

POLIMORFISMOS GENÉTICOS E O CÂNCER DE MAMA: uma revisão da literatura

Katherine Borges de Abreu¹
Fernanda Costa Vinhaes de Lima²

RESUMO

Câncer é o termo utilizado para se referir às doenças neoplásicas malignas. A etiologia das irregularidades celulares responsáveis pelo desenvolvimento do câncer de mama tem sido alvo de estudo ao longo de vários anos. Este trabalho se propôs a apresentar como os polimorfismos dos genes relacionados ao câncer de mama podem ser aplicados na farmacogenética com perspectivas para aplicações em condutas terapêuticas para a doença, por meio de uma revisão bibliográfica narrativa de artigos e livros publicados entre 2019 e 2023. São abordadas as características da doença, os diagnósticos mais comumente utilizados, bem como as terapêuticas tradicionais e os fatores que geram maior risco para a progressão da patologia. A literatura mostrou que foram encontradas alterações na expressão dos genes *BRCA1*, *BRCA2*, *PTEN*, *TP53* e *RASSF1*, os quais associam-se a maior suscetibilidade para o câncer de mama, causadas pela metilação aberrante. Essas alterações na expressão dos genes possuem potencial para reversão, entretanto, novas pesquisas e estudos precisam ser realizados para esclarecer de fato como a reversão pode ser feita e utilizada na terapêutica individualizada e personalizada.

Palavras-chave: epigenética; genes supressores de tumor; oncogenes; teoria de Knudson; fatores de risco.

GENETIC POLYMORPHISMS AND BREAST CANCER: a literature review

ABSTRACT

Cancer is the term used to refer to malignant neoplastic diseases. The etiology of the cellular irregularities responsible for the development of breast cancer has been studied over several years. This work proposed to present how polymorphisms of genes related to breast cancer can be applied in pharmacogenetics with perspectives for applications in therapeutic approaches for the disease, through a narrative bibliographic review of published articles, institutional websites and books between 2019 and 2023. The characteristics of the disease, the most commonly used diagnoses, as well as traditional therapies and factors that generate greater risk for the progression of the pathology are addressed. Alterations were found in the expression of the *BRCA1*, *BRCA2*, *PTEN*, *TP53* and *RASSF1* genes, which are associated with greater susceptibility to breast cancer, caused by aberrant methylation. These changes in gene expression have the potential for reversal, however, further research and studies need to be carried out to clarify how the reversal can actually be performed and used in individualized and personalized therapy.

Keywords: epigenetics; tumor suppressor genes; oncogenes; Knudson theory; risk factors.

¹ Graduanda do curso de Biomedicina no Centro Universitário de Brasília – CEUB.

² Doutora em Patologia Molecular. Professora titular do Centro Universitário de Brasília – CEUB.

1 INTRODUÇÃO

A etiologia das irregularidades celulares responsáveis pelo desenvolvimento do câncer de mama (CM) tem sido alvo de estudo ao longo de vários anos. Na maioria dos casos, o câncer é causado por mutação ou por irregularidades na ativação dos genes. Os genes são responsáveis pela hereditariedade, desenvolvimento celular, divisão celular, regulação da expressão gênica, reações metabólicas, reparo do Ácido Desoxirribonucleico (DNA) e reações a estímulos externos. Caso sofram mutação ou ativação anormal, podem resultar em modificações aberrantes progressivas, caracterizadas pela proliferação excessiva e diferenciação falha, com tendência para a formação de um processo carcinogênico gradual, que pode levar anos para se formar e progride de forma silenciosa (RAMOS, 2021; CRAWFORD; ALDER, 2022).

É importante ressaltar que, apesar de ser frequentemente associado a mutações hereditárias, a maioria dos casos de CM ocorre em indivíduos sem histórico pregresso da doença. Essa patologia pode resultar de mutações adquiridas ao longo da vida, decorrente de exposições recorrentes a agentes danosos, maus hábitos e à exposição hormonal. Estudos indicaram que a exposição a determinados fatores de riscos está diretamente relacionada à incidência do CM. Dessa forma, é possível a adoção de medidas preventivas e de redução de risco, bem como a realização de exames periódicos para o diagnóstico precoce, primordial para um prognóstico de sucesso (AMADE, 2021).

Os efeitos adversos das terapêuticas tradicionais, juntamente com o impacto emocional inicial do diagnóstico, podem influenciar na progressão do paciente. Alguns tratamentos como a quimioterapia costumam desencadear efeitos como náuseas, fadiga, inapetência, queda de cabelo, diarreia, anemia, alterações no sono e o comprometimento do sistema imunológico. Nos casos em que a retirada total da mama é necessária, o fator emocional pode ser impactado, devido ao abalo sobre a autoestima e a autoconfiança acerca da própria aparência. Tais efeitos são extremamente debilitantes a longo prazo, além de poder levar a redução da dose medicamentosa e até mesmo a interrupção do tratamento, o que pode impactar na qualidade de vida do paciente, comprometer a eficácia da terapêutica e influenciar negativamente no prognóstico (BARROS, 2022).

Sabe-se que o avanço científico e tecnológico tem inovado cada vez mais, gerando resultados mais satisfatórios nas terapêuticas contra o CM com efeitos colaterais menos debilitantes. Na prática oncológica, o Biomédico Geneticista pode ir além do diagnóstico ao trabalhar em pesquisas inovadoras para terapêuticas menos debilitantes durante o tratamento, para uma maior eficácia. A epigenética tem se mostrado uma ferramenta primordial na busca por terapias alternativas ao explicar como os genes podem ser modulados para expressar determinados polimorfismos e como essa modulação pode ser revertida para combater a doença e seus efeitos. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi apresentar como os polimorfismos dos genes relacionados ao câncer de mama podem ser aplicados na farmacogenética com perspectivas para aplicações em condutas terapêuticas para a doença.

2 MÉTODO

Esse trabalho foi desenvolvido como uma revisão bibliográfica narrativa, cuja análise foi dividida em três etapas: inicialmente foram aprimorados os conhecimentos sobre câncer e oncogênese; em seguida foram levantados dados epidemiológicos sobre o câncer de mama;

e por último, foram relacionados as informações sobre o câncer de mama e os estudos polimórficos.

Para a busca de evidências científicas utilizou-se o acervo da Biblioteca Reitor João Herculino do Centro Universitário de Brasília (CEUB) e de bases de dados virtuais: *Elton Bryson Stephens Company* (EBSCO), *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), *PubMed Central* (PMC), *The Human Gene Database* (GeneCards) e Google Acadêmico. Em face disso, para a pesquisa, foram selecionados os seguintes descritores: “epigenetics”, “tumor suppressor genes”, “oncogenes”, “Knudson theory” e “risk factors” com o uso do conector “and/e”.

Foram utilizados 34 artigos científicos, 4 livros, 1 dissertação de mestrado, 1 trabalho de Iniciação Científica e Tecnológica e 13 sites de organizações e instituições nacionais e internacionais nos idiomas português, inglês e espanhol, no período de 5 anos (2019 a 2023). Todavia, alguns artigos científicos com data de publicação que antecedem esse intervalo também foram incluídos no trabalho por serem considerados relevantes ao tema.

3 DESENVOLVIMENTO

3.1 Câncer

Câncer é o termo utilizado para se referir às dezenas de doenças neoplásicas malignas caracterizadas pelo desenvolvimento e crescimento celular descontrolado, geralmente agressivo, que pode levar à invasão de tecidos e órgãos adjacentes. Esse evento induz a formação de tumores malignos que podem se espalhar para outras regiões corporais, processo denominado como metástase. Apesar dos tumores muitas vezes derivarem de um câncer, eles não são sinônimos. As diferenças entre as neoplasias malignas e benignas costumam ser bem definidas: nos tumores benignos não há poder de infiltração para outros órgãos; o crescimento é lento; as suas células são bem delimitadas por uma membrana; e a sua formação se assemelha ao tecido original. Já as neoplasias malignas costumam ser independentes; formadas por células anaplásicas sem delimitação membranosa; possuem um crescimento acelerado; e alto poder de invasão de órgãos adjacentes. Ambos os casos são compostos por parênquima, células em proliferação; e estroma, estrutura de sustentação formada por tecido conjuntivo e vasos sanguíneos. A incidência dessa patologia continua aumentando significativamente ao longo dos anos. Ao comparar o triênio 2020-2022 ao triênio 2023-2025, é esperado um aumento de 75 mil novos casos de câncer no Brasil. Esse aumento é resultado do envelhecimento populacional, da constante exposição à poluição e dos hábitos de vida não saudáveis (FREITAS *et al.*, 2021; RAMOS, 2021; BRASIL, 2022a).

Todo esse processo se dá por meio de mutações somáticas, adquiridas ao longo da vida e/ou germinativas, que se originam no tecido gonadal e são herdadas dos genitores. Essas mutações marcam o DNA e os cromossomos com modificações permanentes na sua estrutura e podem ser classificadas de acordo com: o efeito funcional, causado na expressão dos genes (perda ou ganho de função); ou pelo tamanho da sequência de DNA mutada, mais especificamente envolvendo substituições, deleções e/ou inserções. Há, ainda, a possibilidade de modulações epigenéticas que podem, ou não, alterar a forma como os genes se expressam, influenciada por fatores ambientais. Assim se inicia a oncogênese, geralmente impulsionada por fatores externos físicos (radiações ionizantes), químicos (cigarro, álcool, entre outros) e biológicos, como foi observado por Peyton Rous no início do século XX (TU, 2021). Estima-se que os agentes biológicos virais são responsáveis por até 15% das malignidades, uma vez que

alteram a via celular para seu benefício próprio (TURNPENNY; ELLARD, 2009; GALLO; REIS; CORDEIRO, 2020; KORI; ARGÁ, 2020).

