

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΚΛΙΝΙΚΗ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ ΟΓΚΟΛΟΓΙΑΣ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Δ.Δ.ΤΣΙΦΤΣΗΣ

**ΤΑ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΤΟΥ
ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ ΣΤΗ ΚΡΗΤΗ ΚΑΙ
Η ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΟΥΣ ΜΕ
ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΥΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ**

Διδακτορική Διατριβή

ΥΠΟ:
ΝΙΚΟΛΑΟΥ Α. ΤΣΑΚΟΥΝΤΑΚΗ
ΓΕΝΙΚΟΥ ΙΑΤΡΟΥ

ΗΡΑΚΛΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ 2005

.....τούς ευ ποιούντας αντενεργετῆν πανταχοῦ νόμιμον ἐστί.

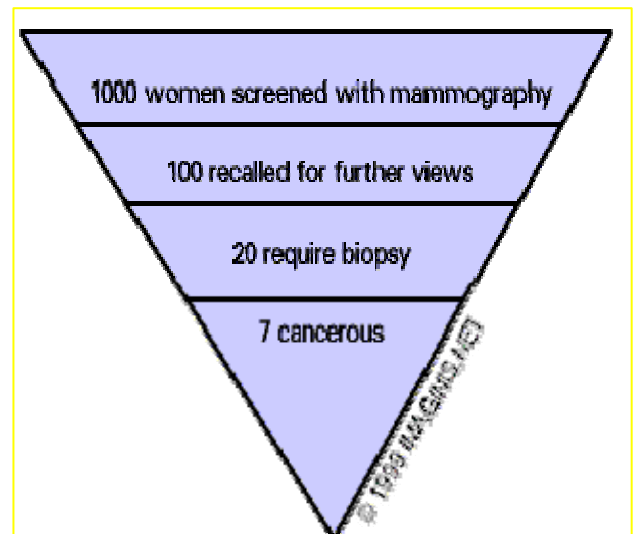
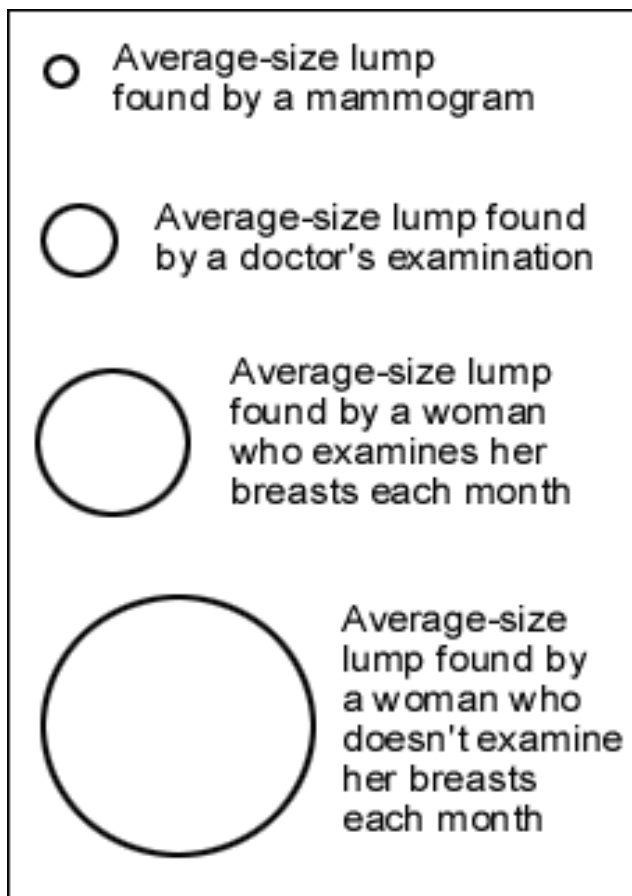
ΠΛΑΤΩΝ

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

- ❖ Αντί Προλόγου
- ❖ Περίληψη
- ❖ Abstract
- ❖ Ευχαριστίες
- ❖ **ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**
 - Καρκίνος του Μαστού- Εισαγωγικές γνώσεις
 - Επιδημιολογικά στοιχεία
 - Αιτιοπαθογένεια
 - Παράγοντες κινδύνου
 - Προγνωστικοί και προβλεπτικοί παράγοντες
 - Μοριακοί Δείκτες
 - Η αναγκαιότητα της μελέτης
 - Σκοπός και στόχοι της διατριβής
- ❖ **ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**
 - ΜΕΛΕΤΗ 1
 - Σκοπός της μελέτης
 - Ασθενείς και μέθοδες
 - Αποτελέσματα
 - Πίνακες
 - Συζήτηση
 - Συμπεράσματα
 - ΜΕΛΕΤΗ 2
 - Σκοπός της Μελέτης
 - Ασθενείς και μέθοδες
 - Αποτελέσματα
 - Πίνακες
 - Συζήτηση
 - Συμπεράσματα
- ❖ Συνέπειες της Διατριβής – Συνέχεια της έρευνας.
- ❖ **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**
- ❖ Δημοσίευση
- ❖ Ανακοινώσεις-διακρίσεις
- ❖ Βιογραφικό σημείωμα

ΑΝΤΙ ΠΡΟΛΟΓΟΥ

Ο καρκίνος του μαστού είναι μια φοβερή κακοήθεια γιατί προσβάλλει το ιερότερο όργανο- σύμβολο του γυναικείου φύλου. Ο καλύτερος τρόπος αντιμετώπισης είναι η Πρόληψη.



**ΠΡΟΛΗΨΗ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ = ΜΑΣΤΟΓΡΑΦΙΑ ΚΑΙ ΨΗΛΛΑΦΗΣΗ.
ΕΙΝΑΙ ΚΑΘΗΚΟΝ ΚΑΘΕ ΓΕΝΙΚΟΥ-ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΟΥ ΙΑΤΡΟΥ!**

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή

Πολλοί ερευνητές έχουν υποστηρίξει ότι η ταξινόμηση των όγκων στο μαστό βάσει της έκφρασης η όχι του HER-2/*neu* μπορεί να καθορίσει μία ομάδα ασθενών στους οποίους να φανεί ξεκάθαρα το μέγεθος της επίδρασης ενός η περισσοτέρων παραγόντων κινδύνου στη δημιουργία και την ανάπτυξη του νεοπλάσματος. Βάσει της παραπάνω υποθέσεως ο κύριος στόχος της διατριβής ήταν να διερευνηθεί ποιους από τους γνωστούς παράγοντες κινδύνου εμφανίζουν οι γυναίκες της Κρήτης που αναπτύσσουν κακοήθεις όγκους στο μαστό που εκφράζουν την HER-2/*neu* πρωτεΐνη. Επίσης εξετάστηκαν οι διαφορές στο προφίλ των παραγόντων κινδύνου μεταξύ των Κρητικών γυναικών ανάλογα με την ηλικία και το τόπο διαμονή τους (ύπαιθρος-πόλεις).

Μέθοδες

Αυτή η μελέτη ανέλυσε τα στοιχεία των ασθενών που προσήλθαν στη Μονάδα Μαστού του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ηρακλείου, μεταξύ του 1990 και 2002. Στο αρχικό δείγμα συμπεριλήφθηκαν 509 γυναίκες από τη Κρήτη, με πρωτοδιαγνωσθέντα, ιστολογικά επιβεβαιωμένο καρκίνο του μαστού, που συγκρίθηκε με 566 γυναίκες επίσης από τη Κρήτη που επισκέφθηκαν τη Μονάδα για προληπτικό έλεγχο ή για ελάσσονα προβλήματα και δεν ανέπτυξαν ποτέ καρκίνο στο μαστό μέχρι την ανάλυση των δεδομένων. Η υπερέκφραση της HER-2/*neu* πρωτεΐνης έγινε δυνατό να ανιχνευθεί σε ένα υποσύνολο 384 γυναικών με καρκίνο. Τα στοιχεία των παραγόντων κινδύνου λήφθηκαν από κάθε ασθενή μέσω προσωπικών συνεντεύξεων και ανασκόπησης φακέλων χρησιμοποιώντας ένα δομημένο ερωτηματολόγιο. Η ανίχνευση της υπερέκφρασης της HER-2/*neu* πρωτεΐνης και των υποδοχέων οιστρογόνων και προγεστερόνης έγινε χρησιμοποιώντας ανοσοϊστοχημικό έλεγχο. Οι αναλογίες πιθανοτήτων και τα διαστήματα εμπιστοσύνης 95% καθορίστηκαν με την δοκιμασία χ^2 και με logistic regression analysis με επίπεδο σημαντικότητας στο $p=0.05$. Έγινε σύγκριση μεταξύ HER-2/*neu* θετικών και αρνητικών όγκων προκειμένου να μετρηθεί η ετερογένεια κινδύνου και με τους μάρτυρες για τη μέτρηση του μεγέθους της επίδρασης των παραγόντων κινδύνου. Συγκρίθηκαν οι διαφορές στην κατανομή των παραγόντων κινδύνου μεταξύ των γυναικών που ζούσαν στις πόλεις και στην ύπαιθρο του νησιού. Παράλληλα έγιναν χωριστές αναλύσεις των HER-2/*neu* όγκων βάσει της εμμηνοπαυσιακής κατάστασης των γυναικών, της ηλικίας και της έκφρασης ή όχι οιστρογονικών υποδοχέων.

