados a cerca dessa variante são inconclusivos tanto em dados presentes na literatura, quanto em análises *in silico* e sugerem baixa patogenicidade para esta mutação, o que levanta hipóteses sobre a penetrância incompleta da mutação ou a necessidade de outros fatores genéticos e/ou epigenéticos para sua patogenicidade (El-Husny, 2016). Estas informações destacam a complexidade das implicações clínicas da variação c.1849G>A no gene CDH1, sublinhando a necessidade de uma análise cuidadosa e personalizada em cada caso.

5.1.2. c.1936G>A

A variante c.1936A>G envolve a substituição das bases Adenina e Guanina na posição 1936 da sequência conservada do gene. Essa alteração resulta na troca do aminoácido Treonina pelo aminoácido Alanina na posição 646 da proteína produzida (p.-Thr646Ala). Apesar de não haver evidências clínicas publicadas na literatura que abordem essa modificação, a classificação dessa variante como benigna ou VUS (Variante de Significado Desconhecido) está em conflito nos bancos de dados populacionais e algoritmos utilizados para prever seus efeitos patogênicos e implicações moleculares (NCBI, 2023).

Ao considerar que resíduos do aminoácido alanina são observados em múltiplas espécies de mamíferos, há uma sugestão de que a variante *missense* em questão não tenha um impacto direto na função da proteína produzida pelo gene. No entanto, é importante notar que essa alteração está localizada em uma região de sequência de *splicing* de RNA. Com base nesse contexto, algoritmos desenvolvidos para prever efeitos patogênicos indicam que a variante pode potencialmente criar ou reforçar um local de *splicing* (NCBI, 2023).

O *splicing* de RNA é um processo fundamental para a tradução do produto proteico. Nele, o RNA precursor (pré-mRNA) percorre um caminho enzimático de maturação e é transformado em mRNA para posterior tradução da proteína (Stanley & Abdel-Wahab, 2022). Sendo assim, desregulações no *splicing* de RNA são características moleculares presentes em quase todos os tipos de tumor e podem promover a tumorigênese por mecanismos variados, além de aumentarem a proliferação celular, a migração e o potencial metastático (Bradley & Anczuków, 2023).

Na análise *in silico* realizada neste estudo, os dados presentes na literatura sobre a localização da mutação foram confirmados. De acordo com os resultados compilados no VEP a variante atua como modificadora de regiões onde ocorrem processos de *splicing*, além de ser categorizada como *missense* e estar em uma região regulatória. Porém, mais uma vez, as informações obtidas nas análises *in silico* realizadas não apresentaram um potencial patogênico para essa alteração. Ela se encontra em regiões estratégicas para processos chave na transcrição, mas apresentou baixa probabilidade de gerar consequências danosas ao paciente.

Com base nas informações disponíveis nos bancos de dados populacionais, a variante não apresenta evidências científicas suficientes para determinar sua patogenicidade na doença (NCBI, 2023).

A paciente 64, para a qual foi identificado a presença do SNP c.1936A>G, foi diagnosticada com câncer de mama aos 44 anos e realizou a retirada do tumor cirurgicamente. Possui histórico familiar positivo para câncer de rim e leucemia em parentes de 1º grau, mais especificamente, tios. Ao analisar seu estilo de vida, observa-se que o mesmo segue um padrão regular com consumo de alimentos de forma equilibrada e prática de exercícios físicos. A paciente porta o vírus da Hepatite e fez uso de contraceptivos orais por 10 anos.

Mais uma vez foram compilados dados tanto da variante, quanto da paciente, e os resultados foram inconclusivos. Considerando o fato de não haver probabilidades de patogenicidade da variante, mesmo com a idade de diagnóstico da paciente sendo precoce, não há como relacionar o processo de tumorigênese com a ação da variante genética encontrada.

Aqui, vale ressaltar, que a estimativa da penetrância de mutações no gene CDH1 está sendo continuamente alimentada com dados falhos devido a dificuldade em se inferir a patogenicidade de variantes *missenses*. Muitas variantes do tipo VUS vem sendo identificadas em populações de estudo distintas, em pacientes portadores de tumores relacionados com o gene e em pacientes saudáveis e sem histórico familiar para a doença (Lee *et al.*, 2018). Corso *et al.*, 2018, mostra que os programas de rastreio atuais não recomendam o teste genético quando há ausência de critérios clínicos específicos, o que também impossibilita o rastreio de muitos pacientes e amplia a rede de resultados inconclusivos em relação a patogenicidade e também a distribuição das mutações entre as populações.

É importante observar que, considerando a alta incidência de casos de câncer na população de Missal, a identificação de uma variante germinativa em um gene supressor de tumor pode sugerir a possível contribuição de fatores hereditários atuando em uma parcela dessa população. Porém, mais estudos em relação a atuação da mutação na população estudada precisam ser realizados para se estabelecer informações sobre essa relação.

5.1.3. c.462A>G

A variante c.462A>G representa uma alteração de linha germinativa, na qual a proteína produzida pelo gene não sofre substituição de aminoácidos. Isso ocorre porque a mutação em questão não modifica a sequência de aminoácidos codificados. Na forma não mutada, a proteína produzida seria uma alanina, e na forma mutada, a proteína produzida ainda é uma alanina (p.Arg154=). Não há evidências na literatura sobre a patogenicidade

da alteração, e nos bancos de dados ela se encontra em conflito de informações sendo encontrada como benigna ou VUS (NCBI, 2023).

Mutações sinônimas, em sua maioria, não causam danos à proteína produzida pelo gene pois não geram alterações em seus aminoácidos. Entretanto, essas promovem uma alteração pontual na sequência de DNA e RNA, o que pode alterar os níveis de proteína ou sua conformação, os reguladores de *splicing*, a estabilidade do mRNA e como consequência, a eficiência da tradução (SHARMA *et al.*, 2019)

De acordo com os algoritmos utilizados na determinação de patogenicidade de variantes, a alteração em questão foi classificada como sendo uma VUS devido ao cumprimento de alguns critérios para possível patogenicidade, como por exemplo, a frequência populacional. Porém, por ser uma variante que ocorre em uma posição mal conservada da sequência gênica e por não apresentar perda de função ou estruturação proteica, a alteração segue também descrita como benigna por não possuir evidências suficientes sobre sua patogenicidade (NCBI,2023).

Em nossas análises *in silico* foram evidenciados conflitos de informação em relação a patogenicidade da variante, bem como se encontra descrito na literatura disponível. De acordo com os resultados compilados, além de atuar como uma variante sinônima, a mutação em questão atua como uma variante em região regulatória do gene e já foi descrita como variante intrônica e presente em regiões éxônicas não transcritas.

A paciente portadora da mutação em questão foi diagnosticada com câncer de mama aos 71 anos e realizou a retirada do tumor cirurgicamente. Não possui histórico familiar positivo para nenhum tipo de câncer, bem como não possui doenças secundárias. Em relação ao seu estilo de vida, a mesma possui uma vida com consumo de alimentos de forma equilibrada. Sendo assim, considerando o contexto em que a paciente se encontra, não há como relacionar seu estilo de vida ou idade de diagnóstico com o SNP em questão, uma vez que, as características por ela apresentadas estão dentro do padrão normal de adoecimento por câncer.

5.2. Missal e o perfil populacional

O câncer gástrico difuso (DGC) é uma condição multifatorial que está diretamente relacionada a fatores ambientais, demográficos e genéticos. Alguns desses fatores de risco são considerados imutáveis, enquanto outros são classificados como potenciais influenciadores (Karimi *et al.*, 2014). Idade avançada, estilo de vida irregular (alto consumo de álcool, tabagismo, dieta rica em sal e ultraprocessados e por consequência, obesidade),

doenças secundárias, exposição química, fatores genéticos hereditário e histórico familiar positivo para a doença, são tidos como fatores potenciais para o adoecimento (Ma *et al.*, 2017; World Cancer, 2017; Baranska *et al.*, 2021).

Sendo assim, um dos fatores que diferencia os casos de HDGC dos demais tipos de câncer gástrico é a idade de diagnóstico. Para casos em que o adoecimento se dá por fatores somáticos ligados ao ambiente e ao estilo de vida, o diagnóstico tende a ser tardio e corresponde a uma faixa etária com mais de 70 anos. Em contrapartida, casos de HDGC tendem a apresentar um diagnóstico precoce, onde os pacientes apresentam sinais de adoecimento antes dos 40 anos (Fewings *et al.*, 2018; Kaurah e Huntsman, 2018; Carneiro, 2022; Corso *et al.*, 2023).

Conforme os registros do TABNET (DATASUS), nos últimos anos, o município de Missal registrou um aumento nos casos de câncer diagnosticados, especialmente entre pacientes com menos de 50 anos e com histórico familiar positivo para a doença. O presente estudo analisou uma parcela de 33 pacientes (dentre esses pacientes portadores de câncer gástrico e câncer de mama) e ao realizar uma comparação dos dados aqui apresentados com a literatura existente sobre a idade de diagnóstico do câncer gástrico e câncer de mama, observamos que a maioria dos pacientes analisados apresentou um diagnóstico precoce em relação à média nacional.

A amostra da população estudada possui uma idade média de diagnóstico de 52 anos, o que está abaixo da média brasileira, que é de 56 anos (INCA, 2019). Ainda, entre as 3 pacientes que apresentaram algum tipo de alteração no gene CDH1, 2 delas (6%) foram diagnosticados com menos de 50 anos.

O estilo de vida em relação ao consumo de álcool, produtos contendo tabaco e dieta também se configuram como fatores de risco que influenciam de forma direta no adoecimento dos pacientes. Desde a década de sessenta, têm sido conduzidos estudos que investigam a relação entre nutrição e câncer. Durante esse período, observou-se que a taxa de câncer variava amplamente entre as populações (Haenszel & Kurihara, 1968) e que entre migrantes que se deslocavam de países com baixo risco de câncer para regiões onde o risco era mais elevado, apresentavam aumento do risco para a doença, sendo esse aumento atribuído a vários fatores, com destaque para os hábitos alimentares inadequados (Key *et al.*, 2020).

Embora o estilo de vida em relação ao consumo alimentar seja um importante fator aliado ao câncer, estabelecer quais hábitos alimentares especificamente estão ligados ao adoecimento oncológico vem sendo um desafio desde então. O que se pode afirmar é que a dieta está estreitamente relacionada a indução ou prevenção do câncer e que al-

guns compostos presentes nos alimentos alteram a composição química celular inferindo no surgimento e prognóstico oncológico (Pereira, 2015).

De modo geral, a população de Missal apresentou um alto consumo de frutas, legumes e verduras quando comparado a média de consumo populacional brasileira. A ingestão de salada crua na população brasileira apresenta uma média de frequência de 22% e a de frutas e legumes se encontra em 8%. Com base em nossos questionários, a população de Missal apresenta um número muito mais expressivo, sendo 59% dos participantes declaram consumir legumes e verduras todos os dias da semana e 44% consomem frutas todos os dias da semana. Esses dados corroboram com informações contidas no Guia alimentar para a População Brasileira, onde se destaca a importância de uma alimentação equilibrada e saudável com alto consumo de alimentos naturais e pouco processados (BRASIL, 2014).