O ciclo celular é responsável pelas trilhões de células em constante multiplicação para a formação do corpo humano e para a geração de novas partículas celulares, indispensáveis em processos como a regeneração tecidual e o desenvolvimento embrionário. Para que tudo ocorra com sucesso, o ciclo da divisão precisa ser eficiente e a célula formada só avança se não houver nenhum erro. Caso alguma anomalia seja formada, ela é induzida à morte, ou seja, a apoptose. Dessa forma, para que uma célula danificada seja considerada cancerígena, é necessário que o seu material genético fique comprometido e que a célula adquira a capacidade de continuar se multiplicando, ao mesmo tempo em que evita a apoptose. Isso ocorre por um desequilíbrio do meio ambiente em que as proteínas que controlam o processo de divisão estão imersas. Essas proteínas são codificadas pelos genes especiais, sendo eles: os genes supressores de tumor, os proto-oncogenes e os oncogenes (SANTOS; GONZAGA, 2018; AMADE, 2021).

O sistema imunológico também desempenha um importante papel ao atuar como vigilante no controle neoplásico. Essa vigilância ocorre por meio de células como os linfócitos T e as células assassinas naturais (NK). Os linfócitos T citotóxicos (CD8+), por exemplo, atuam no reconhecimento de antígenos tumorais pelas células imunes, o que desencadeia uma resposta imunológica para eliminar as células cancerígenas. Entretanto, os tumores podem desenvolver mecanismos de evasão para tentar evitar o processo imune como a alteração do microambiente tumoral por meio da liberação de mediadores imunossupressores para inibir a resposta imunitária. Dessa forma, as células tumorais escapam do processo de imunovigilância e adquirem capacidade proliferativa. A compreensão dos mecanismos envolvidos nesses processos tem sido primordial no desenvolvimento de novas terapias (SILVA *et al.*, 2021).

3.1.1 Proto-oncogenes, oncogenes e genes supressores de tumor

Os proto-oncogenes são genes normais que, quando transcritos, codificam proteínas. Eles são aliados do crescimento e do desenvolvimento celular atuando como reguladores nos fatores de crescimento, nos receptores de fatores de crescimento, nas moléculas de transdução de sinal e nos fatores de transcrição nucleares. Eles são suscetíveis a várias formas específicas de mutações, geralmente na sequência codificadora e reguladora de genes, que os conduzem a uma superexpressão (ganho de função) refletida na produção celular. Assim, essa produção se torna desordenada, rápida e contínua, transformando esses genes normais em oncogenes ativos. Apenas um único alelo alterado basta para essa ativação e os efeitos das suas mutações variam desde a desregulação até translocações cromossômicas e eventos de amplificação gênica que criam produto proteico e ácido ribonucleico (RNA) mensageiro codificado em excesso (LIMA, 2020; MALEBARY; KHAN; DAANIAL KHAN, 2021; CHO, 2022).

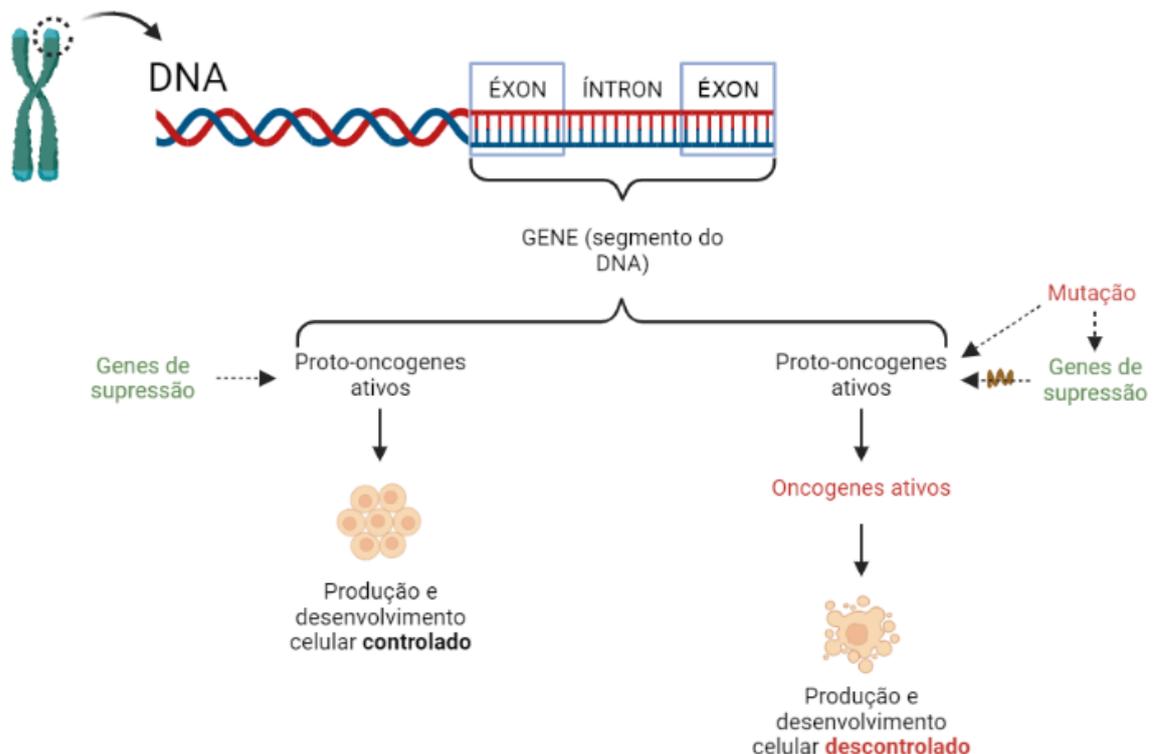
Um oncogene celular (*c-onc*) é um derivado disfuncional dos proto-oncogenes. Eles transformam as células normais em células cancerosas, por meio de mutações, ao ativarem a proliferação celular desordenada e/ou por suprimirem a apoptose na condução do câncer, esse é o chamado estresse de replicação. Vários oncogenes estão relacionados a esse estresse, como a *Ciclina E1 (CCNE1)*, associada ao câncer de mama. Essa mutação se dá por alguns processos, como: a hipometilação do DNA que culmina na instabilidade e, conseqüentemente, pelo aumento da expressão gênica; pela amplificação gênica como poliploidias e outras alterações no número dos genes; e por rearranjos cromossômicos (translocações,

duplicações, inversões e deleções). Geralmente são dominantes, ou seja, apenas uma única cópia do alelo mutado é o suficiente para desencadear um processo de progressão tumoral. Ao contrário dos genes supressores de tumor (GSTs), os oncogenes costumam ser encontrados em neoplasias somáticas e raramente são vistos em cânceres de origem germinativa (BROWN, 2021; GRIFFITHS *et al.*, 2022; LLOBET *et al.*, 2022).

Os genes supressores de tumor (GSTs) codificam proteínas de supressão tumoral e, quando expressas, atuam sob os proto-oncogenes. Esses genes trabalham na regulação do ciclo celular, no reparo de danos do DNA, no reparo de proteínas (ubiquitinação) e na diferenciação celular. A sua disfunção leva a ineficiência das proteínas por eles codificadas, resultando em um ciclo desregulado, como acontece com os genes: *Breast Cancer gene 1 (BRCA1)*; *Breast Cancer gene 2 (BRCA2)*; e *Phosphatase and Tensin Homologue (PTEN)*. Em contraste aos oncogenes, as mutações que afetam os GSTs são recessivas, ou seja, as duas cópias do alelo são inativas e resultam na perda da sua função. Vários estudos indicam que os GSTs estão relacionados à tumorigênese e à metástase (WANG *et al.*, 2018; LIMA, 2020; CHO, 2022).

A figura 1 demonstra a relação entre os proto-oncogenes, os GSTs, os oncogenes e as mutações. Um oncogene é formado a partir de um proto-oncogene sob mutação direta, que se torna um condutor de uma atividade excessiva, ou indireta, no caso do gene mutado ser um GST que tem a sua função comprometida pela perda da expressão das suas proteínas, o que leva a desregulação da produção e do desenvolvimento celular. Ambos os casos resultam em um ciclo celular desequilibrado.

Figura 1 – Esquema sobre a atuação e a relação dos proto-oncogenes, genes de supressão tumoral e oncogenes na oncogênese.



Fonte: modificado de Cho, 2022; Griffiths *et al.*, 2022.

3.2 Câncer de mama

O câncer de mama (CM) é um conjunto de doenças neoplásicas com intensa divisão celular que, geralmente, se inicia nos ductos e nos lóbulos mamários, região sob grande influência hormonal. Seus tipos são heterogêneos devido às suas características espaciais, histológicas e imuno-histoquímicas que, conseqüentemente, refletem no quadro clínico do paciente e na sua resposta ao tratamento. Os mais comuns são o carcinoma lobular invasivo e o carcinoma ductal invasivo que, sozinho, chega a somar 85% do total de casos e costuma evoluir do carcinoma ductal *in situ* (localizado). Inicialmente o CM se desenvolve de forma assintomática. Conforme a doença evolui, pode vir a apresentar sinais e sintomas variados como: presença de nódulos, linfonodos palpáveis nas axilas, descamação, inversão do mamilo, edema semelhante a casca de laranja e secreção papilar, geralmente transparente, mas que também pode se apresentar rosado pela presença de hemácias. O câncer de mama é um problema de saúde pública mundial, uma vez que, é a neoplasia mais incidente e com o maior número de óbitos de mulheres no mundo. No Brasil, o número de casos fica apenas atrás do câncer de pele não-melanoma e afeta ambos os sexos (CDC, 2021; BRASIL, 2022b).