Αποτελέσματα

Στην πολυπαραγοντική ανάλυση χωρίς στρωματοποίηση της HER-2/*neu*, αυξημένος κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του μαστού συνδέθηκε με μόνο τέσσερις από τους παράγοντες που εξετάστηκαν: χρήση αντισυλληπτικών (OR=4.40, 95% C.I: 1.46-13.28), χρήση HRT (OR=7.34, 95% C.I: 2.03-26.53), ηλικία στην πρώτη πλήρη εγκυμοσύνη > 23 έτη (OR=1.91, 95% C.I: 1.29-2.83) και BMI > 29 kg/m² (OR=3.13, 95% C.I: 2.02-4.84). Επιπλέον, ιστορικό προηγούμενων

αμβλώσεων ή αποβολών (OR=0.56, 95%CI: 0.38-0.82) συσχετίστηκε με μειωμένο κίνδυνο καρκίνου του μαστού. Στην σύγκριση HER-2/*neu* θετικών και αρνητικών όγκων μόνο ο BMI >29 kg/m² αποκάλυψε μια στατιστικά σημαντική σχέση που ήταν ισχυρότερη με τους θετικούς απ' ό,τι με τους αρνητικούς όγκους για HER-2/*neu* (ratio of OR's=2.23, 95%CI: 1.20-4.15, p=0.011). Αυτό δείχνει ένα σημαντικό βαθμό ετερογένειας για αυτόν τον παράγοντα σε σχέση με την ανάπτυξη HER-2/*neu* θετικών όγκων. Στην ομάδα με τους όγκους που δεν εκφράζανε οιστρογονικούς υποδοχείς, η ηλικία στην πρώτη πλήρη εγκυμοσύνη >23 έτη και ο BMI >29 kg/m² συνδέθηκε με έναν αυξανόμενο κίνδυνο και στις δύο ομάδες, αλλά πάλι η συσχέτιση ήταν σημαντικά ισχυρότερη για τον τελευταίο παράγοντα στους HER-2/*neu* θετικούς όγκους (ratio of OR's = 2,46, 95%CI: 0.97-6.21). Επιπλέον, λιγότερες γυναίκες που ζούσαν στις αγροτικές περιοχές ήταν άτεκνες (p=0.019), είχαν γέννησαν σε πιο νεαρή ηλικία (p=0.010), είχαν κάνει λιγότερες αμβλώσεις (p<0.001), είχαν θηλάσει περισσότερο (p=0.038), κατανάλωναν συχνότερα κόκκινο κρέας (p<0.001) αλλά δεν ήταν πιο παχύσαρκες από τις γυναίκες που ζούσαν στις πόλεις. Επιπλέον, οι γυναίκες από τις αστικές περιοχές είχαν χρησιμοποιήσει τις ορμόνες για να καταστείλουν τη γαλακτοπαραγωγή (p=0.001) και τα από του στόματος αντισυλληπτικά (p=0.001), συχνότερα από τις γυναίκες των αγροτικών περιοχών.

Συμπεράσματα

Η παχυσαρκία και η όψιμη ηλικία πρώτης τελειόμηνης κύησης φαίνονται να είναι οι σημαντικότεροι παράγοντες κινδύνου για καρκίνο του μαστού στις γυναίκες της Κρήτης. Αντίθετα οι αποβολές ή και εκτρώσεις φαίνεται να μειώνουν τον κίνδυνο. Η μελέτη δεν επιβεβαίωσε ότι οι γνωστοί ορμονοεξαρτώμενοι παράγοντες κινδύνου εμφάνισης καρκίνου του μαστού διαφέρουν σε σχέση με την ανάπτυξη HER-2/*neu* θετικών ή HER-2/*neu* αρνητικών καρκίνων στο μαστό. Μοναδική εξαίρεση αποτέλεσε η παχυσαρκία όπως αυτή μετρήθηκε με το Δείκτη Μάζας Σώματος. Απαιτούνται περαιτέρω μελέτες με μεγαλύτερα μεγέθη δειγμάτων για να εξετάσουν πώς αυτοί οι ενδεχομένως τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου για καρκίνο του μαστού αλληλεπιδρούν με μοριακούς βιολογικούς δείκτες όπως το ογκογονίδιο HER-2/*neu* και οδηγούν στην καρκινογένεση. Παράλληλα, υπήρξαν μερικές διαφορές στο προφίλ των παραγόντων κινδύνου μεταξύ των γυναικών από τις αστικές και αγροτικές περιοχές που μπορούν να απεικονίσουν τις αλλαγές στις συνήθειες τρόπου ζωής λόγω στην κοινωνικοοικονομική πρόοδο. Εάν αυτές οι αλλαγές θα αυξήσουν την εμφάνιση καρκίνου του μαστού στο νησί πρέπει να δειχτεί σε μια μελλοντική μελέτη.

ABSTRACT

Background

Several researchers have claimed that classification of tumours on the basis of HER-2/*neu* overexpression or amplification may define a subset of breast cancer in which the net effect of a risk factor could be rather more obvious and its impact on breast cancer development more clear. We decided to investigate, in a group of patients from a geographical area with a low incidence of breast cancer, whether HER-2/*neu* positive tumours are correlated with established or suspected risk factors for breast cancer and thus to identify distinct subgroups of high risk women. We also examine the differences on breast cancer risk profile between younger and older Cretan women and between women living in the rural and urban areas of the island.

Methods

This study analysed data from patients who attended the Breast Unit at the University Hospital of Heraklion, Crete, Greece between 1990 and 2002. 509 Cretan women with incident, histological confirmed breast cancer, compared with 566 Cretan women referred to the unit for screening or minor breast problems and they never developed breast neoplasm until data were analyzed. The overexpression of the HER-2/*neu* protein was further detected in a sample of 384 women with breast cancer. Risk factor data were obtained from each subject by personal interviews using a structured questionnaire. The detection and scoring of the HER-2/*neu* protein, estrogen and progesterone receptor expression were performed using immunochemistry. Odds ratios and 95% confidence intervals were determined by chi-square test and logistic regression analysis. Case-case odds ratios were calculated in order to reveal the risk heterogeneity between HER-2/*neu*⁺ and HER-2/*neu*⁻ tumours and case-control analyses to measure the magnitude of the correlation. Separate analyses were performed for premenopausal and postmenopausal women and according to age and estrogen receptor status.

Results

In multivariate analysis without HER-2/*neu* stratification, an increased breast cancer risk was associated with only *four* of the factors examined: use of oral contraceptives (OR=4.40, 95%C.I: 1.46-13.28), use of HRT (OR=7.34, 95%C.I: 2.03-26.53), an age at first full pregnancy more than 23 years (OR=1.91, 95%C.I: 1.29-2.83) and body mass index more than 29 kg/m² (OR=3.13, 95%C.I: 2.02-4.84). Additionally, a history of abortion or miscarriage (OR=0.56, 95%C.I: 0.38-0.82) was correlated with a decreased risk of breast cancer. In the case to case comparison only BMI >29 kg/m² revealed a relative connection that was stronger with positive than with negative HER-2/*neu* tumours (ratio of OR's=2.23, 95%C.I: 1.20-4.15, p=0.011). This may indicate evidence of heterogeneity of a rather significant degree for this factor. In the ER negative group an age at first full pregnancy >23 years and a BMI >29 kg/m² were associated with an increased risk in both HER-

2/neu groups, but the association was significantly stronger for the latter factor in the positive *HER-2/neu* tumours (ratio of OR's =2.46, 95%CI: 0.97-6.21). Additionally, women living in the rural areas were less nulliparous (p=0.019), gave births at an earlier age (p=0.010), had less abortions, (p<0.001), breastfed more(p=0.038), consumed red meat more often(p<0.001) but they were not more obese than women who were living in the cities. On the other hand, women from urban areas had used hormones to suppress lactation (p=0.001) and oral contraceptives (p=0.001), more frequently than the women from the rural areas.

Conclusions

Obesity and late age of first birth were the most significant risk factors in the Cretan female population of this study, while only abortion played a protective role. Nevertheless, this study did not confirm that the established or putative hormonal breast cancer risk factors differ regarding their relations with *HER-2/neu+* versus *HER-2/neu-* breast tumours, with the exception of increased BMI. Further innovative studies with larger sample sizes are needed to examine how the status of these potentially modifiable breast cancer risk factors interacts with biological markers such as *HER-2/neu* oncoprotein leading to carcinogenesis at the end. There were some differences on risk factors profile between women from urban and rural areas which may reflect changes in lifestyle habits due to socioeconomic progress. Whether these changes would increase breast cancer incidence on the island remains to be seen in a future study.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω:

Τον Καθηγητή μου κ Δημήτρη Δ. Τσιφτσή που ήταν για εμένα πραγματικός Δάσκαλος από τα φοιτητικά μου χρόνια και ο οποίος χωρίς να ανήκω στην κλινική του και χωρίς να είμαι χειρουργός με ενέπνευσε , ενθάρρυνε και βοήθησε όχι μόνο να ολοκληρώσω αυτή τη διατριβή αλλά και στα πρώτα βήματα μου σαν ιατρός.