Apesar de não estar totalmente elucidado qual é o determinante anticarcinogênico presente em frutas, legumes e hortaliças, muitos estudos mostram que substâncias antioxidantes encontradas nesses alimentos, principalmente os que não possuem amido, podem auxiliar na indução da apoptose e regulação do crescimento celular anormal que ocorre no processo oncológico (Milani *et al.*, 2016). Lam *et al.*, demonstrou em um estudo realizado em 2013, que o risco para câncer de estômago é diminuído em indivíduos que possuem altas concentrações plasmáticas de vitamina C induzidas pelo consumo de frutas cítricas. Entretanto, via de regra, esses estudos são realizados em populações isoladas e precisam de mais mecanismos para serem validados.

Em contrapartida, estudos mostram que o consumo inadequado de alimentos ultraprocessados e ricos em sal, como conservas, alimentos embutidos, carnes salgadas e processadas, gorduras saturadas e doces, influenciam diretamente no aumento do risco para câncer num contexto geral, sendo os cânceres gástricos, mamários e câncer de fígado os mais presentes nas pesquisas envolvendo nutrição e câncer (Lopes *et al.*, 2019; Srour & Touvier, 2020).

A população de Missal apresentou uma frequência moderada de consumo de alimentos industrializados, embutidos, fritos e doces quando comparado a frequência de consumo da população brasileira. O consumo de alimentos industrializados na população brasileira corresponde a 20% das calorias consumidas diariamente (IBGE, 2020), enquanto na população de Missal aproximadamente 15% da população declara consumir esse tipo de alimento ao menos uma vez na semana. Vale ressaltar aqui que os dados obtidos são de questionários respondidos por pacientes após o diagnóstico de câncer e que os mesmos podem ter sofrido modificações em decorrência da situação oncológica.

O consumo de frituras e alimentos ricos em óleo e gorduras na população brasileira varia em torno de 47%. Já na população de Missal 10% dos participantes do estudo declara consumir alimentos fritos 7 dias por semana e 27% declara consumir pelo menos um dia na semana. Ainda nesse contexto, dados disponibilizados pelo IBGE, 2020, mostram que o consumo de doces na região Sul do Brasil se encontra acima da média nacional, o que se encontra também, refletido na população de Missal aproximadamente um quarto da parcela analisada declarou consumir uma porção de doces sete dias por semana.

Ainda, o consumo de carne vermelha e embutidos foi bastante declarado pelos participantes do estudo. Esse fato pode se encontrar associado a cultura estabelecida na região, que possui influência do extremo Sul do Brasil, onde o consumo de carne vermelha e embutidos, como salame e mortadela, é alto (IBGE 2020; Missal, 2016). A ingestão desses alimentos está ligada principalmente ao risco de desenvolvimento de câncer gástrico (Kim *et al.*, 2020).

A carne processada foi classificada como agente cancerígeno pela IARC, em 2015, bem como a carne vermelha, que foi classificada como provavelmente cancerígena. Essa classificação foi baseada em um estudo que relata que para cada aumento diário de 50g, de carne vermelha ou processada, há um aumento percentual de 17% no risco de desenvolvimento de câncer gástrico. Países com alto consumo de carne processada e vermelha possuem altas taxas de incidência de câncer colorretal (Kim *et al.*, 2020).

De acordo com Bouvard *et al.*, 2015, para preservar as características da carne processada muitos aditivos químicos como nitratos e nitritos são adicionados a sua composição. Uma vez que esses encontram em contato com o intestino, promovem o aumento a exposição de compostos mutagênicos. Esses compostos também podem ser desencadeados pelo alto teor de ferro contido em carnes vermelhas que podem ter um efeito citotóxico no intestino (IARC, 2018).

Ainda nesse contexto, o consumo alimentar se encontra diretamente ligado a maior morbimortalidade desencadeada pela obesidade. Há um longo período de tempo a obesidade vem sendo relacionada com diversos tipos de doenças, principalmente com o desenvolvimento de tipos variados de câncer. O excesso de gordura corporal confere um estado inflamatório crônico ao paciente, aumentando os níveis de hormônio e promovendo cada vez mais o desenvolvimento de células neoplásicas (INCA, 2017).

De acordo com o Ministério da saúde, 2021, no Brasil, uma a cada quatro pessoas com mais de 18 anos é obesa e a transição alimentar se encontra como fator regulatório desse número pois cada vez mais é observado o consumo de alimentos ultraprocessa-

dos e ricos em gordura. Utilizando a variável Circunferência abdominal, que corresponde a um dos critérios estabelecidos pela OMS para determinação da obesidade, foi possível verificar que na população de Missal não há uma alta taxa de pessoas com tendência a obesidade quando comparado a média nacional, que se encontra em 27%. Esse dado nos mostra que não existe relação entre a população de estudo portadora de câncer e a obesidade, visto que a maior parte da população estudada apresenta um valor abaixo do padrão para circunferência abdominal. Entretanto, para maior elucidação dessa informação, se faz necessário o aprofundamento na análise de dados em relação a essa variável.

Em relação ao consumo de álcool, Lewandowska *et al.*, 2018, diz que o consumo de álcool atua como potencializador do risco de desenvolvimento de diversos tipos de neoplasias, dentre essas, gástricas e mamárias. O grau de risco está acoplado ao tipo e quantidade de álcool consumida, porém, mesmo pequenas quantidades podem influenciar no processo oncológico, tanto em relação ao desenvolvimento inicial quanto ao prognóstico da doença (Ramos *et al.*, 2018).

O álcool atua como um potencial formador de tumores, uma vez que, age diretamente na membrana de mucosas, removendo os componentes lipídicos da barreira que confere proteção a camada epitelial dos tecidos afetados. Diversos mecanismos patogênicos foram identificados como contribuintes para o desenvolvimento de câncer induzido pelo consumo de álcool, incluindo os efeitos do acetaldeído, metabólito primário do álcool, e do estresse oxidativo. Ainda, recentemente, surgiram evidências que sugerem que o álcool pode também causar alterações epigenéticas, principalmente anormalidades nos padrões de metilação do DNA (Freudenheim, 2020; Sharma & Krupenko, 2020; Rodrigues & Covenas, 2021).

Entretanto, na população de Missal o consumo de álcool não atua como um fator de risco, uma vez que, a maioria da população entrevistada declarou não consumir álcool. A média do consumo de álcool na população brasileira é de 55% (IBGE, 2020), enquanto na população de Missal uma porcentagem de 37% dos entrevistados declarou consumir álcool (sendo o consumo baixo, moderado e alto).

No que diz respeito ao consumo de tabaco e hábitos tabagistas, a população de Missal possui um número alto, que corresponde a 17%, em relação a frequência tabagista quando comparado ao padrão da população brasileira, que se encontra na média de 12%. O tabaco está entre os maiores fatores de risco associados ao câncer e estima-se que 11% dos cânceres gástricos a nível mundial sejam atribuíveis ao tabagismo. Além, no Brasil, as regiões Sul e Sudeste abrangem as maiores incidências de uso de tabaco e também de neoplasias relacionadas a esse uso (Kristina & Endarti, 2012; Sadjadi *et al.*,

2014; Runowicz *et al.*, 2016; Passarelli *et al.*, 2016; IBGE 2020; INCA, 2021; INCA, 2022; INCA, 2023).

Por mais que haja informações conflitantes sobre o tema, muitos estudos mostram que o tabagismo pode atuar como um dos fatores de risco para o câncer de mama, sendo ele ativo ou passivo (INCA, 2022). Em 2010, um estudo realizado por Abramowitz *et al.*, mostrou que em mulheres tabagistas jovens, diversos fatores desencadeiam o início do adoecimento oncológico ou contribuem com um mau prognóstico. Essas mulheres, fumantes ou ex-fumantes, apresentam um alto nível de carcinógenos relacionados com o início da neoplasia mamária, além de não responderem bem aos tratamentos e apresentarem uma maior taxa de mortalidade após o diagnóstico em algumas populações. Ainda, o risco relativo de câncer de mama é maior em mulheres tabagistas com histórico familiar positivo para câncer e diversos estudos mostram que o tabagismo está associado ao risco elevado de mortalidade e diminuição da sobrevida do paciente após o diagnóstico (Braithwaite *et al.*, 2012).

Neste estudo, quando comparado à população geral de Missal, a população feminina amostrada apresentou maior frequência relativa para as variáveis de risco sobrepeço, uso de reposição hormonal; menopausa tardia e histórico familiar de câncer. Ainda, 18 pacientes apresentaram acúmulo de dois ou mais fatores de risco para câncer de mama sendo duas delas portadoras de uma mutação no gene CDH1. Diversos estudos evidenciam que a menarca precoce, nuliparidade, não amamentação, primeira gravidez em idade avançada, pós-menopausa, obesidade, tabagismo e histórico familiar de câncer aumentam significativamente o risco de desenvolvimento de câncer de mama. Porém, com relação aos efeitos do uso de contraceptivos orais, os dados são conflitantes. Enquanto alguns trabalhos evidenciam um aumento de risco modesto, mas estatisticamente significativo, outros não encontram significância estatística nesta relação (Yang *et al.*, 2010; Britt *et al.*, 2020; Baranska *et al.*, 2021; Kanadys *et al.*, 2021; Cerrato-Izaguirre *et al.*, 2022).

No mais, no que diz respeito a fatores de risco relacionados com o início do processo oncológico ou com mal prognóstico da doença, existe um desafio em avaliar individualmente a maioria desses fatores. O que se sabe é que quanto mais acúmulo e interação de fatores de risco, maior é a chance do desenvolvimento do câncer. Sendo assim, a maior compreensão dos fatores de risco, individualmente ou de forma conjunta, pode aumentar a eficácia de ações preventivas, de diagnósticos precoces e tratamentos personalizados, além de auxiliar na elaboração de novas terapias voltadas a doença e na criação de políticas públicas eficazes sobre o tema (Glanz *et al.*, 2022).

Entretanto, um dos desafios em compreender o processo de adoecimento oncológico, principalmente quando esse se encontra ligado a fatores hereditários é a falta de informações relativas à história clínica dos pacientes reportada nos prontuários médicos. As decisões tomadas pela equipe multidisciplinar para maior assistência e análise dos casos de forma isolada ou coletiva é dependente de dados previamente fornecidos no prontuário do paciente e nos sistemas de informação em saúde, o que torna indispensável a melhora desses documentos afim de garantir um melhor manejo do paciente e auxiliar na implementação de medidas de prevenção, detecção precoce, tratamento específico e cuidados paliativos (Souza; Freire; Almeida, 2010).