Devido às mudanças mundiais epidemiológicas e demográficas, a incidência e a mortalidade pelo câncer de mama está aumentando consideravelmente todos os anos. Para o triênio 2023-2025 são estimados 704 mil novos casos de câncer no Brasil. Estima-se que, considerando todos os novos casos, 73.610 mil serão de CM feminino, cerca de 10,5% de todos os tipos de câncer em ambos os sexos e 20,3% de todos os tipos de câncer em mulheres. Embora com menor frequência, o câncer de mama pode atingir os homens, contabilizando 1% de todos os casos. Assim, é possível estimar cerca de 736 novos casos de CM masculino para o triênio 2023-2025. Por conta da desinformação da população masculina e do diagnóstico tardio, em 2020, foram contabilizados 207 óbitos de homens, decorrente do CM (BRASIL, 2022c; SANTOS *et al.*, 2023).

Apesar de em pequenas quantidades, os homens possuem um tecido mamário semelhante ao das mulheres com potencial para o desenvolvimento de uma neoplasia. Nesses casos, a doença é significativamente influenciada pelos genes *BRCA*, por fatores hormonais e por algumas síndromes como: síndrome de Li-Fraumeni (*Tumor Protein 53 – TP53*), síndrome de Klinefelter (47, XXY), síndrome de Lynch (*Partner and Localizer of BRCA2 – PALB2*) e síndrome de Cowden (*PTEN* e genes de reparo incompatíveis). Por se tratarem de casos raros, o diagnóstico em homens costuma ser tardio, o que interfere no aumento das taxas de mortalidade (KHATTAB; KASHYAP; MONGA, 2023).

É estimado que até 10% das mulheres que desenvolvem câncer nas mamas possuem uma predisposição genética à doença, decorrente de mutações nos genes de susceptibilidade *BRCA1* e *BRCA2*, o que eleva o risco de uma neoplasia. Essas mutações contabilizam de 5% a 10% de todos os cânceres de mama e induzem a formação de um câncer pelo aumento da atividade de crescimento do tecido mamário. Os genes *Cadherin-1 (CDH1)*, *Serine/threonine kinase 11 (STK11)* e *TP53* são alguns genes que carregam um maior risco para o desenvolvimento de câncer de mama ao sofrer mutação. Evidências sugerem que a exposição ambiental prejudicial é um fator de risco para o câncer de mama, principalmente em mulheres, durante períodos específicos ao longo da vida. Esses períodos são considerados janelas de suscetibilidade em que a mulher está vulnerável. O impacto dessas exposições nocivas na saúde dessa comunidade reforça a importância do entendimento sobre a relação entre o câncer de mama e o meio ambiente, relação essa investigada pelo campo da

epigenética (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2022; CRAWFORD; ALDER, 2022; TOTZKAY *et al.*, 2023).

A mamografia é considerada o padrão ouro para se rastrear a doença. Esse é um procedimento radiológico indicado para mulheres acima de 35 anos, com histórico familiar da doença; e acima de 50 anos, sem esse histórico. É um exame detalhado de baixa radiação com a utilização de um aparelho chamado Mamógrafo onde a mama é posicionada entre duas placas de acrílico, pressionada e a radiografia é realizada. Apesar de ser um exame detalhado, em mamas muito densas e jovens não possui muita exatidão, uma vez que o tumor pode ser confundido com o tecido fibroso. Nesse caso, é preferível a execução de uma ultrassonografia, um método para a formação de imagens que emite ondas sonoras não audíveis com o auxílio de um transdutor. A ressonância magnética também pode ser feita, entretanto, por conta do seu alto custo, é mais indicado para o acompanhamento da doença, em casos de alto risco e para o diagnóstico em casos onde já existe a suspeita de um processo cancerígeno. Uma vez que o exame de imagem é feito, é necessário confirmar a suspeita de neoplasias por meio de uma biópsia em que se retira uma pequena quantidade do tecido mamário para a visualização das suas células em microscópio. O diagnóstico rápido e concreto é essencial para um bom prognóstico (ELIAS, 2020; CRAWFORD; ALDER, 2022).

Conforme a ciência avança, novos tratamentos e medicamentos são descobertos em prol de uma cura. Atualmente, as terapêuticas mais comumente utilizadas nessa doença são a mastectomia simples ou bilateral, em que a retirada de uma ou das duas mamas é feita; a quimioterapia, para se conter o avanço das células mutadas pela corrente sanguínea; e a radioterapia, para destruir as células tumorais de forma localizada. Também podem ser utilizadas a terapia hormonal ou a terapia imune, nos casos em que a neoplasia se desenvolve por meio dos hormônios ou em que se utiliza o sistema imunológico fortalecido para se combater a doença e os seus efeitos adversos, respectivamente. Por ser uma doença com tendências sistêmicas, é comum que se tenha uma equipe multiprofissional trabalhando em uma abordagem adequada. Por isso, mais de um método pode ser utilizado para que se tenha uma resposta terapêutica eficaz (CDC, 2021).

3.2.1 Fatores de risco

O câncer de mama é fortemente influenciado pela idade, entretanto, é cada vez mais comum o diagnóstico em mulheres jovens. A idade dessas jovens ainda não é padronizada, mas a maior parte da literatura se refere a elas com menos de 40 anos. Atualmente, a incidência dessa neoplasia em mulheres com menos de 45 anos de várias etnias totaliza, aproximadamente, 11% dos novos casos. Infelizmente, os casos tendem a ser histologicamente caracterizados por um alto grau com baixa expressão e/ou com ausência de receptores de estrogênio e progesterona. Por conta do diagnóstico tardio, estudos indicam que a menor sobrevivência das jovens adultas é de 5 anos, pior prognóstico se comparado ao de pacientes com maior idade. Tal fato reforça a importância do auto-exame, para prevenção a partir dos 20 anos de idade (ROSSI; MAZZARA; PAGANI, 2019).

De acordo com o American Cancer Society (2022), para se calcular o risco relativo para o câncer de mama invasivo em mulheres, é feito um comparativo entre as mulheres expostas e as não expostas a essa doença, sendo que a pontuação desse risco é influenciada por questões psicossociais, histórico familiar, quadros clínicos e estilo de vida:

O risco relativo compara o risco absoluto de doença entre pessoas com uma exposição particular ao risco entre pessoas sem essa exposição. Se o risco relativo

está acima de 1,0, então o risco é maior entre aqueles com exposição do que sem ela, enquanto que se o risco relativo estiver abaixo de 1,0, a exposição reduz o risco de doenças (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2022, p. 14).

A tabela 1 apresenta os riscos relativos para cada fator de exposição, respectivamente. Quanto maior o risco, maiores são as chances para a ocorrência da doença. É possível observar que o histórico pessoal e familiar é um fator em comum.

Tabela 1 – Fatores que aumentam o risco relativo para câncer de mama Invasivo em mulheres.

Risco relativo	Fator
>4,0	<ul style="list-style-type: none"> - Idade (+65 versus <65 anos, embora o risco aumente em todas as idades até os 80 anos); - Hiperplasia atípica confirmada por biópsia; - Certas mutações genéticas hereditárias para câncer de mama (por exemplo, <i>BRCA1</i>, <i>BRCA2</i>, <i>PALB2</i>, <i>TP53</i>); - Neoplasia lobular; - Histórico pessoal de câncer de mama de início precoce (<40 anos).
4,0-2,1	<ul style="list-style-type: none"> - Carcinoma ductal in situ; - Altos níveis endógenos de estrogênio ou testosterona (pós-menopausa); - Radiação de alta dose no tórax (por exemplo, tratamento para linfoma de Hodgkin); - Mamas radiologicamente densas (26% ou mais em comparação com 11%-25% de densidade mamária); - Histórico pessoal de câncer de mama (<40 anos); - Dois ou mais parentes de primeiro grau com câncer de mama.
2,0 - 1,1	<ul style="list-style-type: none"> - Consumo de álcool; - Menarca precoce (<11 anos); - Altura alta; - Idade tardia na primeira gravidez a termo (>30 anos); - Menopausa tardia (≥55 anos); - Nunca amamentou uma criança; - Nenhuma gravidez a termo; - Um parente de primeiro grau com câncer de mama; - Obesidade (pós-menopausa); - Histórico pessoal de câncer de endométrio ou ovário; - Sedentarismo (exposição reduzida de hormônios sexuais devido ao aumento do número de ciclos anovulatório); - Doença proliferativa da mama sem atipia (hiperplasia ductal normal, fibroadenoma); - Uso terapêutico recente e prolongado de hormônio da menopausa contendo estrogênio e progesterona; - Uso precoce e prolongado de anticoncepcional hormonal; - Diabetes tipo 2; - Ganho de peso na idade adulta.

Outros fatores, sem risco estimado

-
- **Puberdade precoce:** células mamárias proliferativas indiferenciadas aumentam rapidamente e a maior exposição a alterações hormonais aumenta a suscetibilidade a agentes mutagênicos;
 - **Falha na lactação:** falta de diferenciação do tecido mamário, mais suscetível a mutagênicos não estrogênicos e estrogênio;
 - **Fumo:** induz mutações genéticas, como mutação do gene p53 e dos produtos do DNA;
 - **Toxinas ambientais:** poluentes podem interromper a sinalização endócrina.
-

Fonte: adaptado de American Cancer Society, 2022; Kashyap *et al.*, 2022.