Τον Καθηγητή κ Βασίλη Γεωργούλια του οποίου η εμπειρία και οι παρατηρήσεις του ήταν υπερπολύτιμος βοηθός μου στην εκπόνηση της παρούσας διατριβής.

Τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ Χρήστο Λιονή γιατί είχε πάντα την καλή διάθεση (και το χρόνο!) να συζητήσουμε οποιοδήποτε πρόβλημα αντιμετώπιζα και να μου δίνει τις πολύτιμες συμβουλές του ενώ παράλληλα η μοναδική του πορεία αποτελεί τον φωτεινό σηματοδότη για εμένα και κάθε άλλο Γενικό Ιατρό στην Ελλάδα.

Τον Επίκουρο Καθηγητή κ Ηλία Σανιδά ο οποίος με στήριξε και με καθοδήγησε στις πιο δύσκολες στιγμές σαν πραγματικός φίλος και συνεργάτης.

Τον Καθηγητή κ Ευγένιο Κουμαντάκη, Διευθυντή της Μαιευτικής-Γυναικολογικής Κλινικής του ΠαΓΝΗ.

Τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ Αναστάσιο Φιλαλήθη.

Τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ Ευστάθιο Σταθόπουλο και την Ιατρό-Παθολογοανατόμο κ Μαρία Καφούση.

Τον Επίκουρο Καθηγητή κ Eelco de Bree και τους Ιατρούς της Κλινικής Χειρουργικής Ογκολογίας κ Μανούσο Χριστοδουλάκη και Ιωάννη Ασκοξυλάκη.

Όλο το (νυν και πρώην)διοικητικό προσωπικό της Κλινικής Χειρουργικής Ογκολογίας.

Αφιερώνω αυτή τη διατριβή στους Αγαπημένους Διαπρεπείς Δασκάλους μου κ Δημήτρη Εμμανουήλ και Ιωάννη Βλαχονικολή που τόσο απροσδόκητα και άδικα έφυγαν από κοντά μας

Τέλος ευχαριστώ την οικογένεια μου για τη στήριξη και την υπομονή τους.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ –ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

1.ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Πόσο μεγάλο είναι το πρόβλημα;

Ο καρκίνος του μαστού είναι ο πιο συχνός γυναικείος καρκίνος παγκοσμίως. Στις ΗΠΑ είναι η δεύτερη αιτία θανάτου από νεοπλασία με περίπου 223000 περιστατικά διηθητικού και μη καρκίνου για το έτος 2001 (εικόνα 1). Υπολογίζεται ότι μία στις 9 με 10 γυναίκες θα εμφανίσουν καρκίνο του μαστού ως την ηλικία των 85 ετών (lifetime risk)⁵. Στην Ευρώπη με τα δεδομένα του 1995 ο καρκίνος του μαστού είναι τρίτος σε συχνότητα και τέταρτη αιτία θανάτου από νεοπλασία και στα δύο φύλα. Στις γυναίκες είναι πρώτος σε συχνότητα (26%) ακολουθούμενος από τον ορθοκολικό καρκίνο (14%) και τον καρκίνο του στομάχου (7%) και φυσικά είναι η πρώτη αιτία θανάτου από νεόπλασμα (17%)⁶, (πίνακας 1).

Η συχνότητα του καρκίνου του μαστού αυξάνει παγκοσμίως και στις αναπτυγμένες αλλά κυρίως στις αναπτυσσόμενες χώρες. Η αύξηση αυτή μπορεί να αποδοθεί σε πολλούς διαφορετικούς παράγοντες ανά περίπτωση. Στις ανεπτυγμένες χώρες για παράδειγμα η αύξηση του προσδόκιμου επιβίωσης τις τελευταίες δεκαετίες έχει συμβάλει στην αυξημένη επίπτωση ενώ η ευρεία χρήση της μαστογραφίας στις χώρες αυτές έχει οδηγήσει στην αποκάλυψη πρώιμων μορφών ασυμπτωματικού μη διηθητικού καρκίνου. Αντίθετα η αυξημένη με ταχύ ρυθμό επίπτωση της νόσου στις αναπτυσσόμενες χώρες όπως π.χ στη Κίνα⁷ οφείλεται κυρίως στην αύξηση των γνωστών παραγόντων κινδύνου για καρκίνο του μαστού λόγω της υιοθέτησης στις χώρες αυτές του μοντέρνου τρόπου ζωής ως συνέπεια του φαινομένου της παγκοσμιοποίησης. Το αποτέλεσμα αυτό ήταν αναμενόμενο, μετά τις παρατηρήσεις που είχαν γίνει παλαιότερα, όσον αφορά την αυξημένη επίπτωση και θνησιμότητα της νόσου, στις μετανάστριες των χωρών αυτών στις ΗΠΑ μέσα σε μία δεκαετία μόνο⁸.

Στην Ελλάδα όπου δεν υπάρχει εθνικό σύστημα καταγραφής, η επίπτωση της νόσου υπολογίζεται έμμεσα ότι βρίσκεται στις 63,4 ανά 100.000 γυναίκες (1995), περίπου δηλαδή στα 2/3 της Μ. Βρετανίας (92,7/100.000) όπου υπάρχουν εκτός από το εθνικό σύστημα καταγραφής

(national cancer registry) και προγράμματα πληθυσμιακού ελέγχου (screening control).⁶ Στη Κρήτη, όπου υπάρχει ένα πιο οργανωμένο περιφερειακό σύστημα καταγραφής, για την ίδια περίοδο η επίπτωση υπολογίστηκε να είναι στις 73,4/100.000 γυναίκες⁹. Τα τελευταία χρόνια στις πιο ανεπτυγμένες χώρες του Δυτικού κόσμου υπάρχει μια ισχυρή τάση μείωσης της θνησιμότητας από τη νόσο, ενώ στη χώρα μας δεν υπάρχουν στοιχεία που να δείχνουν κάτι τέτοιο.

2.ΑΙΤΙΟΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ

Ποια είναι η φύση της νόσου;

Ο χρόνος διπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων στους κακοήθεις όγκους του μαστού είναι σχετικά βραδύς. Υπολογίζεται ότι για να δημιουργηθεί ένας όγκος διαμέτρου ενός εκατοστού απαιτούνται λίγο περισσότερα από 6 με 7 χρόνια διαδοχικών διπλασιασμών του πρωτογενούς καρκινικού κυττάρου. Η μακροχρόνια αυτή φυσική πορεία δίνει τη δυνατότητα για την ανάπτυξη τεχνικών (όπως η μαστογραφία) για την πρόωμη διάγνωση της νόσου στο καθοριστικό χρόνο που μεσολαβεί μεταξύ της ασυμπτωματικής μη διηθητικής φάσης της νόσου και του ψηλαφητού όγκου.

Ο καρκίνος του μαστού είναι πολυπαραγοντική νόσος. Έχει γενετική βάση, αλλά επηρεάζεται και από περιβαλλοντικούς παράγοντες που αφορούν τις διατροφικές συνήθειες, τον τρόπο ζωής το αναπαραγωγικό ιστορικό κλπ. Φαίνεται μάλιστα πως ουσιαστικά όλοι σχεδόν οι περιβαλλοντικοί, αναπαραγωγικοί κλπ παράγοντες που μπορούν να ξεκινήσουν και να επιταχύνουν την καρκινογένεση στο μαστό δρουν μέσα από τον ίδιο μηχανισμό, την συνολική έκθεση στα οιστρογόνα κατά τη διάρκεια της ζωής μίας γυναίκας. Αυτό το γεγονός έχει διαπιστωθεί από πλήθος πειραματικών δεδομένων και παίζει μεγάλο ρόλο στη ανάπτυξη εργαλείων εκτίμησης του κινδύνου για το καρκίνο του μαστού όπως θα δούμε παρακάτω.

Μηχανισμοί καρκινογένεσης στο μαστό.