Uma ilustração clara disso está no reporte de dados referente ao tipo histológico de tumor do paciente, um dado que atualmente é inexistente na maioria dos prontuários médicos e que seria de grande valia para direcionar um tratamento e cuidados individualizados a pacientes com câncer de mama lobular, uma vez que, variantes germinativas no gene CDH1 presentes em 42% dessas pacientes está diretamente ligada ao desenvolvimento de metástase (Liu *et al.*, 2017; Yang *et al.*, 2018).

Ainda, a melhoria no reporte de informações sobre o histórico clínico dos pacientes também contribuem para a gestão de políticas públicas e serviços especializados em oncologia, o que auxilia na melhora do cenário oncológico quanto ao prognóstico e diagnóstico precoce do câncer. A orientação aos profissionais envolvidos nos processos também é fundamental para garantir a acurácia da coleta de dados e a conscientização da importância do reporte correto dos dados pelo paciente e seus familiares. Sendo assim, é crucial que essas melhorias sejam implementadas para que possam ser utilizadas também como fonte de dados para pesquisas clínicas e epidemiológicas (Da Luz *et al.*, 2017).

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O rastreamento genético do gene CDH1 em pacientes oncológicos residentes na cidade de Missal não evidenciou a presença de variantes patogênicas e nem grupos familiares com retrospectiva sugestiva de cânceres com padrão hereditário para este gene. Entretanto, três variantes germinativas classificadas nos bancos de dados como benignas e com significado clínico incerto (VUS) foram encontradas.

Considerando que muitas variantes germinativas do gene CDH1 possuem informações conflitantes com relação a significância clínica, a classificação de patogenicidade pode ser desafiadora, especialmente quando há conflito de evidências que sugerem uma classificação benigna e patogênica. Desta forma, a análise detalhada das variantes, incluindo histórico familiar, co-segregação em famílias e previsões *in silico*, são cruciais para nortear as consequências clínicas associadas a essas variantes e o gerenciamento ideal do risco.

Neste estudo, mais de 70% da população amostrada possui histórico familiar de câncer, idade média do diagnóstico oncológico inferior ao da idade média brasileira e fatores de riscos significativos para o adoecimento oncológico. Desta forma, sugere-se intensificar as ações de prevenção e detecção precoce nesta população uma vez que identificar o câncer em um estágio assintomático resultará em aplicação de tratamentos menos agressivos, maior possibilidade de sucesso no tratamento e aumento da sobrevivência.

Também se ressalta a importância da melhoria nos documentos e sistemas de reportes de informações relativas à história clínica do paciente, bem como, a correta orientação dos profissionais envolvidos nos processos para uma maior assertividade no preenchimento de prontuários e condução das informações relatadas pelos pacientes e seus familiares.

Nesse contexto, é fundamental que os dados oncológicos, especialmente aqueles relacionados à prevenção e tratamento do câncer, sejam divulgados de forma simples e acessível. Isso pode ser alcançado por meio da educação em saúde, tanto nas escolas quanto em outros meios onde a informação possa ser facilmente disseminada.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABERLE, Hermann; SCHWARTZ, Hillel; KEMLER, Rolf. *Cadherin-catenin complex: protein interactions and their implications for cadherin function*. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 61, n. 4, pp. 514-523, 1996. Disponível em: <[https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-4644\(19960616\)61:4%3c514::aid-jcb4%3e3.0.co;2-r](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-4644(19960616)61:4%3c514::aid-jcb4%3e3.0.co;2-r)>. Acesso em: 02 ago. 2023.

ADIB, Elio *et al.*. *CDH1 germline variants are enriched in patients with colorectal cancer, gastric cancer, and breast cancer*. **British Journal of Cancer**, v. 126, n. 05, pp. 797-803, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41416-021-01673-7>>. Acesso em: 28 ago. 2023.

ASCAÑO, Jennifer J. *et al.*. *Inactivation of the E-cadherin gene in sporadic diffuse-type gastric cancer*. **Modern pathology**, v. 14, n. 10, pp. 942-949, 2001. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/modpathol.3880416>>. Acesso em: 31 ago. 2023.

BARAŃSKA, Agnieszka *et al.*. *Oral contraceptive use and breast cancer risk assessment: a systematic review and meta-analysis of case-control studies, 2009-2020*. **Cancers**, v. 13, n. 22, pp. 5654, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/cancers13225654>>. Acesso em: 22 ago. 2023.

BAR-MASHIAH, Ariel *et al.*. *CDH1 pathogenic variants and cancer risk in an unselected patient population*. **Familial Cancer**, v. 21, n. 02, pp. 235-239, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10689-021-00257-x>>. Acesso em: 23 ago. 2023.

BERX, Geert *et al.*. *Mutations of the human E-cadherin (CDH1) gene*. **Human Mutation**, v. 12, n. 04, pp. 226-237, 1998. Disponível em: <[https://doi.org/10.1002/\(sici\)1098-1004\(1998\)12:4%3C226::aid-humu2%3E3.0.co;2-d](https://doi.org/10.1002/(sici)1098-1004(1998)12:4%3C226::aid-humu2%3E3.0.co;2-d)>. Acesso em: 10 ago. 2023.

BORGES, Barbara do Nascimento *et al.*. *Promoter polymorphisms and methylation of E-cadherin (CDH1) and KIT in gastric cancer patients from northern Brazil*. **Anticancer Research**, v. 30, n. 06, pp. 2225-2233, 2010. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20651373/>>. Acesso em: 08 ago. 2023.

BOUTELLE, Anthony M.; ATTARDI, Laura D.. *p53 and tumor suppression: it takes a network. **Trends in Cell Biology***, v. 31, n. 04, pp. 298-310, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.tcb.2020.12.011>>. Acesso em: 03 ago. 2023.

BOYSEN, Trine *et al.*. *EBV-associated gastric carcinoma in high-and low-incidence areas for nasopharyngeal carcinoma. **British Journal of Cancer***, v. 101, n. 3, pp. 530-533, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6605168>>. Acesso em: 03 ago. 2023.

BRADLEY, Robert K.; ANCZUKÓW, Olga.. *RNA splicing dysregulation and the hallmarks of cancer. **Nature Reviews Cancer***, v. 23, n. 03, pp. 135-155, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41568-022-00541-7>>. Acesso em: 03 ago. 2023.

BRAY, Freddie *et al.*. *Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: a Cancer Journal for Clinicians***, v. 68, n. 06, pp. 394-424, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.3322/caac.21492>>. Acesso em: 03 ago. 2023.

BRITT, Kara L.; CUZICK, Jack; PHILLIPS, Kelly-Anne. *Key steps for effective breast cancer prevention. **Nature Reviews Cancer***, v. 20, n. 08, pp. 417-436, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41568-020-0266-x>>. Acesso em: 01 ago. 2023.

CAMPAGNA, Maria Pia *et al.*. *Epigenome-wide association studies: current knowledge, strategies and recommendations. **Clinical Epigenetics***, v. 13, n. 01, pp. 01-24, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s13148-021-01200-8>>. Acesso em: 02 ago. 2023.

CAMPOS, Eurico Cleto Ribeiro de *et al.*. *Hereditary diffuse gastric cancer: laparoscopic surgical approach associated to rare mutation of CDH1 gene. **ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva** (São Paulo)*, v. 28, n. 02, pp. 149-151, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0102-67202015000200017>>. Acesso em: 07 ago. 2023.

CARNEIRO, Fátima. *Familial and hereditary gastric cancer, an overview. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology***, v. 58, n. 101800, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.bpg.2022.101800>>. Acesso em: 09 ago. 2023.

CERRATO-IZAGUIRRE, Dennis *et al.*. *Mutational landscape of gastric adenocarcinoma in Latin America: a genetic approach for precision medicine. **Genes & Diseases***, v. 09, n. 04, pp. 928-940, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.gendis.2021.04.002>>. Acesso em: 09 ago. 2023.

CHOI, Yoon Jin; KIM, Nayoung. *Gastric cancer and family history*. **The Korean journal of internal medicine**, v. 31, n. 06, p. 1042, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.3904%2Fkjim.2016.147>>. Acesso em: 07 ago. 2023.

CORSO, Giovanni *et al.*. *Geographical distribution of E-cadherin germline mutations in the context of diffuse gastric cancer: a systematic review*. **Cancers**, v. 13, n. 06, p. 1269, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/cancers13061269>>. Acesso em: 07 ago. 2023.

CORSO, Giovanni *et al.*. *Germline CDH1 variants in hereditary diffuse gastric cancer syndrome with focus on younger women*. **Journal of Cancer Research and Clinical Oncology**, v. 149, n. 17, pp. 16147-16155, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00432-023-05318-5>>. Acesso em: 03 ago. 2023.

CORSO, Giovanni *et al.*. *Hereditary gastric and breast cancer syndromes related to CDH1 germline mutation: a multidisciplinary clinical review*. **Cancers**, v. 12, n. 06, p. 1598, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/cancers12061598>>. Acesso em: 03 ago. 2023.

CORSO, Giovanni *et al.*. *Prognosis and outcome in CDH1-mutant lobular breast cancer*. **European Journal of Cancer Prevention**, v. 27, n. 03, pp. 237-238, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1097%2FCEJ.0000000000000405>>. Acesso em: 03 ago. 2023.

COSMA, Lidia-Sabina *et al.*. *Hereditary diffuse gastric Cancer: molecular genetics, biological mechanisms and current therapeutic approaches*. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 14, pp. 7821, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/ijms23147821>>. Acesso em: 01 ago. 2023.

COSTA, Everton de Brito Oliveira; PACHECO, Cristiane. Epigenética: regulação da expressão gênica em nível transcricional e suas implicações. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 34, n. 02, pp. 125-136, 2013. Disponível em: <<https://pesquisa.bvsalud.org/controlecancer/resource/pt/lil-726422>>. Acesso em: 24 ago. 2023.

COUZIN-FRANKEL, Jennifer.. *Cancer immunotherapy*. **Science**, pp. 1432-1433, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1126/science.342.6165.1432>>. Acesso em: 20 ago. 2023.

CUTAIT, Raul; GARICOCHEA, Bernardo; COTTI, Guilherme Cutait de Castro. *Diagnosis and management of familial gastric cancer*. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgi-**

ões, v. 28, n. 04, pp. 288-292, 2001. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.soc.2011.09.003>>. Acesso em: 26 ago. 2023.

DA COSTA E SILVA CARVALHO, Simone *et al.*. *Germline variants in DNA repair genes associated with hereditary breast and ovarian cancer syndrome: analysis of a 21 gene panel in the Brazilian population*. **BMC Medical Genomics**, v. 13, pp. 01-24, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s12920-019-0652-y>>. Acesso em: 26 ago. 2023.

DA LUZ, Clarissa Medeiros *et al.*. *Completeness of hospital registration of cancer in a hospital in Florianópolis*. **ABCS Health Sciences**, v. 42, n. 2, 2017. Disponível em: <<https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-849012>>. Acesso em: 26 ago. 2023.

DENG, Wenting *et al.*. *Alcohol consumption and risk of stomach cancer: a meta-analysis*. **Chemico-Biological Interactions**, v. 336, p. 109365, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cbi.2021.109365>>. Acesso em: 26 ago. 2023.