É possível estimar que o início da vida sexual monogâmica constante, acima dos 30 anos, gera um risco de 7,0%, para o desenvolvimento do câncer de mama, decorrente da exposição prolongada ao hormônio estrogênio. Esse é um aumento de 5,6% em relação às mulheres que firmaram a vida sexual monogâmica em torno dos 20 anos. O mesmo vale para as gestações, o que é explicado devido à falta de diferenciação do tecido mamário, a maior exposição a mutagênicos não estrogênicos e a genotoxicidade por estrogênio. Do mesmo modo, uma dieta desequilibrada, com alto teor de gordura animal e carência de exercícios físicos pode elevar as chances de uma neoplasia, uma vez que o colesterol ativa a sinalização de estrogênio e aumenta a proliferação celular, assim como o peso corporal elevado induz o aumento dos níveis de citocinas e quimiocinas inflamatórias. Já hábitos etílicos moderados (cerca de 40g de álcool por dia) representam uma elevação de 46% no risco da neoplasia de mama. A explicação se dá pela metabolização do álcool, pela enzima álcool desidrogenase, em acetaldeído que, caso acumulado, se liga às proteínas do DNA e interfere no sistema de defesa antioxidante, na síntese de DNA e no sistema de reparo ao promover uma desregulação do *BRCA1*. Por esses e outros fatores, as interações entre os hábitos de vida e a oncogênese ficam mais evidentes (KASHYAP *et al.*, 2022).

3.3 Teoria de Knudson

Inúmeros são os fatores para o desenvolvimento de um câncer. As descobertas para compreender como essa doença é influenciada tiveram início com a Teoria da Aneuploidia em 1890, onde David Paul Hansemann e o casal Theodor e Marcella Boveri observaram como as divisões nucleares assimétricas e a quebra cromossômica incorreta são características dos carcinomas, bem como essas mitoses assimétricas agem nos ouriços-do-mar, resultando em um crescimento celular indiferenciado, semelhante ao de um câncer. Já Otto Heinrich Warburg, em 1931, ganhou um Nobel por descobrir que a maioria dos tumores consomem glicose que será fermentada em lactato, ao invés de ser oxidada pela respiração, como ocorre em tecidos normais. Ambas as teorias, mais tarde, foram apoiadas pelo médico geneticista Alfred Knudson e a sua Teoria dos Dois Eventos (ENGVILD, 2019; LUENGO; LI; VANDER HEIDEN, 2021; BOWES *et al.*, 2022).

A teoria de Knudson surgiu em 1971, baseada na observação e no estudo clínico de 48 pacientes com retinoblastoma. A partir de então, Knudson levantou a hipótese de que um retinoblastoma é necessariamente causado por dois eventos mutacionais: o primeiro evento seria aquele que acontece nas células da linhagem germinativa com uma inativação do primeiro alelo de um gene supressor de tumor estudado, enquanto o segundo acontecimento seria adquirido nas células da linhagem somática e causaria a inativação do segundo alelo. Ambos os eventos também poderiam acontecer somente na linhagem somática, porém de forma bem mais rara. Além disso, o geneticista foi o primeiro estudioso a propor a tese de que

genes afetados por mutações germinativas em cânceres hereditários também podem causar tumores não hereditários, em casos de mutação em tecidos somáticos. Inicialmente, a teoria foi usada apenas para tentar explicar o câncer infantil da retina, mas logo estudiosos começaram a aplicar essa hipótese em outros tipos de neoplasias, como o câncer de mama (KNUDSON JR, 1971; CALLEJA-LÓPES, 2021; CHERNOFF, 2021).

3.4 Epigenética

É possível definir a epigenética como um campo científico que estuda como os estímulos ambientais e as experiências no decorrer da vida afetam a expressão dos genes. Esse termo surgiu em 1942, quando o biólogo inglês Conrad Waddington realizou um estudo sobre a influência ambiental acerca do genótipo humano e observou como essas influências podem controlar as suas manifestações. Esse estudo foi denominado de “Paisagem Epigenética”, termo utilizado para se referir ao modo como os genes se aproveitam do meio externo para formar o organismo, evento esse que ocorre no DNA sem alterar a sua sequência. A identidade dos pares de base não se altera, uma vez que essa modulação ocorre apenas sob a expressão dos genes. Tal fato é mais claramente observado em casos de gêmeos monozigóticos que compartilham do mesmo material genético, mas que ao longo da vida, desenvolvem características singulares por conta dos seus hábitos individuais, o que resulta em níveis de expressões diferentes e, conseqüentemente, em características clínicas diversas (GALLO; REIS; CORDEIRO, 2020; MASCARO, 2020).

Assim, Waddington firmou a definição de epigenética e o termo “plasticidade genômica” foi criado para caracterizar as habilidades que os genótipos possuem para manifestar vários fenótipos, ou seja, possuem alta capacidade para modificar as suas características expressas. Já em 1975, Arthur Riggs e os seus colegas observaram que a marca epigenética pode ser herdada, de forma não permanente, tanto pela mitose quanto pela meiose. Mesmo com poder de reparo, a marca pode ser repassada aos descendentes, o que explicaria a teoria do pulo de gerações em casos de câncer, uma vez que este se daria pelo acúmulo das mutações. Desde então, pôde-se compreender que a sua formação ocorre por meio de alguns mecanismos: a metilação do DNA, a ação de RNAs não codificantes, as modificações de histonas e a remodelação da cromatina (CHENG *et al.*, 2019).

A metilação é a forma mais estudada e ocorre quando enzimas metiltransferase adicionam um radical metil no carbono 5 de uma base nitrogenada citosina unida por um grupo fosfato a uma base guanina (sítio CpG). Esse processo pode ser expresso como uma hipometilação, quando há a ativação de genes germinativos, o aumento da atividade transcricional e a instabilidade genômica; ou como uma hipermetilação quando há o silenciamento de genes e/ou a alteração da expressão de isoformas da transcrição, decorrentes da não compactação da cromatina quando regiões promotoras são afetadas. O silenciamento dos genes costuma ser causado pela metilação de 70% a 80% dos sítios CpG do DNA, com histonas hipoacetiladas e hipermetiladas. Em casos de neoplasias, corriqueiramente tem-se presentes a hipometilação de proto-oncogenes e hipermetilação dos GST's, estimulando a oncogênese (AL ABOUD; TUPPER; JIALAL, 2023).

Existem vários mecanismos para corrigir as modulações epigenéticas. Da mesma forma como elas são criadas, elas podem ser revertidas por meio das modificações de histonas e da remodelação da cromatina, processo esse que envolve a reorganização das histonas e das modulações epigenéticas relacionadas. Outra alternativa promissora é o uso de enzimas demetilases e desacetilases que podem remover os grupos metil e acetil do material genético

e das histonas e, assim, controlar as metilações aberrantes, bem como manter a estabilidade dessas reações, ou seja, reverter as hipermetilações e hipometilações (CHENG *et al.*, 2019).

Além disso, o sistema de reparo do DNA desempenha um importante papel ao corrigir as alterações prejudiciais do material genético. Esses mecanismos incluem o reparo por excisão de base, o reparo por excisão de nucleotídeo, o reparo de mau pareamento, a síntese *translesão*, a recombinação homóloga e a junção de extremidades não homólogas. Esses processos ocorrem ainda durante a síntese do material genético em um processo que se assemelha a uma revisão, para que a integridade genética seja restaurada. Dessa forma, qualquer dano reversível no DNA pode ser reparado. O principal sistema de correção é o reparo por excisão de bases em que o alvo do seu processo é o dano das bases nitrogenadas por alquilação, oxidação e desaminação. A enzima DNA Polimerase β (Pol β) tem um papel crucial nessa correção ao inserir um nucleotídeo para corrigir a região danificada e a DNA ligase finaliza o processo agindo como uma cola, para unir as extremidades da fita do DNA que foi quebrada para a correção. Entretanto, com o envelhecimento do organismo humano e com acúmulo das alterações danosas no material genético, a capacidade do sistema de reparo pode ficar comprometida, bem como a sua eficiência, o que leva ao aumento da suscetibilidade a danos no DNA (GRIFFITHS *et al.*, 2022).

3.5 Polimorfismos e o câncer de mama

De acordo com a Teoria de Knudson, para o desenvolvimento de uma neoplasia, é necessário que os dois alelos de um GST sejam inativados, sendo que a inativação de um ou de ambos os alelos se daria de forma não hereditária. Nesse contexto, a epigenética seria responsável por essa inativação somática, uma vez que essa ferramenta é responsável pela modulação da expressão gênica, bem como dos GST's. Alguns genes supressores de tumor como o *BRCA1* e o *Ras Association Domain Family Member 1 (RASSF1)* sofrem influência epigenética e geram polimorfismos. Quando silenciados, podem promover o crescimento do tecido mamário devido ao desenvolvimento celular descontrolado, processo esse associado ao aumento da suscetibilidade para o CM. Na tabela 2 estão reunidos todos os genes que foram relacionados ao CM pelas fontes referenciadas neste trabalho, bem como as suas localizações cromossômicas, suas principais funções, seus prognósticos e as origens das suas mutações (WANG *et al.*, 2018; GALLO; REIS; CORDEIRO, 2020; CALLEJA-LÓPES, 2021).

Tabela 2 – Genes citados nos artigos referenciados, sujeitos a mutações de origem somática e germinativa.