Επιδημιολογικά και πειραματικά δεδομένα καταδεικνύουν το ισχυρό ρόλο που παίζουν τα οιστρογόνα στην εμφάνιση και ανάπτυξη του καρκίνου του μαστού¹⁰. Πειράματα σε ζώα έχουν δείξει την θετική επίδραση των οιστρογόνων στην ανάπτυξη κακοήθειας στο μαστό, ενώ

παρόμοια επίδραση έχει καταδειχτεί και σε σειρές από καρκινικά κύτταρα του μαστού.¹¹ Σχεδόν όλοι οι γνωστοί και τεκμηριωμένοι παράγοντες κινδύνου με πρώτη και καλύτερη την ηλικία, οφείλουν την στενή συσχέτιση τους με την καρκινογένεση στο μαστό στην συνεισφορά που έχει ο καθένας από αυτούς στην συνολική έκθεση της γυναίκας (δηλαδή του μαζικού της αδένου) στα οιστρογόνα.¹²

Στο παραπάνω συμπέρασμα έχουν καταλήξει όλοι οι ερευνητές που έχουν διαπιστώσει τον αυξημένο κίνδυνο που παρουσιάζουν οι γυναίκες εκείνες που έχουν πρόωμη εμμηνарχή, προχωρημένη ηλικία 1^{ου} τοκετού και προχωρημένη ηλικία εμμηνόπαυσης.¹³⁻¹⁵

Η προβλεπτική αξία όλων αυτών των παραγόντων στην εκτίμηση του ατομικού κινδύνου αυξάνεται ακόμα περισσότερο όταν συνυπολογίσουμε όλους αυτούς τους παράγοντες μαζί παρά τον καθένα ξεχωριστά.¹⁶

Επιπρόσθετα και άλλοι παράγοντες κινδύνου όπως η έλλειψη άσκησης και οι διατροφικές συνήθειες όπως η κατανάλωση ζωικού λίπους, φυτικών ινών, αλκοόλ, και αντιοξειδωτικών στοιχείων επηρεάζουν την συνολική έκθεση της γυναίκας κατά τη διάρκεια της ζωής της στα οιστρογόνα, αν και δεν υπάρχουν ξεκάθαρα συμπεράσματα.¹⁷ Για παράδειγμα από τη μια μεριά τα φυτοοιστρογόνα είναι γνωστό ότι συνδέονται με τους υποδοχείς οιστρογόνων και εμποδίζουν την σύνθεσή τους¹⁰ αλλά από την άλλη δεν έχει αποδειχθεί ότι η μεγάλη κατανάλωση τροφών που περιέχουν φυτοοιστρογόνα (όπως η σόγια) μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού.

Η παχυσαρκία συνδέεται στενά με την έκθεση στα οιστρογόνα. Οι μετεμμηνοπαυσιακές παχύσαρκες γυναίκες έχουν αυξημένο κίνδυνο για καρκίνο στο μαστό με πιθανότερη εξήγηση τα μειωμένα επίπεδα SHBG (sex hormone-binding globulin) στο αίμα και κατά συνέπεια μεγαλύτερη ποσότητα κυκλοφορούντων οιστρογόνων τα προέρχονται από αρωματοποίηση των ανδρογόνων στον λιπώδη ιστό, στους μύες και στο ήπαρ.¹⁰ Αντίθετα η παχυσαρκία στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες δρα προστατευτικά αφού οι γυναίκες αυτές παρουσιάζουν συχνότερα ανωμαλίες στη περίοδο και περισσότερους ανωορρηκτικούς κύκλους πράγμα που σημαίνει μειωμένη έκθεση στα οιστρογόνα.¹⁸

Μηχανισμός δράσης των οιστρογόνων.

Αυτή η στενή σχέση μεταξύ της καρκινογένεσης στο μαστό και της συνολικής έκθεσης στα οιστρογόνα θεωρείται ότι έχει να κάνει με ένα πλήθος διαφοροποιήσεων που συμβαίνουν σε όλη την έκταση της ομοιοστασία των οιστρογόνων και δεν έχουν ακόμα πλήρως διερευνηθεί. Στην **εικόνα 2** περιγράφεται η διαδικασία παραγωγής των οιστρογόνων. Πρέπει να υπενθυμίσουμε ότι στις προεμμηνόπαυσιακές γυναίκες τα οιστρογόνα παράγονται κυρίως από τις ωοθήκες κάτω από τον έλεγχο των γοναδοτροπινών και σε πολύ μικρό βαθμό από την περιφέρεια. Αντίθετα μετά την εμμηνόπαυση η μικρή ποσότητα των οιστρογόνων παράγεται μέσω της αρωματοποίησης των ανδρογόνων μόνο από την περιφέρεια και κυρίως από το λιπώδη και το μυϊκό ιστό και το ήπαρ. Ο μαστός, τα οστά και το ήπαρ είναι τα όργανα τα οποία υποδέχονται κατά κύριο λόγο τα κυκλοφορούντα οιστρογόνα που διαχέονται ελεύθερα μέσα από τις μεμβράνες. Όμως τα οιστρογόνα συνδέονται σε αυτούς τους ιστούς με τους ειδικούς υποδοχείς και μετά αυτό το σύμπλοκο, μέσω πολύπλοκων μηχανισμών, προσκολλάται και ενεργοποιεί συγκεκριμένα γονίδια.¹⁰ Τα γονίδια αυτά παίζουν σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση της ανάπτυξης και της διαφοροποίησης του κυττάρου.

Οι πληροφορίες που υπάρχουν σήμερα και αφορούν την σχέση της καρκινογένεσης στο μαστό με τις διαφοροποιήσεις στην *ομοιοστασία* των οιστρογόνων είναι οι εξής (για τη παρακολούθηση των παρακάτω βλέπε την **εικόνα 2**):

1) Οι πολυμορφισμοί του κυτοχρώματος CYP17 δεν έχουν συνδεθεί με αυξημένο κίνδυνο για καρκίνο στο μαστό αλλά όταν παρουσιαστεί η νόσος σε αυτές τις γυναίκες, αυτή βρίσκεται ήδη σε προχωρημένο στάδιο.¹⁹

2) Οι πολυμορφισμοί του γονιδίου που κωδικοποιεί το ένζυμο της αρωματάσης P450 έχουν ενοχοποιηθεί για αυξημένο κίνδυνο καρκινογένεσης στο μαστό.¹⁰

3) Υπάρχουν γενετικές διαφοροποιήσεις στα μαστικά κύτταρα που οδηγούν είτε σε περαιτέρω ενεργοποίηση των προαγωγών, είτε σε καταστολή των ανασταλτών της έκφρασης του γονιδίου της αρωματάσης με αποτέλεσμα την αυξημένη παραγωγή οιστρογόνων, μέσω της αυξημένης σύνθεσης του mRNA μέσα στο κύτταρο. Σε αυτή την περίπτωση το συγκεκριμένο

γονίδιο δρα σαν ογκογονίδιο που ξεκινά την διαδικασία του σχηματισμού του όγκου μέσα στο μαστό.¹⁰

4) Τα επίπεδα των οιστρογονικών υποδοχέων στο μαστό διαφέρουν από γυναίκα σε γυναίκα. Αυξάνουν με την ηλικία, είναι περισσότερα στη λευκή φυλή, και η υπερέκφρασή τους ίσως να οφείλεται στην απώλεια ενός ογκοκατασταλτικού γονιδίου που ρυθμίζει την έκφραση τους. Πάντως, τα υψηλά επίπεδα των οιστρογονικών υποδοχέων έχουν συνδεθεί άμεσα με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου στο μαστό.²⁰

5) Υπάρχουν δύο τύποι οιστρογονικών υποδοχέων ο **α** και ο **β**. Ο **α** έχει μεγαλύτερη χημική συγγένεια με τα οιστρογόνα από ότι ο **β**. Έχει βρεθεί ότι στους διηθητικούς καρκίνους του μαστού χαλάει η αναλογία έκφρασης μεταξύ τους και υπερτερούν οι α-υποδοχείς σε σχέση με το φυσιολογικό μαστό. Αυτή η διαταραχή στην αναλογία ίσως να εκφράζει και την αυξημένη ευαισθησία του συγκεκριμένου μαστού στα κυκλοφορούντα οιστρογόνα, που οδηγεί τελικά σε καρκινογένεση.²¹

6) Δύο από τους μεταβολίτες των οιστρογόνων η 4-υδροξυοιστρονίνη και η 16^α-υδροξυοιστραδιόλη θεωρούνται ότι έχουν οιστρογονική δράση και καρκινογόνες ιδιότητες. Η μετατροπή τους μέσω του ενζύμου της κατεχολ -Ο- μεθυλοτρανσφεράσης (COMT) σε ουδέτερους μεταβολίτες προφανώς έχει να κάνει με μείωση του κινδύνου. Οι γυναίκες που μεταβολίζουν μεγαλύτερο ποσοστό των οιστρογόνων τους μέσω της 16^α-υδροξυλίωσης ίσως διατρέχουν μεγαλύτερο κίνδυνο για καρκινογένεση.¹⁰ Αυξημένο κίνδυνο φαίνεται πως έχουν και οι γυναίκες που έχουν διαφορετικό αλληλόμορφο γονίδιο που κωδικοποιεί την COMT από αυτές που έχουν το αρχέγονο (wild type), γιατί το ένζυμο παρουσιάζει τότε μειωμένη δραστηριότητα. Μάλιστα ο πολυμορφισμός αυτός του γονιδίου αύξησε το σχετικό κίνδυνο κατά 4 φορές.¹⁹