DMITRIJEVA, Marija *et al.*. *Tissue-specific DNA methylation loss during ageing and carcinogenesis is linked to chromosome structure, replication timing and cell division rates*. **Nucleic Acids Research**, v. 46, n. 14, pp. 7022-7039, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/nar/gky498>>. Acesso em: 24 ago. 2023.

EL-HUSNY, Antonette *et al.*. *CDH1 mutations in gastric cancer patients from northern Brazil identified by Next-Generation Sequencing (NGS)*. **Genetics and Molecular Biology**, v. 39, pp. 189-198, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1678-4685-gmb-2014-0342>>. Acesso em: 15 ago. 2023.

INCA. **Estimativa 2023**: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA (Instituto Nacional de Câncer), 2023. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files/media/document/estimativa-2023.pdf>>. Acesso em: 15 ago. 2023.

FEWINGS, Eleanor *et al.*. *Germline pathogenic variants in PALB2 and other cancer-predisposing genes in families with hereditary diffuse gastric cancer without CDH1 mutation: a whole-exome sequencing study*. **The Lancet Gastroenterology & Hepatology**, v. 03, n. 07, pp. 489-498, 2018. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/s2468-1253\(18\)30079-7](https://doi.org/10.1016/s2468-1253(18)30079-7)>. Acesso em: 12 ago. 2023.

FREUDENHEIM, Jo L.. *Alcohol's effects on breast cancer in women*. **Alcohol Research: Current Reviews**, v. 40, n. 02, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.35946%2Far-cr.v40.2.11>>. Acesso em: 11 ago. 2023.

GALL, Tamara MH; FRAMPTON, Adam E.. *Gene of the month: E-cadherin (CDH1)*. **Journal of Clinical Pathology**, v. 66, n. 11, pp. 928-932, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1136/jclinpath-2013-201768>>. Acesso em: 04 ago. 2023.

GLANZ, Karen; CHEN, Jinbo; JOFFE, Steven. *Understanding risk factors for cancer: What's new and how can it help reduce the cancer burden?*. **Cancer**, v. 128, n. 19, pp. 3443-3445, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/cncr.34395>>. Acesso em: 03 ago. 2023.

GREGORY, Stephanie N.; DAVIS, Jeremy L.. *CDH1 and hereditary diffuse gastric cancer: a narrative review*. **Chinese Clinical Oncology**, v. 12, n. 03, suppl. 25. Disponível em: <<https://doi.org/10.21037/cco-23-36>>. Acesso em: 02 ago. 2023.

GUILFORD, Parry J. et al.. *E-cadherin germline mutations define an inherited cancer syndrome dominated by diffuse gastric cancer*. **Human Mutation**, v. 14, n. 03, pp. 249-255, 1998. Disponível em: <[https://doi.org/10.1002/\(sici\)1098-1004\(1999\)14:3%3C249::aid-humu8%3E3.0.co;2-9](https://doi.org/10.1002/(sici)1098-1004(1999)14:3%3C249::aid-humu8%3E3.0.co;2-9)>. Acesso em: 05 ago. 2023.

GUINDALINI, Rodrigo Santa Cruz et al.. *Frequency of CDH1 germline variants and contribution of dietary habits in early age onset gastric cancer patients in Brazil*. **Gastric Cancer**, v. 22, pp. 920-931, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10120-019-00945-9>>. Acesso em: 06 ago. 2023.

HAENSZEL, William; KURIHARA, Minoru.. *Studies of Japanese migrants. I. Mortality from cancer and other diseases among Japanese in the United States*. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 40, n. 01, pp. 43-68, 1968. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5635018/>>. Acesso em: 03 ago. 2023.

HANAHAN, Douglas; WEINBERG, Robert A.. *Hallmarks of cancer: the next generation*. **Cell**, v. 144, n. 05, pp. 646-674, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>>. Acesso em: 09 ago. 2023.

HANAHAN, Douglas; WEINBERG, Robert A.. *The hallmarks of cancer*. **Cell**, v. 100, n. 01, pp. 57-70, 2000. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)81683-9](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81683-9)>. Acesso em: 07 ago. 2023.

HANBY, A. M.; HUGHES, T. A.. *In situ and invasive lobular neoplasia of the breast*. **Histopathology**, v. 52, n. 01, pp. 58-66, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.2007.02891.x>>. Acesso em: 06 ago. 2023.

HANSFORD, Samantha *et al.*. *Hereditary diffuse gastric cancer syndrome: CDH1 mutations and beyond*. **JAMA Oncology**, v. 01, n. 01, pp. 23-32, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2014.168>>. Acesso em: 05 ago. 2023.

HOWLADER, N. *et al.*. *SEER cancer statistics review, 1975-2010*. Bethesda, MD: National. **Cancer Institute**, v. 21, n. 12, 2011. Disponível em: <https://seer.cancer.gov/archive/csr/1975_2010/index.html>. Acesso em: 06 ago. 2023.

IBGE. **Missal**: panorama. Rio de Janeiro: IBGE, 2023. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pr/missal/panorama>>. Acesso em: 16 mar. 2024.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. **Publicações**. Brasília: INCA, 2021. Disponível em: <<https://antigo.inca.gov.br/publicacoes>>. Acesso em: 12 jun. 2023.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. **Câncer**: números. Brasília: INCA, 2022. Disponível em: <<https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/numeros>>. Acesso em: 07 ago. 2023.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. **Incidência de Câncer no Brasil**: estimativa 2023. Brasília: INCA, 2023. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//estimativa-2023.pdf>>. Acesso em: 07 ago. 2023.

KANADYS, Wiesław *et al.*. *Use of oral contraceptives as a potential risk factor for breast cancer: a systematic review and meta-analysis of case-control studies up to 2010*. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 18, n. 09, pp. 4638, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/ijerph18094638>>. Acesso em: 07 ago. 2023.

KARIMI, Parisa *et al.*. *Gastric cancer: descriptive epidemiology, risk factors, screening, and prevention*. **Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers**, v. 23, n. 05, pp. 700-713, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1158/1055-9965.epi-13-1057>>. Acesso em: 19 ago. 2023.

KAURAH, Pardeep *et al.*. *Founder and recurrent CDH1 mutations in families with hereditary diffuse gastric cancer*. **Jama**, v. 297, n. 21, pp. 2360-2372, 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.1001/jama.297.21.2360>>. Acesso em: 17 ago. 2023.

KENEMANS, P.; VERSTRAETEN, R. A.; VERHEIJEN, R. H. M.. *Oncogenic pathways in hereditary and sporadic breast cancer*. **Maturitas**, v. 49, n. 01, pp. 34-43, 2004. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2004.06.005>>. Acesso em: 17 ago. 2023.

KEY, Timothy J. *et al.*. *Diet, nutrition, and cancer risk: what do we know and what is the way forward?*. **BMJ**, v. 368, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1136/bmj.m511>>. Acesso em: 13 ago. 2023.

KIM, Seong Rae *et al.*. *Effect of red, processed, and white meat consumption on the risk of gastric cancer: an overall and dose–response meta-analysis*. **Nutrients**, v. 11, n. 04, pp. 826, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390%2Fnu11040826>>. Acesso em: 16 ago. 2023.

KOLE, Christo *et al.*. *Hereditary diffuse gastric cancer: a 2022 update*. **Journal of Personalized Medicine**, v. 12, n. 12, pp. 2032, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/jpm12122032>>. Acesso em: 20 ago. 2023.

KRISTINA, Susi Ari; ENDARTI, Dwi; THAVORNCHAROENSAP, Montarat. *Burden of cancer attributable to tobacco smoking in member countries of the Association of Southeast Asian Nations (ASEAN), 2012*. **Cancer Epidemiology**, v. 44, pp. 84-90, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.canep.2016.08.005>>. Acesso em: 20 ago. 2023.

KUMAR, Vinay. **Robbins & Cotran**: patologia bases patológicas das doenças. 9^a. ed.. Rio de Janeiro: Elsevier Brasil, 2014.

LAMOUILLE, Samy; XU, Jian; DERYNCK, Rik.. *Molecular mechanisms of epithelial–mesenchymal transition*. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 15, n. 03, pp. 178-196, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/nrm3758>>. Acesso em: 30 ago. 2023.

LANCASTER, Johnathan M. *et al.*. *Society of Gynecologic Oncology statement on risk assessment for inherited gynecologic cancer predispositions*. **Gynecologic Oncology**, v. 136, n. 01, pp. 03-07, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2014.09.009>>. Acesso em: 29 ago. 2023.

LAZA VÁSQUEZ, Celmira; CALDERÓN FARFÁN, Juan Camilo. *Prácticas discursivas y resistencias como nuevas subjetividades femeninas en el riesgo heredado del cáncer de mama*. **Revista Cubana de Salud Pública**, v. 43, n. 01, pp. 82-93, 2017. Disponível em: <<https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-1042957>>. Acesso em: 27 ago. 2023.

Lee, K.; Krempely, K.; Roberts, M.E.; Anderson, M.J.; Carneiro, F.; Chao, E.; Dixon, K.; Figueiredo, J.; Ghosh, R.; Huntsman, D.; et al.. *Specifications of the ACMG/AMP variant curation guidelines for the analysis of germline CDH1 sequence variants*. **Human Mutat.**, v. 39, 1553-1568, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/humu.23650>>. Acesso em: 03 ago. 2023.

LEWANDOWSKA, Anna Maria et al.. *Environmental risk factors for cancer-review paper*. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, v. 26, n. 01, pp. 01-07, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.26444/aaem/94299>>. Acesso em: 02 ago. 2023.

LIM, Hui Jun; ZHUANG, Lizhe; FITZGERALD, Rebecca C.. *Current advances in understanding the molecular profile of hereditary diffuse gastric cancer and its clinical implications*. **Journal of Experimental & Clinical Cancer Research**, v. 42, n. 01, pp. 01-12, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s13046-023-02622-3>>. Acesso em: 05 ago. 2023.

LIU, Jian et al.. *CDH1 promoter methylation correlates with decreased gene expression and poor prognosis in patients with breast cancer*. **Oncology Letters**, v. 11, n. 04, pp. 2635-2643, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.3892/ol.2016.4274>>. Acesso em: 06 ago. 2023.

LIU, Jiang-Bo et al.. *E-cadherin expression phenotypes associated with molecular subtypes in invasive non-lobular breast cancer: evidence from a retrospective study and meta-analysis*. **World Journal of Surgical Oncology**, v. 15, n. 01, pp. 01-13, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s12957-017-1210-8>>. Acesso em: 01 ago. 2023.

LOPES, Gilberto et al.. *Early detection for colorectal cancer: ASCO resource-stratified guideline*. **Journal of Global Oncology**, v. 05, pp. 01-22, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1200/jgo.18.00213>>. Acesso em: 08 ago. 2023.

LUO, Wenyi *et al.*. *CDH1 gene and hereditary diffuse gastric cancer syndrome: Molecular and histological alterations and implications for diagnosis and treatment*. **Frontiers in Pharmacology**, v. 09, pp. 1421, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01421>>. Acesso em: 09 ago. 2023.