Gene	Localização	Principal função/ produto	Prognóstico	Mutação
<i>APC</i>	5q22.2	Codificação de proteínas	Alto grau	Somática/ germinativa
<i>ATM</i>	11q22.3	Reparo genético	Pacientes de alto risco e grau	Somática/ germinativa
<i>BCL6</i>	3q27.3	Codificação de proteínas	Prevalência de células cancerígenas resistentes	Somática/ germinativa
<i>BRCA1</i>	17q21.31	Reparo genético	Progressão agressiva e terapêutica desafiadora	Somática/ germinativa
<i>BRCA2</i>	13q13.1	Reparo genético	Metástase óssea e central, com maiores taxas de óbitos	Somática/ germinativa
<i>BRIP1</i>	17q23.2	Reparo genético	CM de baixa penetrância, proliferação celular aumentada e recorrência tumoral mais precoce	Somática/ germinativa
<i>CCNE1</i>	19q12	Reparo genético	Tumores com altos níveis de	Somática/

			estresse replicativo	germinativa
<i>CDH1</i>	16q22.1	Sinalização extracelular da matriz	Progressão metastática e sobrevida curta	Somática/germinativa
<i>CDKN2A</i>	9p21.3	Codificação de proteínas	Progressão tumoral	Somática/germinativa
<i>CHEK2</i>	22q12.1	Reparo genético	Bom ou ruim, muda de acordo com a variante afetada	Somática/germinativa
<i>ERBB2</i>	17q12	Quinase codificação de proteínas	Agressivos com altas chances de metástase	Somática
<i>E2F1</i>	20q11.22	Codificação de proteínas	Progressão mais rápida com potencial metastático	Somática/germinativa
<i>FGFR1</i>	8p11.23	Proliferação, diferenciação e migração celular	Associado a um risco de recidiva no câncer de mama hormônio-positivo	Somática
<i>GATA1</i>	Xp11.23	Ativador ou repressor transcricional	Pode desempenhar um papel crítico na metástase do câncer de mama	Somática
<i>GATA3</i>	10p14	Ativador transcricional	Pode desempenhar um papel crítico na metástase do câncer de mama	Somática
<i>ITPK1</i>	14q32.12	Fosforilação	Associado a metástases e a baixa sobrevida global, se comparado em pacientes com baixa expressão gênica	Somática/germinativa
<i>JAK2</i>	9p24.1	Sinalização intracelular	Apresenta resistência terapêutica, associado ao crescimento de tumores sólidos e a baixa sobrevida	Somática/germinativa
<i>KRAS</i>	12p12.1	Regulação da proliferação celular	Associado a metástases e a baixa sobrevida global, com a frequência de mutação de aproximadamente 0,6%	Somática/germinativa
<i>MLH1</i>	3p22.2	Sinalização de danos e reparo genético	Associado a síndrome de Lynch e pode levar à progressão do câncer de mama para estágio avançado	Somática/germinativa
<i>MOS</i>	8q12.1	Atividade catalítica e bioquímica	Alterações em uma ou mais dessas sequências podem estar associadas à progressão tumoral	Somática/germinativa
<i>MSH2</i>	2p21-p16.3	Reparo de incompatibilidade	Associado a síndrome de Lynch e pode levar à progressão do câncer de mama para estágio avançado	Somática/germinativa
<i>MSH6</i>	2p16.3	Reparo de incompatibilidade	Associado a síndrome de Lynch e pode levar à progressão do câncer de mama para estágio avançado	Somática/germinativa
<i>MYB</i>	6q23.3	Ativador transcricional, controle da proliferação e diferenciação de células progenitoras hematopoiéticas	Associado ao câncer de mama positivo para receptor de estrogênio (ER), crítico para o crescimento de células tumorais	Somática/germinativa
<i>MYC</i>	8q24.21	Ativador transcricional de genes relacionados ao crescimento	Associado a tumores de alto grau, cerca de 30% a 50	Somática/germinativa
<i>NF1</i>	17q11.2	Induz a atividade GTPase de Ras	Incidência substancial de câncer de mama contralateral e baixa	Somática/germinativa

			sobrevida	
<i>NOTCH1</i>	9q34.3	Codificação de proteínas	Pró-oncogênico e menor sobrevida livre	Somática/ germinativa
<i>NOTCH2</i>	1p12	Codificação de proteínas	Progressão tumoral e metástase	Somática/ germinativa
<i>PALB2</i>	16p12.2	Reparo genético	Baixa sobrevidas com maior incidência metastática	Somática/ germinativa
<i>PIK3CA</i>	3q26.32	Regular p110 alfa	Altamente associado aos tipos ER + /HER2 -, tumorigênese, progressão e resistência terapêutica	Somática
<i>PMS2</i>	7p22.1	Sinalização de danos e reparo genético	Associado a síndrome de Lynch e pode levar à progressão do câncer de mama para estágio avançado	Somática/ germinativa
<i>P2RX7</i>	12q24.31	Receptor para ATP	Incidência de crescimento tumoral primário e a metástase, entretanto, a expressão anormal do receptor P2X7 afeta a ocorrência e o desenvolvimento do câncer de mama	Somática/ germinativa
<i>PTEN</i>	10q23.31	Bloquear a sinalização PI3K	Associado ao crescimento de tumores sólidos e a progressão metastática	Somática/ germinativa
<i>RAD51C</i>	17q22	Recombinação homóloga	Tendência para câncer de mama triplo negativo, invasivo e ductal invasivo	Somática/ germinativa
<i>RASSF1</i>	3p21.31	Reparo genético	Tumores sólidos, progressão tumoral, maior potencial de metástase e maior agressividade	Somática/ germinativa
<i>RB1</i>	13q14.2	Regulador do ciclo celular	Associado aos cânceres basais e aos tumores triplo-negativos, afetado juntamente com o TP53, com alta progressão do câncer	Somática
<i>STK11</i>	19p13.3	Quinase no reparo genético	Associado ao crescimento de tumores sólidos e a progressão metastática	Somática/ germinativa
<i>TERT</i>	5p15.33	Reparo genético	Prognóstico ruim com sobrevida média de 10 anos	Somática/ germinativa
<i>TP53</i>	17p13.1	Reparo genético	Tumores de alto grau, maior agressividade e pior resposta terapêutica, com altas chances para recidivas e metástase	Somática/ germinativa
<i>TP63</i>	3q28	Ativador ou repressor transcricional	Pode favorecer o desenvolvimento do tumor	Somática/ germinativa

Fonte: adaptado de Kashyap *et al.*, 2022.

Os genes *PTEN*, *TP53*, *RASSF1*, *BRCA1* e *BRCA2* são alguns dos principais genes relacionados ao CM. Caso se encontrem em estado disfuncional, podem desempenhar um papel crucial para o desenvolvimento neoplásico, uma vez que, o acúmulo de determinadas proteínas expressas por esses genes, como o *TP53*, pode levar a parada do ciclo celular. Em contrapartida, estudos relatam que as proteínas expressas por *PTEN* são mais rapidamente degradadas devido as mutações. Já os genes *BRCA1* e *BRCA2* são os mais citados em estudos

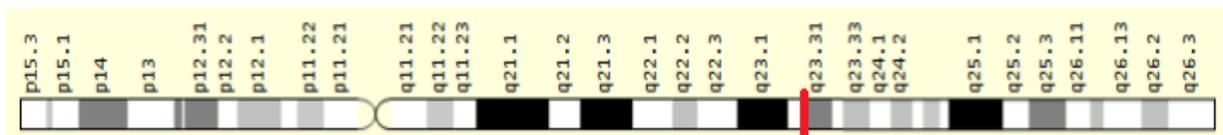
da literatura, devido ao seu potencial mutagênico e metastático, enquanto o *RASSF1* é encontrado frequentemente hipermetilado no soro de pacientes com câncer de mama. Dessa forma, fica evidente a importância de se identificar e diagnosticar a sua disfunção de modo precoce para se reduzir impactos futuros, dado que, esses genes são alvos potenciais de estudos voltados para o desenvolvimento de terapias direcionadas e tratamentos personalizados no combate ao CM (WANG *et al.*, 2018; CALANCA *et al.*, 2019; SONG, *et al.*, 2020).

3.5.1 PTEN

O gene *Phosphatase and Tensin Homolog (PTEN)* localiza-se na região cromossômica 10q23.31, como demonstra a figura 2. A proteína Phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate 3-phosphatase, sintetizada por esse gene, é reconhecida pelo seu mecanismo de indução da apoptose, inibição do ciclo da divisão celular, diferenciação, adesão, migração, metástase, metabolismo energético, estabilidade do genoma e outros processos. Estudos indicam que a sua inativação funcional – decorrente de deleções, metilações aberrantes, degradações e mutações somáticas – tem relação direta na ocorrência de metástases e na formação de tumores malignos. Esse gene realiza a codificação de dupla especificidade da fosfatase lipídica e proteica, responsável pela regulação negativa da sinalização de Phosphoinositide 3-kinases (PI3K) e da proteína Serine/threonine Kinase (Akt). Tal sinalização resulta na via de transdução envolvida em processos como a invasão, motilidade, proliferação e sobrevivência celular. Ademais, várias ações biológicas independentes da fosfatase do *PTEN* foram observadas, dentre elas a ligação de *TP53*, aumentando a sua estabilidade e transcrição (CHEN, *et al.*, 2022; CHO, 2022).

Estudos recentes sugerem que a diminuição na expressão de *PTEN* pode estar relacionada a um pior prognóstico em cânceres de mama com o Fator de Crescimento Epidérmico Humano tipo 2 negativo (HER2-) e o Receptor Hormonal positivo (HR+) ou em casos HER2+. Ensaio clínico puderam observar que pacientes oncológicos HER2+ com ausência de *PTEN*, tratados com quimioterápicos, evoluíram com pior sobrevida livre e sobrevida global, ao se comparar com pacientes com *PTEN* detectável por imunohistoquímica. Além disso, o *PTEN* é capaz de indicar como a tumorigênese vai responder a diferentes medicamentos, como por exemplo, o Trastuzumabe (CARBOGNIN *et al.*, 2019).

Figura 2 – Localização do gene *PTEN* em 10q23.31, indicada pela linha vermelha.



Fonte: GeneCards, 2023a.