7) Ο πολυμορφισμός του γονιδίου CYP1A1 που κωδικοποιεί το κυτόχρωμα P-450 1A1 έχει ενοχοποιηθεί για αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου στο μαστό προφανώς λόγω της μειωμένου μεταβολισμού των οιστρογόνων μέσω της 2-υδροξυλίωσης.¹⁹

Όλοι αυτοί οι παραπάνω μηχανισμοί συμβάλουν στην καρκινογένεση και μπορούν να εξηγήσουν σε μεγάλο βαθμό τις ατομικές διαφορές στην εμφάνιση και στην ανάπτυξη του καρκίνου από γυναίκα σε γυναίκα, πράγμα που είναι αδύνατο βλέποντας μόνο το προφίλ των κλασικών παραγόντων κινδύνου. Φαίνεται μάλιστα ότι υπάρχει ακόμα μεγαλύτερη αύξηση του κινδύνου όταν συνδυάζονται οι παραπάνω μηχανισμοί μαζί με άλλους παράγοντες κινδύνου όπως π.χ την παχυσαρκία και το αποτέλεσμα αυτό επιβεβαιώνει για άλλη μια φορά ότι η καρκινογένεση στο μαστό συνδέεται στενά με την συνολική και μακροχρόνια έκθεση στα οιστρογόνα.¹⁹

Γενετικές μεταλλάξεις

Πάνω από 5% των περιπτώσεων καρκίνου του μαστού και των ωοθηκών οφείλονται σε μεταλλάξεις σε γονίδια, με περίπου τις μισές περιπτώσεις να αφορούν τα γονίδια BRCA 1 και BRCA 2 τα οποία ενοχοποιούνται και για την ανάπτυξη και άλλων κακοηθειών (**πίνακας 2**). Τα συγκεκριμένα γονίδια είναι ογκοκατασταλτικά και κωδικοποιούν πρωτεΐνες που συμμετέχουν στη ρύθμιση της ανάπτυξης και του πολλαπλασιασμού του κυττάρου.²²

Ασθενείς με καρκίνο του μαστού είναι ύποπτες φορείας μετάλλαξης στα γονίδια αυτά αν πληρούν κάποιο από τα εξής στοιχεία:

- Ο καρκίνος του μαστού να εμφανίστηκε πριν την ηλικία των 40 ετών.
- Αμφοτερόπλευρος καρκίνος ιδιαίτερα σε νεαρή ηλικία.
- Συνυπάρχων καρκίνος στις ωοθήκες.

Ο συνολικός κίνδυνος για όλη τη ζωή σε γυναίκες που είναι φορείς αυτών των μεταλλαγμένων γονιδίων έχει αναφερθεί ότι φτάνει το 80% ενώ ο σχετικός κίνδυνος στις ηλικίες κάτω των 40 υπολογιζόταν σε 200%!²³ Όμως σε μία πιο προσεκτική ανάλυση όλων αυτών των μελετών διαπιστώθηκε ότι υπάρχει μεγάλη διακύμανση (από 26% ως 74%) στην αναφερόμενη συχνότητα του καρκίνου του μαστού.²⁴ Φαίνεται ότι η διαπερατότητα των γονιδίων για να εμφανιστεί ο καρκίνος του μαστού είναι γύρω στο 60%. Ο όρος διαπερατότητα ή διεισδυτικότητα αναφέρεται στην πιθανότητα έκφρασης ενός γονιδίου με αποτέλεσμα την εμφάνιση της κλινικής εικόνας.

Έτσι υποστηρίχτηκε ότι ο κίνδυνος αυτός πρέπει να είναι μικρότερος αφού στη αύξηση του κινδύνου συνέβαλλαν η συνύπαρξη, είτε και άλλων παραγόντων κινδύνου, είτε μεταλλάξεων σε άλλα γονίδια που συμμετέχουν αποδεδειγμένα στη καρκινογένεση στο μαστό, όπως το TP53, PTEN, ATM, MLH1 (σύνδρομο Muir Torre) και το LKB1/STK11 (σύνδρομο Peutz Jeghers).²⁵

Οι γυναίκες που φέρουν μεταλλάξεις στο BRCA 1 εμφανίζουν καρκίνους υψηλής κακοήθειας (Grade III) στο 70% των περιπτώσεων, ενώ έχουν ήδη θετικούς λεμφαδένες σε διπλάσιο ποσοστό από το αναμενόμενο ιδιαίτερα κάτω των 40 ετών.^{25,26}

Όταν υπάρχει μια μετάλλαξη σε αυτά τα γονίδια τότε είναι πολύ πιθανό ο καρκίνος να εκδηλωθεί πριν την ηλικία των 40 ετών. Ποια είναι όμως η κατανομή των μεταλλάξεων σε σχέση με το οικογενειακό ιστορικό των γυναικών φορέων; Από ότι φαίνεται από την Australian Breast Cancer Family Study η πιθανότητα μια γυναίκα με πάνω από 2 συγγενείς με καρκίνο του μαστού να φέρει μεταλλαγμένα γονίδια BRCA 1 και 2 είναι 50% αλλά αυτό αντιστοιχεί μόνο στο 1% των συνολικών περιπτώσεων κληρονομικού καρκίνου του μαστού λόγω μετάλλαξης στα γονίδια αυτά²⁷. Με άλλα λόγια το 70 % των γυναικών με καρκίνο του μαστού που είχαν μεταλλαγμένο γονίδια δεν είχαν κανένα συγγενή με καρκίνο του μαστού, ακόμα και 2 γενιές πριν. Δηλαδή οι λεγόμενες οικογένειες υψηλού κινδύνου περιέχουν λιγότερο από το 1% των φορέων μεταλλάξεων στα γονίδια αυτά ενώ το 60% των φορέων ανήκουν σε οικογένειες χωρίς οικογενειακό ιστορικό, **(πίνακας 3)**.

Στον **πίνακα 4** περιγράφονται οι παράμετροι από το οικογενειακό ιστορικό της ασθενούς που αυξάνουν πολύ την πιθανότητα να φέρει *μετάλλαξη* στα γονίδια BRCA 1 και BRCA 2.²⁸ Οι γυναίκες που ανήκουν σε αυτές τις οικογένειες και δεν φέρουν τα μεταλλαγμένα γονίδια έχουν τον ίδιο κίνδυνο με τον γενικό πληθυσμό. Οι γυναίκες όμως φορείς μπορεί να αποφασίσουν ριζικές θεραπείες όπως την αμφοτερόπλευρη μαστεκτομή και ωοθηκεκτομή. Η σωστή εκτίμηση του κινδύνου σε αυτές τις γυναίκες είναι ακρογωνιαίος λίθος για την απόφαση που αυτές θα πάρουν.

3.ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ

Οι γνωστοί και τεκμηριωμένοι παράγοντες του καρκίνου του μαστού έχουν διερευνηθεί σε πλήθος μελετών περιλαμβάνουν χαρακτηριστικά από το αναπαραγωγικό, το οικογενειακό ιστορικό, τις διατροφικές συνήθειες, τις ανθρωπομετρικές παραμέτρους κλπ (**πίνακας 5**). Παρόλο την εκτεταμένη έρευνα που έχει γίνει τρεις στις τέσσερις γυναίκες που θα εμφανίσουν καρκίνο στο μαστό δεν θα έχει κάποιο αναγνωρίσιμο «κλασικό» παράγοντα κινδύνου.²⁹

Υπενθυμίζω ότι για να θεωρηθεί ένα χαρακτηριστικό, μία κατάσταση κλπ ως *παράγοντας κινδύνου (risk factor)* πρέπει να συντρέχουν 2 προϋποθέσεις:

1. ο κίνδυνος εμφάνισης της νόσου να αυξάνεται περίπου όσο αυξάνεται και ο παράγοντας, και
2. η ελάττωση της συχνότητας του παράγοντα να ακολουθείται από μείωση του κινδύνου.

Η πρώτη προϋπόθεση βασίζεται σε συμπεράσματα που εξάγονται από επιδημιολογικές μελέτες παρατήρησης (observational studies) ενώ η δεύτερη προκύπτει από τα αποτελέσματα των μελετών παρέμβασης, (randomized clinical trials).

Οι σημαντικότεροι από τους παράγοντες κινδύνου για καρκίνο στο μαστό παρουσιάζονται αναλυτικά παρακάτω.

Ηλικία

Η ηλικία αποτελεί ίσως το καλύτερα τεκμηριωμένο παράγοντα κινδύνου. Τα πιο πρόσφατα στοιχεία από το Εθνικό Ινστιτούτο για το Καρκίνο (NCI) των ΗΠΑ δείχνουν ότι η συχνότητα του καρκίνου του μαστού ξεκινά σε ηλικία μικρότερη από 30 ετών με λιγότερες από 24 περιπτώσεις ανά 100.000 το χρόνο και φτάνει στην ηλικία των 80 όπου και σταθεροποιείται με περίπου 500 /100.000 περιπτώσεις το χρόνο, (**εικόνα 3**).