MA, Ke *et al.*. *Alcohol consumption and gastric cancer risk: a meta-analysis*. **Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research**, v. 23, pp. 238, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.12659/2FMSM.899423>>. Acesso em: 06 ago. 2023.

MA, Lichun *et al.*. *Tumor cell biodiversity drives microenvironmental reprogramming in liver cancer*. **Cancer Cell**, v. 36, n. 04, e6, pp. 418-430, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ccell.2019.08.007>>. Acesso em: 18 ago. 2023.

MACHLOWSKA, Julita *et al.*. *Gastric cancer: epidemiology, risk factors, classification, genomic characteristics and treatment strategies*. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 11, pp. 4012, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/ijms21114012>>. Acesso em: 17 ago. 2023.

MASSARI, Giulia *et al.*. *Frequency of CDH1 germline mutations in non-gastric cancers*. **Cancers**, v. 13, n. 10, pp. 2321, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/2Fcancers13102321>>. Acesso em: 16 ago. 2023.

MASTORAKI, Aikaterini *et al.*. *Prophylactic total gastrectomy for hereditary diffuse gastric cancer: review of the literature*. **Surgical Oncology**, v. 20, n. 04, pp. e223-e226, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.suronc.2011.08.001>>. Acesso em: 12 ago. 2023.

MATTHEWS, Helen K.; BERTOLI, Cosetta; DE BRUIN, Robertus AM. *Cell cycle control in cancer*. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 23, n. 01, pp. 74-88, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41580-021-00404-3>>. Acesso em: 12 ago. 2023.

MELO, Ana Paula Souto *et al.*. *Mortalidade por cirrose, câncer hepático e transtornos devidos ao uso de álcool: carga global de doenças no Brasil, 1990 e 2015*. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 20, pp. 61-74, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1980-5497201700050006>>. Acesso em: 12 ago. 2023.

DA SILVA MENDES, Ana Karina. **O MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) e o aCGH (array Comparative Genomic Hybridization) no diagnóstico de al-**

terações cromossômicas. Orientadores: CARREIRA, Isabel Marques (Orientadora); IGREJAS, Gilberto (Coorientador). 108 f. Dissertação (Mestrado) - PPG-BCS (Biotecnologia para as Ciências da Saúde), UTAD (Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro), Vila Real, Portugal, 2012. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10348/2938>>. Acesso em: 01 abr. 2023.

MOLINA-CASTRO, Silvia *et al.*. *Gastric cancer: basic aspects.* **Helicobacter**, v. 22, pp. e12412, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/hel.12523>>. Acesso em: 31 ago. 2023.

MOREIRA-NUNES, Caroline Aquino *et al.*. *Genetic screening analysis of patients with hereditary diffuse gastric cancer from northern and northeastern Brazil.* **Hereditary Cancer in Clinical Practice**, v. 12, n. 01, pp. 01-08, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/1897-4287-12-18>>. Acesso em: 05 ago. 2023.

MUKAISHO, Ken-ichi *et al.*. *Two distinct etiologies of gastric cardia adenocarcinoma: interactions among pH, Helicobacter pylori, and bile acids.* **Frontiers in Microbiology**, v. 06, pp. 412, 2015.

NCBI. **ClinVar:** genomic variation as it relates to human health: NM_004360.5(CDH1):c.1849G>A (p.Ala617Thr). Bethesda, USA: NCBI, 2023. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/12232/?new_evidence=true >. Acesso em: 30 ago. 2023.

NCBI. **ClinVar:** genomic variation as it relates to human health: NM_004360.5(CDH1):c.462A>G (p.Arg154=). Bethesda, USA: NCBI, 2023. Disponível em: < [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/377637/?oq=68808497&m=Nm_004360.5\(CDH1\):c.462A%3EG%20\(p.Arg154=\)](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/377637/?oq=68808497&m=Nm_004360.5(CDH1):c.462A%3EG%20(p.Arg154=)) >. Acesso em: 30 ago. 2023.

NCBI. **ClinVar:** genomic variation as it relates to human health: NM_004360.5(CDH1):c.1936A>G (p.Thr646Ala). Bethesda, USA: NCBI, 2023. Disponível em: < [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/320266/?oq=\(\(343740\[AlleleID\]\)\)&m=Nm_004360.5\(CDH1\):c.1936A%3EG%20\(p.Thr646Ala\)](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/320266/?oq=((343740[AlleleID]))&m=Nm_004360.5(CDH1):c.1936A%3EG%20(p.Thr646Ala)) >. Acesso em: 30 ago. 2023.

NORERO, Enrique *et al.*. *Risk factors for severe postoperative complications after gastrectomy for gastric and esophagogastric junction cancers*. **ABCD** (Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva - São Paulo), v. 32, pp. e1473, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/0102-672020190001e1473>>. Acesso em: 03 ago. 2023.

OLIVEIRA, Carla; SERUCA, Raquel; CARNEIRO, Fátima.. *Genetics, pathology, and clinics of familial gastric cancer*. **International Journal of Surgical Pathology**, v. 14, n. 01, pp. 21-33, 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1177/106689690601400105>>. Acesso em: 20 ago. 2023.

OLIVEIRA, M. M. *et al.*. Estimativa de pessoas com diagnóstico de câncer no Brasil: dados da Pesquisa Nacional de Saúde, 2013. **Revista Brasileira Epidemiologia**, v. 18, n. 02, p.146-157, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1980-5497201500060013>>. Acesso em: 19 ago. 2023.

OLIVEIRA, Mauren Isfer Anghebem. **A associação dos polimorfismos XbaI e ECOR1 do gene da apolipoproteína B com a doença arterial coronariana e diabetes Mellitus tipo 2**. Curitiba: UFPR, 2005.

PASSARELLI, Michael N. *et al.*. *Cigarette smoking before and after breast cancer diagnosis: mortality from breast cancer and smoking-related diseases*. **Journal of Clinical Oncology**, v. 34, n. 12, pp. 1315, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1200/JCO.2015.63.9328>>. Acesso em: 17 ago. 2023.

PÉREZ, Raúl Fernández *et al.*. *Aging and cancer epigenetics: where do the paths fork?*. **Aging Cell**, v. 21, n. 10, pp. e13709, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/ace1.13709>>. Acesso em: 04 ago. 2023.

PRAUD, Delphine *et al.*. *Cigarette smoking and gastric cancer in the Stomach Cancer Pooling (StoP) Project*. **European Journal of Cancer Prevention**, v. 27, n. 02, pp. 124-133, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1097/cej.0000000000000290>>. Acesso em: 11 ago. 2023.

PREFEITURA DE MISSAL. **Prefeitura de Missal e Unila assinam convênio para identificar o perfil de adoecimento por Câncer no município**. Missal/Paraná, Brasil: Prefeitura de Missal, 2020. Disponível em: < <https://www.missal.pr.gov.br/noticias/3960-%20prefei->

[tura-de-missal-e-unila-assinam-convenio-para-identificar-o-perfil-de-adoecimento-%20por-cancer-no-municipio](#)>. Acesso em: 18 maio 2023.

RAMOS, Catarina *et al.*. *The effectiveness of a group intervention to facilitate posttraumatic growth among women with breast cancer*. **Psycho-Oncology**, v. 27, n. 01, pp. 258-264, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/pon.4501>>. Acesso em: 07 ago. 2023.

RAWLA, Prashanth; BARSOUK, Adam. *Epidemiology of gastric cancer: global trends, risk factors and prevention*. **Przegląd gastroenterologiczny**, v. 14, n. 01, pp. 26, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.5114%2Fpg.2018.80001>>. Acesso em: 08 ago. 2023.

READ, Daniel S. *et al.*. *Evidence for phenotypic plasticity among multihost Campylobacter jejuni and C. coli lineages, obtained using ribosomal multilocus sequence typing and Raman spectroscopy*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 79, n. 03, pp. 965-973, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1128%2FAEM.02521-12>>. Acesso em: 09 ago. 2023.

RISINGER, John I. *et al.*. *Mutations of the E-cadherin gene in human gynecologic cancers*. **Nature Genetics**, v. 07, n. 01, pp. 98-102, 1994. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/ng0594-98>>. Acesso em: 07 ago. 2023.

RODRIGUEZ, Francisco D.; COVEÑAS, Rafael.. *Biochemical mechanisms associating alcohol use disorders with cancers*. **Cancers**, v. 13, n. 14, pp. 3548, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/cancers13143548>>. Acesso em: 06 ago. 2023.

RUNOWICZ, Carolyn D. *et al.*. *American Cancer Society / American Society of Clinical Oncology breast cancer survivorship care guideline*. **CA: a Cancer Journal for Clinicians**, v. 66, n. 01, pp. 43-73, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.3322/caac.21319>>. Acesso em: 02 ago. 2023.

SADJADI, Alireza *et al.*. *Neglected role of hookah and opium in gastric carcinogenesis: a cohort study on risk factors and attributable fractions*. **International Journal of Cancer**, v. 134, n. 01, pp. 181-188, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002%2Fijc.28344>>. Acesso em: 30 ago. 2023.

SANGER, Frederick; NICKLEN, Steven; COULSON, Alan R.. *DNA sequencing with chain-terminating inhibitors*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 74, n. 12,

pp. 5463-5467, 1977. Disponível em: <<https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463>>. Acesso em: 29 ago. 2023.

SHENOY, Santosh. *CDH1 (E-cadherin) mutation and gastric cancer: genetics, molecular mechanisms and guidelines for management*. **Cancer Management and Research**, v. 11, pp. 10477, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.2147/cmar.s208818>>. Acesso em: 22 ago. 2023.

SLAVIN, Thomas Paul *et al.*. *Genetics of gastric cancer: what do we know about the genetic risks?*. **Translational Gastroenterology and Hepatology**, v. 04, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.21037/tgh.2019.07.02>>. Acesso em: 14 ago. 2023.

SMITH, Malcolm G. *et al.*. *Cellular and molecular aspects of gastric cancer*. **World Journal of Gastroenterology: WJG**, v. 12, n. 19, pp. 2979, 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.3748/wjg.v12.i19.2979>>. Acesso em: 14 ago. 2023.

SOUZA, Rômulo Cristovão de; FREIRE, Sergio Miranda; ALMEIDA, Rosimary Terezinha de. Sistema de informação para integrar os dados da assistência oncológica ambulatorial do Sistema Único de Saúde. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 26, pp. 1131-1140, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0102-311X2010000600007>>. Acesso em: 15 ago. 2023.

SROUR, Bernard; TOUVIER, Mathilde. *Processed and ultra-processed foods: coming to a health problem?*. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 71, n. 06, pp. 653-655, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/09637486.2020.1807476>>. Acesso em: 14 ago. 2023.

SUNG, Hyuna *et al.*. *Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries*. **CA: a Cancer Journal for Clinicians**, v. 71, n. 03, pp. 209-249, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3322/caac.21660>>. Acesso em: 09 ago. 2023.