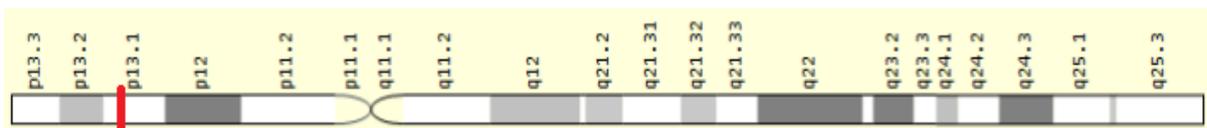
3.5.2 TP53

O gene *Tumor Protein P53 (TP53)* é um codificador de proteínas composto por 12 éxons e localizado na região cromossômica 17p13.1 (figura 3). Sua atuação se dá especificamente na expressão da proteína supressora de tumor P53, formada por 345 aminoácidos. Sua ativação ocorre por vários mecanismos, incluindo a fosforilação por *Ataxia Telangiectasia Mutated (ATM)*, *Ataxia Telangiectasia and Rad3-related (ATR)*, *Checkpoint Kinase 1 (CHEK1)* e *Mitogen-*

Activated Protein Kinases (MAPKs). Tem como principal função a codificação das variantes do fator de transcrição, importantes para o início da replicação dos genes envolvidos em processos como a inibição do ciclo celular, processos metabólicos, reparo do DNA, apoptose e envelhecimento celular em resposta a processos de estresse como a radiação e a quimioterapia (SHAHBANDI; NGUYEN; JACKSON, 2020; GENECARDS, 2023b).

É um dos principais genes do desenvolvimento do CM. Seus polimorfismos podem ser somáticos, levando ao seu comprometimento e/ou à sua inativação; ou germinativos, como é observado na síndrome de predisposição hereditária ao câncer, Li-Fraumeni, responsável pela maioria dos casos de CM em mulheres com menos de 31 anos. Essa síndrome se manifesta ao desenvolver várias doenças neoplásicas malignas, bem como tumores cerebrais, ambos com início precoce na juventude. Apesar de o *TP53* ser marca registrada de Li-Fraumeni, nem sempre a presença do seu polimorfismo culmina no diagnóstico da síndrome. Entretanto, mulheres com essa patologia possuem um risco de 80% a 90% para o desenvolvimento de um CM, prognóstico pior que em homens e em portadoras saudáveis do *BRCA*, o que torna a doença quase inevitável em idades avançadas. As pessoas acometidas hereditariamente com essa irregularidade possuem maiores chances de desenvolver câncer de mama HER2+, como foi observado em cerca de 46% dos casos em estudos clínicos. Da mesma forma, mulheres com a patogenicidade do *TP53* demonstraram pior prognóstico em relação às mulheres com *TP53* normal, uma vez que essa alteração é frequentemente associada a tumores de alto grau com maior agressividade e pior resposta ao tratamento, indicando maiores chances para recidivas e metástase. Assim, devido ao seu potencial oncológico, esse gene tem sido alvo de estudos clínicos que buscam restaurar a sua integridade e opções alternativas para quando inativado (SHAHBANDI; NGUYEN; JACKSON; 2020; BLONDEAUX *et al.*, 2023).

Figura 3 – Localização do gene *TP53* em 17p13.1, indicada pela linha vermelha.



Fonte: GeneCards, 2023b.

3.5.3 *RASSF1*

O gene *Ras Association Domain Family 1 (RASSF1)* está inserido na região cromossômica 3p21.31 (figura 4) e interage com a proteína Ras resultando nas expressões proto-oncogênicas *KRas*, *NRas* e *KRas*. A família *RASSF* é composta por 10 variações (*RASSF1* a *RASSF10*) e possui papel relevante na supressão tumoral ao impedir o início, o crescimento e a disseminação oncogênica por diferentes meios, dentre eles: a parada do ciclo celular, a indução da apoptose, a estabilização microtubular e a inibição da metástase. A perda da sua expressão é frequentemente associada a um prognóstico negativo, uma vez que está presente na patogênese de vários casos de tumores sólidos, revelando importância significativa na progressão tumoral, bem como maior potencial de metástase e uma maior agressividade. Embora a metilação aberrante e a perda da heterozigosidade sejam mecanismos comuns para o seu silenciamento, sua variação *RASSF1-A* também pode ser afetada por mutações pontuais ou pela degradação proteica (DUBOIS *et al.*, 2019).

A análise de dados mostrou que o complexo CpG associado a classe promotora *RASSF1-A* se encontra hipermetilado na maioria das linhagens celulares dos carcinomas de mama, enquanto os complexos associados ao promotor alternativo *RASSF1-C*, permanecem normais.

No entanto, estudos sobre como esses genes atuam têm sido bastante promissores no entendimento da carcinogênese. Ao associar o *RASSF1-A* ao Antisense Noncoding RNA *RASSF1* (AN*RASSF1*), foi observado que o RNA não-codificante agiu como um regulador alternativo para a expressão do *RASSF1-A*, apesar de ser considerado prejudicial em casos de câncer de mama triplo negativo em que não há a expressão do Receptor de Estrogênio (ER), do Receptor de Progesterona (PR) e do HER2 (CALANCA *et al.*, 2019).

Figura 4 – Localização do gene *RASSF1* em 3p21.31, indicada pela linha vermelha.



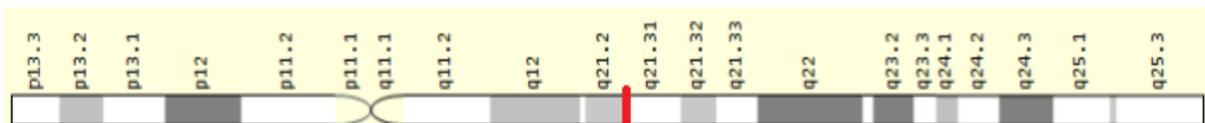
Fonte: GeneCards, 2023c.

3.5.4 *BRCA1*

O gene *BRCA1* (*Breast Cancer 1*) encontra-se na região cromossômica 17q21.31 (figura 5). Possui segmentos específicos como o domínio Ring Finger E3 Ubiquitin ligase 20 (RING) que interage com proteínas como a Abraxas e a Helicase C-terminal Interagente de *BRCA1* (*BRIP1*) para a remodelação da cromatina e a recombinação homóloga. Assim como o *PTEN*, frequentemente associado ao CM triplo-negativo, o *BRCA1* desempenha papel importante para manter a integridade genética. Possui importância no reparo do DNA, bem como no controle do ciclo celular, ao agir na regulação transcricional, mecanismo que codifica proteínas de controle de pontos de checagem para, caso haja dano no DNA, o ciclo é interrompido (HATANO *et al.*, 2020).

A metilação excessiva é encontrada em um a cada quatro dos tumores basais de mama, indicando que o seu silenciamento é um dos principais casos não hereditários de inativação. Por ser um dos principais GST para o CM, quando silenciado, aumenta significativamente o risco para o desenvolvimento de um processo oncogênico, tanto para mulheres como para homens, além de apresentar uma progressão agressiva e representar um desafio para o tratamento. Entretanto, de acordo com Zhang e colaboradores (2020), a associação do *BRCA1* com Histonas Desacetilases (HDAC) 1 e 2 leva ao aumento de espécies reativas de oxigênio nas células cancerígenas o que causa dano ao DNA das células e as conduz a morte dessas células. Os resultados também foram promissores ao combinar as HDAC's com bromodomínio e domínio extra terminal (WANG *et al.*, 2018; HATANO *et al.*, 2020).

Figura 5 – Localização do gene *BRCA1* em 17q21.31, indicada pela linha vermelha.



Fonte: GeneCards, 2023d.

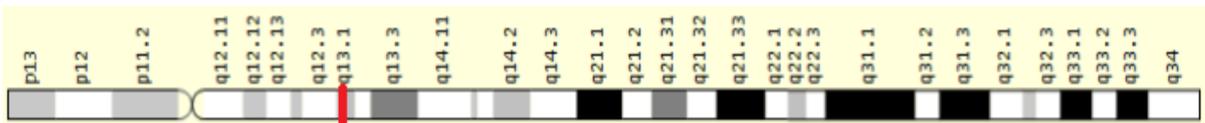
3.5.5 *BRCA2*

O gene *BRCA2* (*Breast Cancer 2*) localiza-se na região cromossômica 13q13.1 (figura 6) e interage com várias proteínas como a *Recombination repair protein* (*RAD51*), sendo principalmente associado a proteínas receptoras hormonais; *PALB2*; e *Fanconi Anemia group*

D2 Protein (FANCD2). O promotor do gene *BRCA2* possui 70 sítios, frequentemente metilados, porém menos estudados. Pacientes com *BRCA2* positivo para alterações possuem um risco cumulativo de 30%, sendo que o aumento da massa gorda e a disfunção metabólica são associados a um alto risco para CM devido à resistência à insulina, a síndrome metabólica, ao aumento da produção hormonal e ao fator de crescimento semelhante à insulina-1 (DANIELE *et al.*, 2021; GENECARDS, 2023e).

Assim como o gene *BRCA1*, o *BRCA2* é associado à síndrome hereditária de câncer de mama e ovário (hereditary breast and ovarian cancer – HBOC). Cerca de 72% dos indivíduos portadores de polimorfismos do *BRCA2* geralmente desenvolvem CM positivo para receptor hormonal, sendo mais frequentemente expresso por receptores de estrogênio e, menos frequentemente, por receptores de progesterona. Desses, a maioria apresentou metástase óssea e central e a presença da irregularidade do *BRCA2* apresentou maiores taxas de óbitos, entretanto, apresentou melhor prognóstico se comparado ao câncer de tipo selvagem. Enquanto o carcinoma medular é mais comum em portadores do polimorfismo *BRCA1*, o carcinoma lobular é mais recorrente em *BRCA2*, assim como o seu grau histológico para o CM é inferior se comparado aos portadores de *BRCA1*. Todavia, acerca do funcionamento do sítio CpG desse gene, mais estudos precisam ser realizados, uma vez que, a metilação do promotor de *BRCA2* não é considerada primordial para a sua disfunção (HATANO *et al.*, 2020; SONG, *et al.*, 2020).