Αυτό σημαίνει μια ετήσια άνοδο της συχνότητας του καρκίνου περίπου κατά 0.11% όσον αφορά τον διηθητικό καρκίνο, (www.seer.gov/csr).Ο σχετικός κίνδυνος που εξάγεται αν συγκρίνουμε την ηλικιακή ομάδα κάτω των 65 ετών με αυτήν των άνω των 65 είναι περίπου 5.8 και μεταξύ των 30-34 ετών και των 70-74 είναι περίπου 17.²⁹

Παχυσαρκία

Η παχυσαρκία συνδέεται με αυξημένο κίνδυνο για καρκίνο του μαστού στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες και με μειωμένο στις προεμμηνοπαυσιακές (πίνακας 6).³⁰ Οι γυναίκες που είναι παχύσαρκες μετά την εμμηνόπαυση διαθέτουν μεγαλύτερη ποσότητα λιπώδους ιστού, ο οποίος αποτελεί τη κύρια πηγή παραγωγής οιστρογόνων όταν οι ωοθήκες σταματήσουν.¹⁰ Τα υψηλότερα επίπεδα των οιστρογόνων σε αυτές τις γυναίκες έχουν συνδεθεί άμεσα τόσο με το έναυσμα όσο και με την επιτάχυνση της διαδικασίας της καρκινογένεσης στο μαστό.¹⁰ Επιπλέον στις παχύσαρκες γυναίκες παρατηρείται μικρότερη παραγωγή SHBG, της πρωτεΐνης δηλαδή με την οποία συνδέεται η οιστραδιόλη στον ορό. Έχει μάλιστα δειχτεί ότι ο διπλασιασμός του βάρους σε μια γυναίκα π.χ από 54 σε 108 κιλά θα επέφερε μια μείωση των επιπέδων της SHBG στον ορό της τάξης του 85% και κατά συνέπεια μία αύξηση των επιπέδων της ελεύθερης οιστραδιόλης κατά 60%.³¹ Επίσης μελέτες έχουν δείξει ότι η παχυσαρκία συνδέεται άμεσα με την ύπαρξη αυξημένων επιπέδων ινσουλίνης και ινσουλινομόρφων αυξητικών παραγόντων (insulinlike growth factors), οι οποίοι με την σειρά τους έχουν ενοχοποιηθεί για καρκινογένεση στο μαστό.²⁵ Προφανώς και στις παχύσαρκες προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες η περίσσεια του λιπώδους ιστού παράγει παραπάνω οιστρογόνα από ότι στις υπόλοιπες γυναίκες. Όμως αυτή η μικρή πλεονάζουσα ποσότητα προκαλεί μόνο μια πολύ μικρή αύξηση στη μεγάλη παραγωγή οιστρογόνων που έχουν αυτές οι γυναίκες από τις ωοθήκες τους κατά τον εμμηνορυσιακό κύκλο, ενώ ίσως και να προκαλεί μια ελαφριά καταστολή της παραγωγής οιστρογόνων από τις γονάδες. Η μικρή μείωση στον κίνδυνο φαίνεται να προκύπτει από το μεγαλύτερο αριθμό ανωορρηκτικών κύκλων που εμφανίζουν αυτές οι γυναίκες²⁵.

Από όλους τους δείκτες που μπορούν να μετρήσουν την παχυσαρκία αυτός που παρουσιάζει την πιο στενή συσχέτιση με τον κίνδυνο για καρκίνο του μαστού είναι ο δείκτης μάζας σώματος ΔΜΣ, (BMI, body mass index) που προκύπτει διαιρώντας το βάρος σε κιλά δια του τετραγώνου του ύψους.³² Άλλοι δείκτες που έχουν συνδεθεί ευθέως ανάλογα με αυξημένο κίνδυνο στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες είναι το ύψος, το βάρος, η περιφέρεια μέσης, η περιφέρεια στους γοφούς και ο λόγος των δύο τελευταίων (WHR, waist to hip ratio),³³ αλλά η

συσχέτιση δεν είναι τόσο σταθερή.^{34,35} Τα αποτελέσματα από την μελέτη WHI (Womens' Health Initiative) έδειξαν ότι η πρόσληψη βάρους και ο ΔΜΣ έχουν μεν την πλέον ισχυρή θετική συσχέτιση με τον καρκίνο του μαστού αλλά το εύρημα αυτό δε, περιορίζεται στις νεότερες μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες που δεν είχαν ακολουθήσει θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης. Επίσης φαίνεται ότι αυτή η σχέση γίνεται ισχυρότερη στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με θετικό οικογενειακό ιστορικό για καρκίνο του μαστού.³⁵

Αλκοόλ

Η κατανάλωση αλκοόλ πάνω του μετρίου (περισσότερα από ένα με δύο ποτά ή πάνω από 15-20 γραμμάρια / ημέρα) φαίνεται πως συνδέεται με μια εξίσου μέτρια αύξηση του κινδύνου για καρκίνο στο μαστό (**πίνακας 7**). Αν και δεν υπάρχουν μελέτες γυναικών με υψηλή ημερήσια κατανάλωση (>3 ποτήρια) φαίνεται πως έτσι και αλλιώς ο σχετικός κίνδυνος ούτε καν διπλασιάζεται.³⁶ Επίσης είναι δύσκολο να μετρηθεί η ανεξάρτητη επίδραση του αλκοόλ πάνω στην αύξηση του κινδύνου, αφού έχει βρεθεί συσχέτιση και συνέργεια με την παχυσαρκία και το θετικό οικογενειακό ιστορικό.³⁷

Έχουν προταθεί πολλοί μηχανισμοί μέσω των οποίων το αλκοόλ προάγει την καρκινογένεση. Η μείωση πρόσληψης αντικαρκινογόνων διατροφικών στοιχείων, η ενεργοποίηση του μεταβολισμού καρκινογόνων ουσιών όπως η ακεταλδεύδη, η μειωμένη ικανότητα της αυτοεπιδιόρθωσης του γενετικού υλικού καθώς και η ηπατική δυσλειτουργία που αυξάνει τα επίπεδα των κυκλοφορούντων οιστρογόνων είναι μερικοί από αυτούς.³⁷

Δεν έχουν παρατηρηθεί διαφορές μεταξύ διαφορετικών τύπων αλκοολούχων ποτών. Αν και είναι πιθανό η μείωση της κατανάλωσης αλκοόλ να οδηγούσε σε μια μέτρια έως μικρή μείωση του κινδύνου για καρκίνο του μαστού, αυτό δεν ξέρουμε τι επιπτώσεις θα είχε στον κίνδυνο για εμφάνιση άλλων νοσημάτων (π.χ καρδιοπάθειες) στα οποία φαίνεται ότι η μέτρια λήψη αλκοόλ προστατεύει.³⁶

Θεραπεία Ορμονικής Υποκατάστασης (Θ.Ο.Υ).

Οι παλαιότερες μελέτες δεν έδειχναν ότι υπήρχε κάποια σχέση της Θ.Ο.Υ με τον καρκίνο του μαστού. Για παράδειγμα δύο μεγάλες επιδημιολογικές μελέτες (population-based,

case-control studies) που έγιναν στα μέσα της δεκαετίας του 1990, έδειξαν ότι η Θ.Ο.Υ δεν αύξανε τον κίνδυνο ούτε στους πρόσφατους, αλλά ούτε και στους παλαιότερους χρήστες αυτής της θεραπείας (πίνακας 8). Επίσης ούτε η μακροχρόνια χρήση Θ.Ο.Υ ακόμα και για πάνω από 15 ή 20 έτη αλλά ούτε και ο τύπος του σκευάσματος (φυσικά οιστρογόνα, συνθετικά οιστρογόνα, συνδεδεμένα οιστρογόνα με προγεστερινοειδές) συνδέονταν με αυξημένο κίνδυνο

38.