SURIANO, Gianpaolo *et al.*. *Identification of CDH1 germline missense mutations associated with functional inactivation of the E-cadherin protein in young gastric cancer probands*. **Human Molecular Genetics**, v. 12, n. 05, pp. 575-582, 2003. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/hmg/ddg048>>. Acesso em: 09 ago. 2023.

TSUGANE, Shoichiro; SASAZUKI, Shizuka. *Diet and the risk of gastric cancer: review of epidemiological evidence*. **Gastric Cancer**, v. 10, n. 02, p, 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10120-007-0420-0>>. Acesso em: 08 ago. 2023.

VALENTE, Sergio *et al.*. *Selective non-nucleoside inhibitors of human DNA methyltransferases active in cancer including in cancer stem cells*. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 57, n. 03, pp. 701-713, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/jm4012627>>. Acesso em: 09 ago. 2023.

VAN DER POST, Rachel S. *et al.*. *Hereditary gastric cancer: what's new? Update 2013-2018*. **Familial Cancer**, v. 18, n. 03, pp. 363-367, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10689-019-00127-7>>. Acesso em: 18 maio 2020.

VAN DOMSELAAR F, Correa D, Vaccaro C, *et al.*. *Hereditary diffuse gastric cancer (HDGC): presentation of a family with a new mutation of the CDH1 gene*. **Acta Gastroenterol Lationam**, v. 37, 158-163, 2007. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17955726/>>. Acesso em: 10 ago. 2023.

VENERITO, Marino *et al.*. *Gastric cancer: epidemiology, prevention, and therapy*. **Helicobacter**, v. 23, pp. e12518, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/hel.12518>>. Acesso em: 10 ago. 2023.

WIJNHOFEN, BPL; DINJENS, WNM; PIGNATELLI, M.. *E-cadherin-catenin cell-cell adhesion complex and human cancer*. **British Journal of Surgery**, v. 08, p. 992-1005, 2000. Disponível em: <<https://doi.org/10.1046/j.1365-2168.2000.01513.x>>. Acesso em: 10 ago. 2023.

WORLD CANCER RESEARCH FUND/AMERICAN INSTITUTE FOR CANCER RESEARCH. **Continuous Update Project Report: diet, nutrition, physical activity and colorectal cancer**. Washington, DC: World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research, 2017. Disponível em: <http://www.farmauniti.it/public/news/234_22.06.2017_CUP%20Colorectal%20Report_2017_Digital.pdf>. Acesso em: 10 ago. 2023.

WU, Xiaomin *et al.*. *Effect of dietary salt intake on risk of gastric cancer: a systematic review and meta-analysis of case-control studies*. **Nutrients**, v. 14, n. 20, p. 4260, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/n14204260>>. Acesso em: 09 ago. 2023.

YAGHOUBI, M.; BIJARCHI, R.; NAROD, S. A.. *Family history and the risk of gastric cancer*. **British Journal of Cancer**, v. 102, n. 02, pp. 237-242, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038%2Fsj.bjc.6605380>>. Acesso em: 08 ago. 2023.

YANG, Liang *et al.*. *Significance and prognosis of epithelial-cadherin expression in invasive breast carcinoma*. **Oncology Letters**, v. 16, n. 02, pp. 1659-1665, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.3892%2Fol.2018.8836>>. Acesso em: 14 ago. 2023.

YANG, Wen-Juan *et al.*. *Updates on global epidemiology, risk and prognostic factors of gastric cancer*. **World Journal of Gastroenterology**, v. 29, n. 16, p. 2452, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.3748/wjg.v29.i16.2452>>. Acesso em: 15 ago. 2023.

ZHAO, Jianhui *et al.*. *The global trends in incidence, death, burden and risk factors of early-onset cancer from 1990 to 2019*. **BMJ Oncology**, v. 02, p. e000049, 2023. Disponível em: <<https://www.research.ed.ac.uk/en/publications/the-global-trends-in-incidence-death-burden-and-risk-factors-of-e/fingerprints/?sortBy=alphabetically>>. Acesso em: 08 ago. 2023.

APÊNDICES

Apêndice A – Tabela de diluição dos *primers*

| Folha de dados dos oligos - Pedido P-2021-03-19-05 | | | | | | | | | | | | | | |
|--|----------|------------------------------|---------|-------------|------|----------|------------|------------|--------------|------|-------------------------------|----|-------------|----------------|
| Item Nº | Nome | Sequência (5' - 3') | Escala | Purificação | D.O. | Massa µg | Massa nmol | Tm 2AT+4GC | Tm 50nM NaCl | P.M. | P/ 100 pmol/µl, dissolver em: | | Nº de Bases | Nº de Controle |
| 1 | CDH1 1F | TAACCCACCTAGACCCTAGCAA | 10 nmol | RP-OPC | 3,6 | 87,0 | 13,0 | 66 | 58 | 6618 | 132 | µl | 22 | 9E-2733 |
| 2 | CDH1 1R | CTCCTCAGGACCCGAACCTTTCTT | 10 nmol | RP-OPC | 3,8 | 102,0 | 15,0 | 70 | 60 | 6912 | 148 | µl | 23 | 9E-2734 |
| 3 | CDH1 2F | TTGGTTTTGTTTTGATTGGTCATTTTGG | 10 nmol | RP-OPC | 4,8 | 158,0 | 18,0 | 76 | 55 | 8964 | 177 | µl | 29 | 9E-2735 |
| 4 | CDH1 2R | ACCCAGTCTCTCTTCTGTCTTCT | 10 nmol | RP-OPC | 3,8 | 105,0 | 15,0 | 68 | 58 | 6869 | 153 | µl | 23 | 9E-2736 |
| 5 | CDH1 3F | CAGAGAAGTACCAAGGAGAGAAAAGG | 10 nmol | RP-OPC | 4,1 | 110,0 | 14,0 | 74 | 60 | 7832 | 141 | µl | 25 | 9E-2737 |
| 6 | CDH1 3R | ACAGGTTGACATCTTGGGTCTAAA | 10 nmol | RP-OPC | 4,0 | 112,0 | 15,0 | 68 | 56 | 7393 | 152 | µl | 24 | 9E-2738 |
| 7 | CDH1 4F | GGTCTCAGAGCCTAGGAAGGTG | 10 nmol | RP-OPC | 3,6 | 109,0 | 16,0 | 70 | 61 | 6841 | 159 | µl | 22 | 9E-2739 |
| 8 | CDH1 4R | AAGGGAAGATTGTTCTTAAACTCTCC | 10 nmol | RP-OPC | 4,3 | 117,0 | 15,0 | 72 | 56 | 7970 | 146 | µl | 26 | 9E-2740 |
| 9 | CDH1 5F | GAGGTTCCGTGCCTAGAAGAC | 10 nmol | RP-OPC | 3,5 | 101,0 | 16,0 | 66 | 60 | 6472 | 156 | µl | 21 | 9E-2741 |
| 10 | CDH1 5R | TGAGACTATGAAATCAGTAGGTGCTT | 10 nmol | RP-OPC | 4,3 | 122,0 | 15,0 | 72 | 56 | 8050 | 152 | µl | 26 | 9E-2742 |
| 11 | CDH1 6F | GCCAAGCAGCAGTACATTCTACA | 10 nmol | RP-OPC | 3,8 | 98,0 | 14,0 | 68 | 58 | 7003 | 140 | µl | 23 | 9E-2743 |
| 12 | CDH1 6R | CTGCAAGTCAGTTGAAAAATCCTCAC | 10 nmol | RP-OPC | 4,3 | 111,0 | 14,0 | 74 | 58 | 7924 | 140 | µl | 26 | 9E-2744 |
| 13 | CDH1 7F | CCGGCCTATTGTTGGTTTTCAAAT | 10 nmol | RP-OPC | 4,1 | 117,0 | 15,0 | 70 | 56 | 7639 | 153 | µl | 25 | 9E-2745 |
| 14 | CDH1 7R | GAATGAACCTTCCCTCCAAAAGAA | 10 nmol | RP-OPC | 4,1 | 102,0 | 13,0 | 70 | 56 | 7604 | 134 | µl | 25 | 9E-2746 |
| 15 | CDH1 8F | TAGACTTGGTCTGGTGAAGGCAAT | 10 nmol | RP-OPC | 4,1 | 124,0 | 16,0 | 74 | 60 | 7778 | 159 | µl | 25 | 9E-2747 |
| 16 | CDH1 8R | GCATGCTACAAAGTTAGATACCAGGAA | 10 nmol | RP-OPC | 4,5 | 118,0 | 14,0 | 76 | 58 | 8326 | 142 | µl | 27 | 9E-2748 |
| 17 | CDH1 9F | ACATCTTCAAGTGTATTGAAGGCAG | 10 nmol | RP-OPC | 4,1 | 113,0 | 15,0 | 70 | 56 | 7706 | 147 | µl | 25 | 9E-2749 |
| 18 | CDH1 9R | CTCACTGAGGTGCAGAACAGTA | 10 nmol | RP-OPC | 3,6 | 99,0 | 15,0 | 66 | 58 | 6769 | 146 | µl | 22 | 9E-2750 |
| 19 | CDH1 10F | CACAGCCTATATCTGGATCCACACA | 10 nmol | RP-OPC | 4,1 | 104,0 | 14,0 | 74 | 60 | 7556 | 137 | µl | 25 | 9E-2751 |
| 20 | CDH1 10R | CAGGCAAGCTGAAAACATAGTAAAG | 10 nmol | RP-OPC | 4,1 | 105,0 | 14,0 | 70 | 56 | 7736 | 136 | µl | 25 | 9E-2752 |

| Folha de dados dos oligos - Pedido P-2021-03-19-05 | | | | | | | | | | | | | | |
|--|----------|------------------------------|---------|-------------|------|----------|------------|------------|--------------|------|-------------------------------|----|-------------|----------------|
| Item Nº | Nome | Sequência (5' - 3') | Escala | Purificação | D.O. | Massa µg | Massa nmol | Tm 2AT+4GC | Tm 50nM NaCl | P.M. | P/ 100 pmol/µl, dissolver em: | | Nº de Bases | Nº de Controle |
| 21 | CDH1 11F | CCATTTCACTTTCTCTTCCATCAACAAC | 10 nmol | RP-OPC | 4,8 | 121,0 | 14,0 | 80 | 58 | 8659 | 139 | µl | 29 | 9E-2753 |
| 22 | CDH1 11R | AACACGAGCAGAGAATCATAAGGC | 10 nmol | RP-OPC | 4,0 | 103,0 | 14,0 | 70 | 58 | 7414 | 139 | µl | 24 | 9E-2754 |

Fonte: adaptado de *Exxtend*, 2021.