Figura 6 – Localização do gene *BRCA2* em 13q13.1, indicada pela linha vermelha.



Fonte: GeneCards, 2023e.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nas evidências apresentadas, pode-se concluir que as modulações epigenéticas desempenham um papel significativo no processo oncogênico. De acordo com pesquisas realizadas, essas modulações podem ser revertidas por meio de medicamentos e terapia gênica combinada, o que abre uma série de possibilidades para o futuro da oncologia. A terapêutica personalizada pode ser uma alternativa, uma vez que, entender cada organismo de forma individual favorece o direcionamento do tratamento, bem como aumentam as chances de sucesso. Da mesma forma a terapêutica preventiva, mediante o rastreio precoce, também pode ser uma opção para indivíduos com mutações hereditárias.

Ainda, uma especulação interessante de ser levantada é que a superexpressão das enzimas de reparo pode desempenhar um papel crucial na diminuição das modulações epigenéticas negativas, uma vez que, aumentar a atividade das proteínas envolvidas no reparo do DNA pode mitigar os efeitos dessas alterações, bem como das mutações, e manter a sua integridade. Entretanto, pesquisas e estudos ainda precisam ser realizados para confirmar essa hipótese, observar como funcionam essas interações e entender quais seriam os impactos bioéticos.

Além disso, a conscientização da população sobre a importância de bons hábitos físicos e alimentares também é importante, uma vez que esses hábitos ajudam a minimizar os riscos do câncer

REFERÊNCIAS

- AL ABOUD, N. M.; TUPPER, C.; JIALAL, I. Genetics, Epigenetic Mechanism. **StatPearls**, Treasure Island, 2023. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532999/>. Acesso em: 21 maio 2023.
- AMADE, K. A. B. A. **Anatomofisiologia da mama feminina, oncogenes, influência da nutrição, meio ambiental, hábitos: o estado da arte**. 2021. Dissertação (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa, 2021. Disponível em: <https://recil.ensinolusofona.pt/handle/10437/12544>. Acesso em: 18 mar 2023.
- AMERICAN CANCER SOCIETY. **Breast Cancer Facts & Figures: 2022-2024**. Atlanta: American Cancer Society, 2022. Disponível em: <https://www.cancer.org/content/dam/cancer-org/research/cancer-facts-and-statistics/breast-cancer-facts-and-figures/2022-2024-breast-cancer-fact-figures-acf.pdf>. Acesso em: 13 abr 2023.
- BARROS, L. L. E. *et al.* Efeitos adversos locorregionais da terapêutica oncológica em mulheres com câncer de mama avançado: revisão integrativa. **Revista Mineira de Enfermagem - REME**, v. 26, 2022. DOI: 10.35699/2316-9389.2022.40564. Disponível em: <https://periodicos.ufmg.br/index.php/reme/article/view/40564/31990>. Acesso em: 3 jun 2023.
- BLONDEAUX, E. *et al.* Germline TP53 pathogenic variants and breast cancer: A narrative review. **Cancer Treatment Reviews**, v. 114, 2023. DOI: 10.1016/j.ctrv.2023.102522. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0305737223000130>. Acesso em: 1 jun 2023.
- BOWES, A. L. *et al.* Aproveitando o sequenciamento de célula única para desvendar a heterogeneidade intratumoral e a evolução do tumor em cânceres humanos. **The Journal of Pathology**, v. 4, n. 257, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1002/path.5914>. Disponível em: <https://pathsocjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/path.5914>. Acesso em: 6 maio 2023.
- BRASIL. Instituto Nacional de Câncer. **O que é câncer?** Rio de Janeiro, 2022a. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/o-que-e-cancer#:~:text=C%C3%A2ncer%20%C3%A9%20um%20termo%20que,adjacentes%20ou%20%C3%B3rg%C3%A3os%20a%20dist%C3%A2ncia>. Acesso em: 18 mar 2023.
- BRASIL. Instituto Nacional de Câncer. **Controle do câncer de mama: conceito e magnitude**. Rio de Janeiro, 2022b. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/gestor-e-profissional-de-saude/controlado-cancer-de-mama/conceito-e-magnitude>. Acesso em: 2 abr 2023.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Brasil registrou 207 óbitos de homens por câncer de mama em 2020**. Brasília, 2022c. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt->

br/assuntos/noticias/2022/outubro/brasil-registrou-207-obitos-de-homens-por-cancer-de-mama-em-2020. Acesso em: 26 maio 2023.

BROWN, G. Oncogenes, Proto-Oncogenes, and Lineage Restriction of Cancer Stem Cells.

Revista Internacional de Ciências Moleculares, v. 22, n. 18, 2021. DOI:

10.3390/ijms22189667. Disponível em:

<https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=cmedm&AN=34575830&lang=pt-br&site=ehost-live>. Acesso em: 8 out 2022.

CALANCA, N. *et al.* The long non-coding RNA ANRASSF1 in the regulation of alternative protein-coding transcripts RASSF1A and RASSF1C in human breast cancer cells: implications to epigenetic therapy. **Epigenetics**, v. 14, n. 8, 2019. DOI: 10.1080/15592294.2019.1615355. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6615536/>. Acesso em: 27 maio 2023.

CALLEJA-LÓPEZ, J. R. T. Fundamentos básicos de oncogenética. **Revista Estudiantil de Medicina de la Universidad de Sonora**, n. 5, 2021. DOI:

<https://doi.org/10.59420/remus.5.2021.28>. Disponível em:

https://remus.unison.mx/index.php/remus_unison/article/view/28. Acesso em: 10 abr 2023.

CARBOGNIN, L. *et al.* Prognostic and Predictive Implications of PTEN in Breast Cancer:

Unfulfilled Promises but Intriguing Perspectives. **Cancers**, v. 11, n. 9, 2019. DOI:

10.3390/cancers11091401. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6694/11/9/1401>.

Acesso em: 1 jun 2023.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). US Department of Health and Human Services. **Breast Cancer**. Atlanta, 2021. Disponível em:

www.cdc.gov/cancer/breast/index.htm. Acesso em: 13 abr 2023.

CHEN, J. Systemic Deficiency of PTEN Accelerates Breast Cancer Growth and Metastasis.

Frontiers in Oncology, v. 12, 2022. DOI: 10.3389/fonc.2022.825484. Disponível em:

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2022.825484>. Acesso em: 1 jun 2023.

CHENG, Y. *et al.* Targeting epigenetic regulators for cancer therapy: mechanisms and

advances in clinical trials. **Sig Transduct Target Ther**, v. 4, n. 62, 2019. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6915746/>. Acesso em: 20 maio 2023.

CHERNOFF, J. The two-hit theory hits 50. **Molecular Biology of the Cell**, v. 32, n. 22, 2021.

Disponível em: <https://www.molbiolcell.org/doi/10.1091/mbc.E21-08-0407>. Acesso em: 6 maio 2023.

CHO, S. B. Uncovering Oncogenic Mechanisms of Tumor Suppressor Genes in Breast Cancer Multi-Omics Data. **International Journal of Molecular Sciences**, Suíça, v. 23, n. 17, 2022. DOI 10.3390/ijms23179624. Disponível em:

<https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=asn&AN=159010666&site=ehost-live>. Acesso em: 27 mar 2023.

CRAWFORD, S.; ALDER, R. **Magill's Medical Guide**: breast cancer. Amenia: Salem Press, v. 5, 2022. Disponível em:
<https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=ers&AN=86193952&lang=pt&site=eds-live&authtype=guest,shib&custid=s4248629&groupid=main&profile=eds>. Acesso em: 13 abr. 2023.

DANIELE, A. *et al.* Can harmful lifestyle, obesity and weight changes increase the risk of breast cancer in BRCA 1 and BRCA 2 mutation carriers? A Mini review. **Hered Cancer Clin Pract**, v. 19, n. 45, 2021. Disponível em:
<https://hccpjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13053-021-00199-6#citeas>. Acesso em: 3 jun 2023.

DUBOIS, F. *et al.* RASSF1A, puppeteer of cellular homeostasis, fights tumorigenesis, and metastasis: an updated review. **Cell Death Dis**, v. 10, n. 928, 2019. DOI:
<https://doi.org/10.1038/s41419-019-2169-x>. Disponível em:
<https://www.nature.com/articles/s41419-019-2169-x#citeas>. Acesso em: 27 maio 2023.

ELIAS, S. 05 de fevereiro, Dia Nacional da Mamografia. **Universidade Federal de São Paulo**, 5 fev. 2020. Disponível em: <https://sp.unifesp.br/epm/informes/5-de-fevereiro-dia-nacional-da-mamografia>. Acesso em: 28 abr 2023.

ENGVILD, K. C. Combinação das teorias do câncer de Hanseman-Boveri, Warburg e Knudson, com base na falha na mitigação de danos por segregação incorreta. **OBM Genetics**, v. 3, n. 4, 2019. DOI: 10.21926/obm.genet.1904100. Disponível em:
<https://www.lidsen.com/journals/genetics/genetics-03-04-100>. Acesso em: 6 maio 2023.

FREITAS, C. A. de, *et al.* Nutrição e prevenção de câncer: um artigo de revisão. **Revista Científica das Faculdades de Medicina, Enfermagem, Odontologia, Veterinária e Educação Física**, Santos, v.3, n.5, 2021. Disponível em:
<https://periodicos.unimesvirtual.com.br/index.php/higeia/article/view/1236/1079>. Acesso em: 30 mar 2023.