Όμως, εκείνη την εποχή οι προοπτικές μελέτες (cohort studies), όπως η Nurse's Health Study, έδειχναν ότι υπήρχε αυξημένος κίνδυνος κατά την σύγχρονη εφαρμογή της θεραπείας (αλλά, όχι και για χρήση κατά το παρελθόν) και ότι η αύξηση αυτή συνδέονταν τόσο με το είδος του σκευάσματος όσο και με την διάρκεια της χρήσης με ευθέως ανάλογο τρόπο. Πιο συγκεκριμένα ο σχετικός κίνδυνος (RR, relative risk) ήταν 1.32 για χρήση μόνο οιστρογόνων, 1.41 για τον συνδυασμό και 2.24 για χρήση μόνο προγεστερινοειδούς. Ο σχετικός κίνδυνος ήταν μιάμιση φορά αυξημένος για διάρκεια συνεχούς χρήσης πάνω από 5 έτη χωρίς αυτό να μεταβάλλεται στην δεκαετία.³⁹ Το 1997 μια μετανάλυση 51 επιδημιολογικών μελετών που περιλάμβαναν 52705 ασθενείς με καρκίνο, έδειξε ότι ο σχετικός κίνδυνος για ανάπτυξη καρκίνου στο μαστό αύξανε αθροιστικά με κάθε χρόνο θεραπείας και έφτανε στο 1.35 μετά την πενταετία ή 6 επιπλέον καρκίνους στο μαστό ανά 100 γυναίκες σε Θ.Ο.Υ. Η ανάλυση αυτή δεν έδειξε να υπήρχαν διαφορές μεταξύ των διαφόρων σκευασμάτων. Πέντε χρόνια και πάνω μετά την διακοπή της θεραπείας είναι αρκετά για να εκμηδενιστεί ο επιπλέον κίνδυνος από την εφαρμογή της.⁴⁰

Όμως τον Ιούλιο του 2002 το Εθνικό Ινστιτούτο Υγείας (N.I.H) των ΗΠΑ σταμάτησε την διεξαγωγή ενός μέρους της μεγάλης προοπτικής μελέτης WHI (Women's health initiative) αυτού που αφορούσε την χρήση του συνδυασμού οιστρογόνων και προγεστερόνης για Θ.Ο.Υ. Ο λόγος ήταν ότι μετά από 5 περίπου έτη παρακολούθησης βρέθηκε ότι οι γυναίκες αυτές είχαν αυξημένο κίνδυνο για εγκεφαλικό επεισόδιο και στεφανιαία συμβάματα, ενώ και ο κίνδυνος για καρκίνο στο μαστό βρέθηκε αυξημένος κατά 26% στην πενταετία.⁴¹ Η μελέτη αυτή περιλάμβανε πάνω από 16000 γυναίκες ηλικίας 50- 79 ετών που τυχαιοποιήθηκαν σε εικονικό

φάρμακο, οιστρογόνα ή συνδυασμό οιστρογόνων με προγεστερόνη. Το κομμάτι της μελέτης που αφορά τη χρήση μόνο οιστρογόνων για Θ.Ο.Υ συνεχίζεται ακόμα καθώς εκεί δεν βρέθηκε αυξημένος κίνδυνος. Υπάρχουν και άλλες μελέτες που έχουν δείξει πιο αυξημένο κίνδυνο από τη χρήση του συνδυασμού σε σχέση με τη χρήση μόνο οιστρογόνων έτσι ίσως θα ήταν λογικό να μην γίνεται η χρήση του συνδυασμού σε γυναίκες που έχουν υποβληθεί σε υστερεκτομή.⁴²

Υπάρχει πάντως σκεπτικισμός για τα παραπάνω αποτελέσματα που κυρίως έχουν να κάνουν με το σχεδιασμό της μελέτης. Το μεγάλο εύρος ηλικίας των συμμετεχόντων (μόνο το 33% ήταν ηλικίας 50-60 ετών) και το γεγονός ότι το 74% των γυναικών ξεκίνησαν την Θ.Ο.Υ αρκετά χρόνια μετά την εμμηνόπαυση, έχει προκαλέσει πολύ συζήτηση αφού αυτά τα χαρακτηριστικά διαφοροποιούν την μελέτη από την κλασική εφαρμογή της Θ.Ο.Υ στη σύγχρονη ιατρική πρακτική.⁴³

Μια μεταγενέστερη μετανάλυση όλων των επιδημιολογικών μελετών που αφορούσαν την Θ.Ο.Υ κατέδειξε ότι στα οφέλη από τη χρήση Θ.Ο.Υ περιλαμβάνονται τα λιγότερα οστεοπορωτικά κατάγματα και οι λιγότεροι ορθοκολικοί καρκίνοι ενώ από την άλλη μεριά ήταν αυξημένος ο κίνδυνος για αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, στεφανιαία νόσο, θρομβοεμβολικά επεισόδια, χολοκυστίτιδα και για καρκίνο του μαστού μετά από πάνω από μια πενταετία συνεχούς χορήγησης.⁴⁴

Τέλος πρόσφατα μια από τις μεγαλύτερες επιδημιολογικές μελέτες, η οποία έγινε στην Αγγλία, η million women study έδειξε ότι οι γυναίκες ηλικίας 50-64 ετών που παίρνουν Θ.Ο.Υ κινδυνεύουν περισσότερο να νοσήσουν και να πεθάνουν από καρκίνο στο μαστό και από τις γυναίκες που έκαναν χρήση μόνο στο παρελθόν και από αυτές που δεν έκαναν χρήση ποτέ. Ο μεγαλύτερος κίνδυνος αφορούσε τα σκευάσματα συνδυασμού οιστρογόνου και προγεσταγόνου⁴⁵ (πίνακας 8).

Ο όποιος κίνδυνος που προέρχεται από την Θ.Ο.Υ δεν φαίνεται να αυξάνεται με τη συνύπαρξη στην ίδια γυναίκα άλλων παραγόντων κινδύνου για το καρκίνο του μαστού, όπως το θετικό οικογενειακό ιστορικό, η ατεκνία η παχυσαρκία η κατανάλωση αλκοόλ ή η παρουσία καλοήθους νόσου του μαστού.²⁵

Αντισυλληπτικά

Τα από του στόματος αντισυλληπτικά δισκία χρησιμοποιούνται ευρύτατα παγκοσμίως. Τα περισσότερα περιέχουν σήμερα ένα συνδυασμό μεστρανόλης ή του μεταβολίτη της αιθυνλικής οιστραδιόλης και ενός προγεστερινοειδούς. Την δεκαετία του 1960 τα αντισυλληπτικά δισκία περιείχαν υψηλές δόσεις οιστρογόνων (περίπου 100 µg) αλλά τα σύγχρονα σκευάσματα περιέχουν πολύ λιγότερη ποσότητα (20-30 µg). Αυτή η μείωση της περιεκτικότητας σε οιστρογόνο έχει μάλλον εξασθενήσει τη σχέση της χρήσης των αντισυλληπτικών με τον κίνδυνο για καρκίνο του μαστού (πίνακας 9).⁴⁶

Η ορμονική επίδραση στο μαστό από τα αντισυλληπτικά είναι πολύπλοκη. Από τη μια μεριά τα δισκία αυτά προκαλούν ανωορρηξίες, από την άλλη όμως ο συνδυασμός οιστρογόνων και προγεστερόνης ίσως να ενεργοποιεί αυξημένη μιτωτική δραστηριότητα στα μαστικά κύτταρα.⁴⁶ Επιγραμματικά ο κίνδυνος για καρκίνο του μαστού φαίνεται να είναι περισσότερο αυξημένος :

- κατά την χρήση των αντισυλληπτικών⁴⁷
- σε γυναίκες που ξεκίνησαν την χρήση σε ηλικία κάτω των 20 ετών⁴⁷
- με τη χρήση δισκίων με υψηλή περιεκτικότητα οιστρογόνων (>35 µg οιστραδιόλης ή >50 µg μεστρανόλης)⁴⁸,
- με τη χρήση σκευασμάτων υψηλής δραστηριότητας σε προγεστερινοειδές και οιστρογόνα⁴⁸,
- σε γυναίκες <35 ετών^{47,48},

Η αύξηση του κινδύνου με τη μακροχρόνια χρήση των αντισυλληπτικών δεν έχει αποδειχτεί όπως έδειξε μια μετανάλυση 54 επιδημιολογικών μελετών από 25 χώρες αλλά αυτό δεν είναι σταθερό εύρημα σε όλες τις έρευνες^{10,47}. Πάντως ακόμα και όταν εντοπίζεται καρκίνος σε γυναίκες με ιστορικό χρήσης αντισυλληπτικών δισκίων, αυτός είναι σε πιο αρχικό στάδιο από στις υπόλοιπες γυναίκες.⁴⁷

Δέκα και παραπάνω χρόνια μετά τη διακοπή της χρήσης των αντισυλληπτικών ο κίνδυνος φαίνεται να εκμηδενίζεται και δεν υπάρχει σήμερα καμία απόδειξη ότι σε γυναίκες πάνω των 45 ετών ο κίνδυνος για καρκίνο στο μαστό επηρεάζεται καθόλου από παλαιότερη χρήση

αντισυλληπτικών.⁴⁷ Όμως αυτό μπορεί να αλλάξει αν σκεφτούμε ότι οι πάρα πολλές γυναίκες που χρησιμοποίησαν εκτεταμένα αντισυλληπτικό χάπι πριν 15 και 20 έτη τώρα εισέρχονται στην συγκεκριμένη ηλικιακή ομάδα.