Apêndice B – Amostras sequenciadas por cada par de *primer*

| Primer | Nº amostra de DNA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--------|-------------------|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|---|---|
| | 1 | 4 | 16 | 17 | 21 | 23 | 25 | 45 | 49 | 53 | 54 | 57 | 62 | 63 | 64 | 66 | 71 | 73 | 77 | 79 | 80 | 81 | 94 | 99 | 102 | 108 | 109 | 127 | 130 | 132 | 133 | 179 | 180 | | |
| 1F | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | x | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | X | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | |
| 2F | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | x | ✓ | ✓ | x | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | x | ✓ | ✓ | |
| 3F | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | x | ✓ | ✓ | x | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | x | ✓ | ✓ | |
| 4F | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | x | ✓ | x | x | ✓ | ✓ | ✓ | x | x | x | ✓ | x | ✓ | ✓ | x | x | x | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | |
| 5F | x | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | x | ✓ | x | x | x | x | x | ✓ | ✓ | x | x | ✓ | x | x | x | x | ✓ | ✓ | x | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | X | ✓ | ✓ | |
| 6F | ✓ | ✓ | x | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | x | ✓ | ✓ | x | x | x | x | x | x | x | x | x | x | ✓ | ✓ | x | x | ✓ | x | |
| 7F | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | x | x | x | ✓ | ✓ | ✓ | x | ✓ | X | ✓ | x | x | ✓ | ✓ | x | x | x | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | x | ✓ | ✓ | x | x | x | x | |
| 8F | x | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | x | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | x | |
| 9F | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | x | x | ✓ | x | X | x | x | ✓ | x | ✓ | ✓ | x | x | x | ✓ | x | ✓ | ✓ | x | x | ✓ | x | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | x | x |
| 10F | x | ✓ | x | ✓ | ✓ | x | x | x | x | x | ✓ | x | ✓ | x | x | x | ✓ | ✓ | x | ✓ | ✓ | x | ✓ | ✓ | x | x | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |

Fonte: BERTIM, 2023.

ANEXOS

Anexo A – Parecer substanciado do CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ESTABELECIMENTO DO PERFIL DE ADOECIMENTO ONCOLÓGICO DA POPULAÇÃO DE MISSAL/PR

Pesquisador: Maria Leandra Terencio

Área Temática: Genética Humana:

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

Versão: 3

CAAE: 79421517.9.0000.0107

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DA INTEGRAÇÃO LATINO-AMERICANA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.756.891

Apresentação do Projeto:

Representação

Objetivo da Pesquisa:

Representação

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Representação

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Representação

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Representação

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

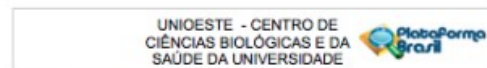
Atendeu às solicitações anteriores

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

| Tipo Documento | Arquivo | Postagem | Autor | Situação |
|----------------|---------|----------|-------|----------|
|----------------|---------|----------|-------|----------|

Endereço: UNIVERSITÁRIA
 Bairro: UNIVERSITÁRIO CEP: 85.819-110
 UF: PR Município: CASCAVEL
 Telefone: (45)3220-3272 E-mail: cep_pppg@unioeste.br

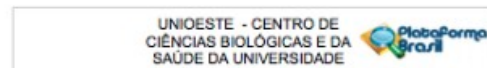
Página 01 de 03



Continuação do Parecer: 2.756.891

CASCAVEL, 05 de Julho de 2018

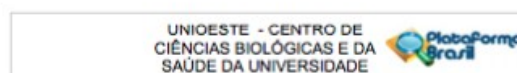
Assinado por:
 Dairiel Ferrari de Lima
 (Coordenador)



Continuação do Parecer: 2.756.891

CASCAVEL, 05 de Julho de 2018

Assinado por:
 Dairiel Ferrari de Lima
 (Coordenador)



Continuação do Parecer: 2.756.891

| Informações Básicas do Projeto | PE_INFORMACOES_BASICAS_DO_PROJETO_1017469.pdf | 05/07/2018 09:03:50 | | Aceto |
|--|---|------------------------|------------------------|-------|
| Outros | TLC_crianca.pdf | 11/01/2018 11:33:21 | Maria Leandra Terencio | Aceto |
| TCE / Termos de Assentamento / Justificativa de Ausência | TLC.pdf | 11/01/2018 11:28:42 | Maria Leandra Terencio | Aceto |
| Outros | Cadastro_digital_individual.jpeg | 23/10/2017 21:46:32 | Maria Leandra Terencio | Aceto |
| Outros | Cadastro_digital_domocilio.jpeg | 23/10/2017 21:46:08 | Maria Leandra Terencio | Aceto |
| Outros | Questionario_frequencia_alimentar.pdf | 23/10/2017 21:44:42 | Maria Leandra Terencio | Aceto |
| Outros | WHOGOL.pdf | 23/10/2017 21:43:59 | Maria Leandra Terencio | Aceto |
| Outros | Escola_HAD.pdf | 23/10/2017 21:43:34 | Maria Leandra Terencio | Aceto |
| Outros | Atencao_primaria.pdf | 23/10/2017 21:43:04 | Maria Leandra Terencio | Aceto |
| Outros | Roteiro_entrevista_Anamnese.pdf | 23/10/2017 21:40:49 | Maria Leandra Terencio | Aceto |
| Outros | Uso_dados.pdf | 23/10/2017 21:36:31 | Maria Leandra Terencio | Aceto |
| Declaração de Pesquisadores | Declaracao_pesquisadores.pdf | 23/10/2017 21:35:01 | Maria Leandra Terencio | Aceto |
| Declaração do Patrocinador | Convenio.pdf | 23/10/2017 09:41:51 | Maria Leandra Terencio | Aceto |
| Projeto Detalhado / Brochura Investigador | Projeto_detalhado.pdf | 23/10/2017 09:41:02 | Maria Leandra Terencio | Aceto |
| Folha de Rosto | Folha_da_rosto_.pdf | 23/10/2017 09:38:48 | Maria Leandra Terencio | Aceto |

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: UNIVERSITÁRIA
 Bairro: UNIVERSITÁRIO CEP: 85.819-110
 UF: PR Município: CASCAVEL
 Telefone: (45)3220-3272 E-mail: cep_pppg@unioeste.br

Página 02 de 03

Fonte: Comitê de Ética e Pesquisa (CEP/HFA), 2018.

Anexo B – Formulário de entrevista

CADASTRO INDIVIDUAL

| | | |
|---|--|--|
| Código do imóvel | Nome completo | Telefone |
| <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="text"/> |
| Nascimento | Sexo | Nacionalidade |
| <input type="text"/> | <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F | <input type="text"/> |
| Quantos anos mora em Missal | Descendências | |
| <input type="text"/> | <input type="text"/> | |
| Raça/Cor declarada | Estado Civil | Peso |
| <input type="text"/> | <input type="checkbox"/> Solteiro <input type="checkbox"/> Casado <input type="checkbox"/> Divorciado <input type="checkbox"/> União Estável <input type="checkbox"/> Viúvo <input type="checkbox"/> Ignorado | <input type="text"/> |
| Altura | Circunferência Abdominal | |
| <input type="text"/> | <input type="text"/> | |
| Doador de sangue | Data última doação | Tipo sanguíneo |
| <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não | <input type="text"/> | <input type="text"/> |
| Naturalidade (Cidade/UF) | | |
| <input type="text"/> | | |
| Nível de escolaridade | | |
| <input type="checkbox"/> Fundamental/Incompleto | <input type="checkbox"/> Médio/Incompleto | <input type="checkbox"/> Superior/Incompleto |
| <input type="checkbox"/> Fundamental/Completo | <input type="checkbox"/> Médio/Completo | <input type="checkbox"/> Superior/Completo |
| <input type="checkbox"/> Pós-Graduação/Incompleto | <input type="checkbox"/> Pós-Graduação/Completo | |
| Resp. pelo domicílio | | |
| <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não | Relação com o responsável pelo domicílio | |
| <input type="checkbox"/> Cônjuge | <input type="checkbox"/> Cônjuge (mesmo sexo) | <input type="checkbox"/> Neto(a) |
| <input type="checkbox"/> Pai/Mãe | <input type="checkbox"/> Cônjuge consanguíneo | <input type="checkbox"/> Bisneto(a) |
| <input type="checkbox"/> Pensionista | <input type="checkbox"/> Filho(a) | <input type="checkbox"/> Enteadado(a) |
| <input type="checkbox"/> Agregado(a) | <input type="checkbox"/> Sogro(a) | <input type="checkbox"/> Avô(ó) |
| <input type="checkbox"/> Genro/Nora | <input type="checkbox"/> Convivente | |
| Chá de ervas | | |
| <input type="checkbox"/> Nunca | <input type="checkbox"/> Regular ()2x/Semana ()3x/Semana ()4x/Semana ()5x ou mais/Semana | |
| <input type="checkbox"/> Exporádico | <input type="checkbox"/> Freqüente ()2x/Dia ()3x/Dia ()4x ou mais/Dia | |
| Tabagista | | |
| <input type="checkbox"/> Sim | <input type="checkbox"/> Cigarro | <input type="checkbox"/> Narguilé |
| <input type="checkbox"/> Não | <input type="checkbox"/> Cachimbo | <input type="checkbox"/> Palheiro |
| <input type="checkbox"/> Charuto | <input type="checkbox"/> Cigarrilha | |
| A quantos anos? | Quantidade/dia? | A quantos anos parou? |
| <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="text"/> |
| Consumo de álcool (em anos) | | |
| <input type="checkbox"/> Nunca | <input type="checkbox"/> Moderado (1-3 doses/dia ou 7-21 doses/semana) | <input type="checkbox"/> Alto (<de 3 doses/dia ou <de 21 doses/semana) |
| <input type="checkbox"/> Baixo (> de 1 dose/dia ou > de 7 doses/semana) | <input type="checkbox"/> Exporádico | |
| Chimarrão | | |
| <input type="checkbox"/> Nunca | <input type="checkbox"/> Regular ()2x/Semana ()3x/Semana ()4x/Semana ()5x ou mais/Semana | |
| <input type="checkbox"/> Exporádico | <input type="checkbox"/> Freqüente ()2x/Dia ()3x/Dia ()4x ou mais/Dia | |
| Quantas vezes por semana você ingere (0 a 7 vezes): | | |
| <input type="checkbox"/> Frutas | <input type="checkbox"/> Legumes e verduras | <input type="checkbox"/> Industrializados |
| <input type="checkbox"/> Carne Vermelha | <input type="checkbox"/> Churrasco | <input type="checkbox"/> Embutidos |
| <input type="checkbox"/> Doces | <input type="checkbox"/> Frituras | Tipo de gordura utilizada |
| <input type="text"/> | <input type="text"/> | |
| Se expõem ao sol? | | |
| <input type="checkbox"/> Exporádicamente | <input type="checkbox"/> 2x/Semana | <input type="checkbox"/> 3x/Semana |
| <input type="checkbox"/> 4x/Semana | <input type="checkbox"/> 5x ou mais/Semana | |
| Usa protetor solar? | | |
| <input type="checkbox"/> Todos os dias | <input type="checkbox"/> Esporadicamente (3 a 4 vezes por semana) | <input type="checkbox"/> Nunca (Uma vez ou menos por semana) |
| <input type="checkbox"/> Quase todos os dias (5 a 6 vezes por semana) | <input type="checkbox"/> Quase nunca (1 a 2 vezes por semana) | |
| Média de horas de sono por dia em uma semana: | Qualidade do sono | Religião: |
| <input type="text"/> | <input type="checkbox"/> Satisfatória <input type="checkbox"/> Insatisfatória | <input type="text"/> |
| Renda mensal: (individual) | <input type="text"/> | |
| Sofre de stress? | | |
| <input type="checkbox"/> Sim | <input type="checkbox"/> Não sei | <input type="checkbox"/> Não |
| Já buscou/recebeu tratamento? | | |
| <input type="checkbox"/> Sim | <input type="checkbox"/> Não | |
| Já foi vacinado p/ hepatite? | | |
| <input type="checkbox"/> Sim | <input type="checkbox"/> Não sei | |
| <input type="checkbox"/> Não | | |
| Já teve hepatite viral? | | |
| <input type="checkbox"/> Sim | <input type="checkbox"/> Não sei | |
| <input type="checkbox"/> Não | | |
| Possui o vírus da hepatite? | | |
| <input type="checkbox"/> Sim | <input type="checkbox"/> Não sei | |
| <input type="checkbox"/> Não | | |
| Já foi vacinado para HPV? | Já teve HPV? | Já foi diagnosticado com: |
| <input type="checkbox"/> Sim | <input type="checkbox"/> Sim | <input type="checkbox"/> Glicemia Elevada |
| <input type="checkbox"/> Não | <input type="checkbox"/> Não | <input type="checkbox"/> Colesterol Elevado |
| <input type="checkbox"/> Não sei | <input type="checkbox"/> Não sei | <input type="checkbox"/> Tiroide |
| | | <input type="checkbox"/> Depressão |
| | | <input type="checkbox"/> Hipertensão |
| | | <input type="checkbox"/> Diabetes |
| Outros transtornos mentais. | | |
| <input type="text"/> | | |
| Faz ou fez uso de alguma droga ilícita? | | |
| <input type="checkbox"/> Sim | <input type="checkbox"/> Não | |
| Se sim, quais drogas? | | |
| <input type="text"/> | | |
| Por quanto tempo? | Há quanto tempo parou? | Qual a frequência de uso? |
| <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="checkbox"/> Todos os dias |
| | | <input type="checkbox"/> Quase todos os dias (5 a 6 vezes por semana) |
| | | <input type="checkbox"/> Esporadicamente (3 a 4 vezes por semana) |
| | | <input type="checkbox"/> Quase nunca (1 a 2 vezes por semana) |
| | | <input type="checkbox"/> Nunca (1 vez ou menos por semana) |
| Obs.: <input type="text"/> | | |