GALLO, B. C.; REIS, M. E. B. T. dos; CORDEIRO, S. N. Individualização em Gêmeos: uma Revisão Integrativa. **Gerai, Revista Interinstitucional de Psicologia**, Belo Horizonte, v. 13, n. 1, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.36298/gerais2020130101>. Disponível em:
http://pepsic.bvsalud.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1983-82202020000100002&lng=pt&nrm=iso. Acesso em: 18 maio 2022.

GENECARDS. PTEN Gene. 2023a. Disponível em: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=PTEN>. Acesso em: 2 jun 2023.

GENECARDS. TP53 Gene. 2023b. Disponível em: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=TP53>. Acesso em: 2 jun 2023.

GENECARDS. RASSF1 Gene. 2023c. Disponível em: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=RASSF1>. Acesso em: 2 jun 2023.

GENECARDS. BRCA1 Gene. 2023d. Disponível em: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=BRCA1>. Acesso em: 2 jun 2023.

GENECARDS. BRCA2 Gene. 2023e. Disponível em: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=BRCA2>. Acesso em: 3 jun 2023.

GRIFFITHS, A. J. F. *et al.* **Introdução à Genética**. 12. ed. São Paulo: GEN Guanabara Koogan, 2022. *E-book*. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788527738682/>. Acesso em: 27 mar 2023.

HATANO, Y. *et al.* Molecular Trajectory of BRCA1 and BRCA2 Mutations. **Frontiers in Oncology**, v. 10, 2020. DOI: 10.3389/fonc.2020.00361. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2020.00361>. Acesso em: 1 jun 2023.

KASHYAP, D. *et al.* Global Increase in Breast Cancer Incidence: Risk Factors and Preventive Measures. **BioMed Research International**, 2022. DOI: 10.1155/2022/9605439. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9038417/>. Acesso em: 30 abr 2023.

KHATTAB, A.; KASHYAP, S.; MONGA, D. K. Male Breast Cancer. **StatPearls**, Treasure Island, 2023. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK526036/>. Acesso em: 29 abr 2023.

KNUDSON JR, A. G. Mutação e câncer: estudo estatístico do retinoblastoma. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Estados Unidos, v. 68, n. 4, 1971. Disponível em: <https://www.pnas.org/doi/epdf/10.1073/pnas.68.4.820>. Acesso em: 6 de maio de 2023.

KORI, M.; ARGHA, K.Y. Pathways involved in viral oncogenesis: New perspectives from virus-host protein interactomics. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA): Molecular Basis of Disease**, v. 1866, n. 10, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2020.165885>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925443920302337>. Acesso em: 2 abr 2023.

LIMA, K. A. Avaliação das propriedades imunorreguladoras de genes supressores de tumor. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA, Florianópolis, 2020. **Anáís [...]**, Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2020. 1 vídeo (4 min 32s). Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/210258>. Acesso em: 27 mar 2022.

LLOBET, S. G. *et al.* An mRNA expression-based signature for oncogene-induced replication-stress. **Oncogene**, 2022. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7612401/>. Acesso em: 27 mar 2023.

LUENGO, A.; LI, Z.; VANDER HEIDEN, M. **New Clarity on the Warburg Effect**. United States: National Cancer Institute, 2021. Disponível em: <https://www.cancer.gov/research/key-initiatives/ras/ras-central/blog/2021/vander-heiden-warburg-effect#:~:text=Nearly%20a%20century%20ago%2C%20Otto,that%20require%20respiration%20%5B1%5D>. Acesso em: 6 maio 2023.

MALEBARY, S. J.; KHAN, R.; DAANIAL KHAN, Y. ProtoPred: Advancing Oncological Research Through Identification of Proto-Oncogene Proteins. **IEEE Access**, v. 9, 2021. Doi: 10.1109/ACCESS.2021.3076448. Disponível em: <https://ieeexplore.ieee.org/abstract/document/9419039>. Acesso em: 17 abr 2023.

MASCARO, B. Epigenética: O que é e como ocorre a regulação. **Blog Varsomics**, 2020. Disponível em: <https://blog.varsomics.com/epigenetica/#:~:text=A%20epigen%C3%A9tica%20descreve%20eventos%20moleculares,ou%20ligada%2C%20em%20diferentes%20n%C3%ADveis>. Acesso em: 17 maio 2023.

RAMOS, A. C. Características e nomenclatura das neoplasias: colonistas. **Blog Sanar Med**, Salvador, 2021. Disponível em: <https://www.sanarmed.com/caracteristicas-e-nomenclatura-das-neoplasias-colonistas>. Acesso em: 17 abr 2023.

ROSSI, L.; MAZZARA, C.; PAGANI, O. Diagnosis and Treatment of Breast Cancer in Young Women. **Current treatment options in oncology**, v. 20, n. 12, 2019. DOI: 10.1007/s11864-019-0685-7. Disponível em: <https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=mdc&AN=31776799&lang=pt&site=eds-live>. Acesso em: 29 abr. 2023.

SANTOS, M. de O. *et al.* Estimativa de Incidência de Câncer no Brasil, 2023-2025. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 69, n. 1, 2023. DOI: 10.32635/2176-9745.RBC.2023v69n1.3700. Disponível em: <https://rbc.inca.gov.br/index.php/revista/article/view/3700>. Acesso em: 26 maio 2023.

SANTOS, T. A.; GONZAGA, M. F. N. Fisiopatologia do câncer de mama e os fatores relacionados. **Revista Saúde em Foco**, v. 10, 2018. Disponível em: https://portal.unisepe.com.br/unifia/wp-content/uploads/sites/10001/2018/06/048_FISIOPATOLOGIA-DO-C%C3%82NCER-DE-MAMA-E-OS-FATORES.pdf. Acesso em: 22 mar 2023.

SHAHBANDI, A.; NGUYEN, H. D.; JACKSON, J. G. TP53 Mutations and Outcomes in Breast Cancer: Reading beyond the Headlines. **Trends in Cancer**, v. 6, n. 2, 2020. DOI: 10.1016/j.trecan.2020.01.007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405803320300200>. Acesso em: 1 jun 2023.

SILVA, E. V. de S. *et al.* Elucidating tumor immunosurveillance and immunoediting: a comprehensive review. **Ciência Animal Brasileira**, v. 22, 2021. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cab/a/3FtDMTnSPm3Z3KcvntWC3xr/?lang=en>. Acesso em: 3 jul 2023.

SONG, Y., *et al.* Patterns of recurrence and metastasis in BRCA1/BRCA2-associated breast cancers. **Cancer**, v. 126, n. 2, 2020. Disponível em:

<https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/cncr.32540>. Acesso em: 3 jun 2023.

TOTZKAY, D. *et al.* Women's Understanding of Windows of Susceptibility and the Role of the Environment in Breast Cancer Risk. **Journal of cancer education: the official journal of the American Association for Cancer Education**, v. 38, n. 1, 2023. DOI: 10.1007/s13187-021-02086-z. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34505275/>. Acesso em: 20 abr. 2023.

TU, S. M. Stem Cell Theory of Cancer: Implications of a Viral Etiology in Certain Malignancies. **Cancers**, v. 13, n. 11, 2021. DOI: 10.3390/cancers13112738. Disponível em: <https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=asn&AN=150833586&site=ehost-live>. Acesso em: 2 abr 2023.

TURNPENNY, P; ELLARD, S. **Emery: Genética Médica**. São Paulo: Grupo Elsevier, 2009.

WANG, L. H. *et al.* Loss of Tumor Suppressor Gene Function in Human Cancer: an overview. **Cellular Physiology & Biochemistry**, v. 51, n. 6, 2018. DOI: 10.1159/000495956. Disponível em: <https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=mdc&AN=30562755&site=ehost-live>. Acesso em: 27 mar 2023.

ZHANG, B. *et al.* Class I histone deacetylase inhibition is synthetic lethal with BRCA1 deficiency in breast cancer cells. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 10, n. 4, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2019.08.008>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211383519307208>. Acesso em: 27 maio 2023.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à minha família que nunca duvidou do meu potencial e sempre me incentivou a correr atrás dos meus objetivos. Aos meus pais, Siene Monteiro Borges, Andre Gadelha dos Santos e Paulo Sérgio Soriano de Abreu, por terem possibilitado que eu tivesse uma boa educação e que essa graduação acontecesse. Aos meus tios, Simone Monteiro Borges e Jamil Cassiano Keppeler, pelo apoio e carinho por todo a vida. Em especial, à minha avó, Isa Lima Pinheiro, que me ensinou pela vivência o que é um câncer, bem como as suas dificuldades, que em vida sempre foi um ombro amigo e que sempre fez questão de expressar o orgulho que sentia pela pessoa que me tornei.

Aos meus amigos, pelos momentos de descontração nos momentos difíceis e por acreditarem que eu conseguiria. À minha turma de Biomedicina do campus de Taguatinga, pela cumplicidade, companheirismo e parceria ao longo dessa jornada.

A todos os meus Mestres, pelos puxões de orelha nos momentos necessários e por todo o aprendizado que me foi dado ao longo desses 7 semestres. Em especial à minha orientadora, Professora Dra. Fernanda Costa Vinhaes de Lima por ter aceitado se juntar a mim para realizar esse trabalho e, mesmo sem me conhecer pessoalmente, acreditou no meu potencial. Ao Professor Dr. Bruno Silva Milagres, pelas dicas, paciência e dedicação, ao tentar mostrar que as coisas podem ser mais simples do que parecem.

Por fim, mas não menos importante, agradeço a todos que não foram citados, mas que de alguma forma, tiveram participação ao longo da minha caminhada. Gratidão.