Fonte: SYSGEO, 2018.

Anexo C – Formulário de entrevista

No caso de trabalhar na agricultura:

Trabalha no próprio imóvel Outro imóvel, Descreva:

| Atividades anteriores | Anos |
|-----------------------|----------------------|
| <input type="text"/> | <input type="text"/> |

Câncer Já teve/tem? Sim Não

Em qual parte do corpo/tipo?

Que idade tinha no diagnóstico

Já fez quimioterapia? Sim Não

Já fez radioterapia? Sim Não

Já fez cirurgia oncológica? Sim Não

| Câncer na família: | | | | | No caso de homens: Já realizou exame de próstata? | |
|---|----------------------|----------------------|---|---|--|------------------------------|
| Parentesco | Local do corpo | Idade do diagnóstico | Metástase | Foi a óbito pelo câncer? | <input type="checkbox"/> Sim | <input type="checkbox"/> Não |
| Cônjuge | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não | <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não | <input type="checkbox"/> Sim | <input type="checkbox"/> Não |
| 1º grau (Pais/Filhos) | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não | <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não | | |
| 2º grau (Avós/Netos/Irmãos) | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não | <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não | | |
| 3º grau (Bisavós/Tios Bisnetos/Sobrinhos) | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não | <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não | | |

| Idade do 1º exame? | Qual a frequência? |
|----------------------|----------------------|
| <input type="text"/> | <input type="text"/> |

| No caso de mulheres: Já realizou exame preventivo de colo de útero? | | Idade do 1º exame? | Qual a frequência? | Já realizou mamografia? | | Idade do 1º exame? | Qual a frequência? |
|--|------------------------------|----------------------|----------------------|------------------------------|------------------------------|----------------------|----------------------|
| <input type="checkbox"/> Sim | <input type="checkbox"/> Não | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="checkbox"/> Sim | <input type="checkbox"/> Não | <input type="text"/> | <input type="text"/> |

| Fez ou faz uso de contraceptivos orais? | Está na menopausa? | Fez ou faz uso de terapia de reposição hormonal? |
|---|---|---|
| <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não | <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não | <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não |
| Se sim, há quanto tempo utilizou/utiliza? <input type="text"/> | Se sim, em que idade iniciou? <input type="text"/> | Se sim, há quanto tempo utilizou/utiliza? <input type="text"/> |

Fonte: SYSGEO, 2018.

Anexo D – Formulário de entrevista

Faz uso de algum medicamento contínuo? Sim Não Se sim, qual medicamento?

Por quanto tempo? Há quanto tempo parou? Qual a frequência de uso?

Todos os dias Quase todos os dias (5 a 6 vezes por semana) Esporadicamente (3 a 4 vezes por semana) Quase nunca (1 a 2 vezes por semana) Nunca (1 vez ou menos por semana)

Obs.:

Atividades Físicas

| Esporte | Modalidade | Há quantos anos | Frequência |
|--------------|---|----------------------|--|
| Futebol | <input type="checkbox"/> Atleta <input type="checkbox"/> Amador | <input type="text"/> | () Nunca () Esporádico () 2x/Semana () 3x/Semana () 4x/Semana () 5x ou mais/Semana |
| Natação | <input type="checkbox"/> Atleta <input type="checkbox"/> Amador | <input type="text"/> | () Nunca () Esporádico () 2x/Semana () 3x/Semana () 4x/Semana () 5x ou mais/Semana |
| Bicideta | <input type="checkbox"/> Atleta <input type="checkbox"/> Amador | <input type="text"/> | () Nunca () Esporádico () 2x/Semana () 3x/Semana () 4x/Semana () 5x ou mais/Semana |
| Caminhada | <input type="checkbox"/> Atleta <input type="checkbox"/> Amador | <input type="text"/> | () Nunca () Esporádico () 2x/Semana () 3x/Semana () 4x/Semana () 5x ou mais/Semana |
| Volei | <input type="checkbox"/> Atleta <input type="checkbox"/> Amador | <input type="text"/> | () Nunca () Esporádico () 2x/Semana () 3x/Semana () 4x/Semana () 5x ou mais/Semana |
| Corrida | <input type="checkbox"/> Atleta <input type="checkbox"/> Amador | <input type="text"/> | () Nunca () Esporádico () 2x/Semana () 3x/Semana () 4x/Semana () 5x ou mais/Semana |
| Bocha | <input type="checkbox"/> Atleta <input type="checkbox"/> Amador | <input type="text"/> | () Nunca () Esporádico () 2x/Semana () 3x/Semana () 4x/Semana () 5x ou mais/Semana |
| Bolão | <input type="checkbox"/> Atleta <input type="checkbox"/> Amador | <input type="text"/> | () Nunca () Esporádico () 2x/Semana () 3x/Semana () 4x/Semana () 5x ou mais/Semana |
| Dança | <input type="checkbox"/> Atleta <input type="checkbox"/> Amador | <input type="text"/> | () Nunca () Esporádico () 2x/Semana () 3x/Semana () 4x/Semana () 5x ou mais/Semana |
| Academia | <input type="checkbox"/> Atleta <input type="checkbox"/> Amador | <input type="text"/> | () Nunca () Esporádico () 2x/Semana () 3x/Semana () 4x/Semana () 5x ou mais/Semana |
| Outro (Cite) | <input type="checkbox"/> Atleta <input type="checkbox"/> Amador | <input type="text"/> | () Nunca () Esporádico () 2x/Semana () 3x/Semana () 4x/Semana () 5x ou mais/Semana |

Atividade laboral principal Horas/dia Há quanto tempo? Faz uso de EPI? Sim Não se aplica Não

Quais EPIs? (Equipamento de proteção individual)

Fonte: SYSGEO, 2018.

Anexo E – Termo de consentimento livre esclarecido



UNIVERSIDADE FEDERAL DA INTEGRAÇÃO LATINO-AMERICANA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA REALIZAÇÃO DE TESTE GENÉTICO

TÍTULO DO PROJETO: Estabelecimento do Perfil de Adoecimento Oncológico da População de Missal

Este projeto pretende identificar mutações (alterações) gênicas em pacientes e em seus familiares com suspeita da Síndrome Hereditária de Câncer, residentes em Missal e assistidos pelo Sistema Único de Saúde.

Para participar da pesquisa, será realizada a retirada de 10 ml de sangue por uma punção de uma veia do braço. O local da punção pode apresentar leve dor ou inchaço que regridem espontaneamente. No laboratório de pesquisa em Ciências Médicas da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, o sangue será utilizado para extração de DNA e análises celulares e de genes relacionados ao câncer hereditário que forem prevalentes na população de Missal. O material ficará estocado em freezer por tempo indeterminado e não será disponibilizado para outras pesquisas sem sua prévia autorização.

A sua identidade e as informações obtidas durante a pesquisa serão confidenciais e somente membros da equipe terão acesso durante o processo, entretanto, você não é obrigado a continuar participando do projeto e pode a qualquer momento pedir para que os seus dados não façam parte da pesquisa. Também poderá requisitar, particularmente, seus dados referentes à análise do seu DNA e orientação adicional, fornecidas pelo pesquisador. Ademais, não haverá qualquer custo por você estar participando deste trabalho, portanto não haverá nenhuma forma de pagamento pela sua participação.

Assim, declaro que fui esclarecido:

- Sobre as características da Síndrome Hereditária do Câncer;
- Sobre a garantia de receber resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento sobre procedimentos, riscos, benefícios, limitações do teste genético, resultados do exame ao qual serei submetido, por profissional habilitado;
- Sobre a minha liberdade em retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isso traga prejuízo ao acompanhamento médico e continuidade do meu tratamento;
- Sobre o não recebimento de nenhum tipo de remuneração financeira;
- Sobre a segurança de que minha identidade será preservada, que todas as informações por mim fornecidas serão confidenciais e que o DNA do meu sangue armazenado no laboratório será utilizado apenas para este projeto;

Concordo em participar deste estudo.

Foz do Iguaçu, ____ de ____ de ____.

Nome do paciente: _____

Local de Nascimento: _____ Data de nascimento: __/__/__

Endereço: _____

Cidade: _____ Estado: _____ Fone: _____

Assinatura do paciente ou responsável: _____

Assinatura do pesquisador responsável: _____

Fone para contato: (45) 3529-2761