Σε σχέση με τους άλλους παράγοντες κινδύνου τα αντισυλληπτικά δισκία δεν αυξάνουν περισσότερο τον κίνδυνο σε γυναίκες με θετικό οικογενειακό ιστορικό για καρκίνο του μαστού αλλά ο ρόλος τους είναι πιο ύποπτος στις φορείς των μεταλλαγμένων γονιδίων BRCA 1 και 2.⁴⁹

Τα αντισυλληπτικά δισκία που περιέχουν μόνο προγεστερινοειδές καθώς και τα ενέσιμα μακράς διάρκειας (depot medroxyprogesterone acetate) δεν φαίνεται να αυξάνουν τον κίνδυνο για καρκίνο του μαστού.⁴⁶

Κάπνισμα

Το κάπνισμα δεν είναι παράγοντας κινδύνου για το καρκίνο του μαστού. Μελέτες έχουν δείξει ότι έχει αντισταθμιστικές ιδιότητες⁵⁰ (**πίνακας 10**). Οι καπνίστριες έχουν μειωμένη ποσότητα οιστραδιόλης στον ορό γιατί είναι πιο ενεργοποιημένη η μεταβολική οδός της 2-υδροξυλίωσης. Ίσως έτσι να εξηγείται η μειωμένη επίπτωση του καρκίνου του ενδομητρίου και η αυξημένη επίπτωση της οστεοπόρωσης στις καπνίστριες. Το κάπνισμα ακόμα προκαλεί μείωση των οιστρογόνων (μετρημένα στα ούρα) πριν την εμμηνόπαυση και αύξηση των ανδρογόνων μετά. Επίσης το κάπνισμα συνδέεται με πρόωρη εγκατάσταση της εμμηνόπαυσης.⁵¹

Όμως παρά το γεγονός ότι μερικές μελέτες έχουν δείξει την έλλειψη θετικής συσχέτισης του καπνίσματος με το καρκίνο του μαστού⁵², άλλες έχουν δείξει το αντίθετο ενοχοποιώντας μάλιστα τις καρκινογόνες ιδιότητες των αρωματικών υδρογονανθράκων που παράγονται κατά την καύση του τσιγάρου.⁵³ Η πιθανή διφορούμενη επίδραση του καπνίσματος στην καρκινογένεση στο μαστό μπορεί να εξηγήσει γιατί οι γυναίκες που έχουν διακόψει το κάπνισμα κινδυνεύουν περισσότερο από τις καπνίστριες αλλά και από αυτές που δεν έχουν καπνίσει ποτέ.⁵⁰

Άσκηση

Η καθημερινή μέτρια άσκηση φαίνεται να προστατεύει από τον καρκίνο του μαστού ιδιαίτερα τις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες ^{54,55} (**πίνακας 11**). Σε αυτές τις γυναίκες ο πιο πιθανός μηχανισμός προστασίας ίσως να είναι τα μειωμένα επίπεδα οιστρογόνων, ινσουλίνης και ινσουλινόμορφου αυξητικού παράγοντα (IGF 1) στο πλάσμα που αυτές παρουσιάζουν λόγω της άσκησης.⁵⁴ Αυτοί οι παράγοντες έχουν συνδεθεί με καρκινογένεση στο μαστό όπως αναφέραμε και πιο πάνω. Είναι επίσης γεγονός ότι η μέτρια αυξημένη φυσική δραστηριότητα ενισχύει το αμυντικό σύστημα του οργανισμού ενισχύοντας την παραγωγή και τη δράση των μακροφάγων των κυττάρων φυσικών φονέων (natural killer cells) κλπ που εξουδετερώνουν νεοπλασματικά κύτταρα.⁵⁴

Στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες η άσκηση επίσης προστατεύει, αφού είναι γνωστό ότι οι έφηβες που ασχολούνται με αθλητισμό ή μπαλέτο έχουν καθυστερημένη εμμηναρχή και μακροχρόνιες ανωμαλίες στον εμμηνορυσιακό τους κύκλο και αμηνόρροια καταλήγοντας έτσι σε μικρότερη συνολική έκθεση στα οιστρογόνα.⁵⁶ Υπάρχουν πάντως αντικρουόμενα αποτελέσματα στη βιβλιογραφία για τον ρόλο της άσκησης στην καρκινογένεση στο μαστό. Αυτό μάλλον αντανακλά μεθοδολογικά προβλήματα που αφορούν την σωστή εκτίμηση του είδους και του μεγέθους της φυσικής δραστηριότητας μέσω ερωτηματολογίων και άλλων ποικίλων μεθόδων. Επίσης υπάρχει μια μικρή σύγχυση για το μέγεθος της επίδρασης πάνω στον κίνδυνο για καρκίνο στο μαστό από την άσκηση, την παχυσαρκία, την κατανάλωση λίπους και άλλων τροφών κλπ. Το γεγονός δηλαδή ότι ίσως η άσκηση μειώνει τον κίνδυνο για καρκίνο στο μαστό εξαιτίας της πρόληψης της παχυσαρκίας που την συνοδεύει δεν έχει ακόμα απαντηθεί αλλά μάλλον το ερώτημα είναι ρητορικό αφού όλοι αυτοί οι παράγοντες αποτελούν τις 2 πλευρές του ίδιου νομίσματος.⁵⁷

Ιονίζουσα ακτινοβολία

Ο σχετικός κίνδυνος για έκθεση σε ακτινοβολία μεγέθους 1Gy είναι περίπου 1.61 για μια περίοδο 10 ετών. Αυτό το συμπέρασμα βγήκε μελετώντας την αυξημένη συχνότητα καρκίνου του μαστού σε ασθενείς που υποβάλλονταν σε επανειλημμένες ακτινογραφίες εξαιτίας της πνευμονικής φυματίωσης από την οποία έπασχαν.²⁵ Ανάλογα αποτελέσματα έχουν

βγει εξετάζοντας την συχνότητα του καρκίνου είτε σε ασθενείς με νόσο του Hodgkin είτε σε ασθενείς με μαστίτιδα που αμφότεροι είχαν υποβληθεί σε ακτινοθεραπεία για τις νόσους τους.⁵⁸ Φαίνεται μάλιστα ότι πιο ευαίσθητες στην καρκινογόνο επίδραση της ακτινοβολίας είναι οι πιο νέες γυναίκες και κυρίως οι έφηβες.

Ο κίνδυνος από την έκθεση των μαστών σε ιονίζουσα ακτινοβολία φαίνεται ότι διατηρείται το ίδιο ψηλός σε όλη τη διάρκεια της ζωής της γυναίκας και εκδηλώνεται συνήθως μετά από μια λανθάνουσα περίοδο 10 έως 15 ετών.²⁵

Εμμηναρχή

Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι η πρόωμη ηλικία εμμηναρχής σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο για καρκίνο του μαστού αλλά το μέγεθος της επίδρασης της είναι μικρό αφού σε όλες σχεδόν τις μελέτες ο σχετικός κίνδυνος δεν ξεπερνάει το διπλάσιο (**πίνακας 12**). Η πρόωμη εμμηναρχή σχετίζεται με μεγαλύτερη συνολική έκθεση στα οιστρογόνα αν και φαίνεται πως η σχέση της είναι έμμεση και μεγαλύτερη σημασία έχει το γεγονός πως η πρόωμη εμμηναρχή σχετίζεται με πιο γρήγορη εγκατάσταση κανονικών κύκλων, αν και αυτό δε ήταν πάντα σταθερό εύρημα^{13,18,59}.

Για την ίδια ηλικία εμμηναρχής οι γυναίκες που αποκτούν κανονικούς ωορρηκτικούς κύκλους μέσα σε ένα έτος διατρέχουν διπλάσιο κίνδυνο σε σχέση με αυτές που κάνουν 5 έτη να ομαλοποιήσουν τον κύκλο τους¹⁸.

Εμμηνόπαυση

Από το 1972 ο καθηγητής κ Τριχόπουλος και συν είχε δείξει ότι οι γυναίκες με προχωρημένη ηλικία εμμηνόπαυσης (>55 ετών) κινδυνεύουν μιάμιση φορά περισσότερο για να αναπτύξουν καρκίνο στο μαστό από τις γυναίκες που είχε σταματήσει ο κύκλος τους στην ηλικία των 45 ή και πιο μικρές.¹⁵ Ακολούθησαν πολλές μελέτες, (**πίνακας 13**), με ανάλογα αποτελέσματα, πράγμα που οδήγησε στη δημιουργία της θεωρίας ότι συνδυάζοντας και την επίδραση της εμμηναρχής στον κίνδυνο, αυτός είναι απευθείας ανάλογος με τον συνολικό αριθμό ωορρηκτικών κύκλων που θα έχει μια γυναίκα συνολικά στη ζωή της.^{13,25,32}

Η τεχνητή εμμηνόπαυση (με υστερεκτομή μετά αμφοτερόπλευρης ωοθηκεκτομής ή μετά από ακτινοβολίες στη πύελο) φαίνεται να έχει λίγο μεγαλύτερο προστατευτικό ρόλο από ότι η φυσιολογική. Πιθανόν αυτό να εξηγείται από το ότι στη τεχνητή εμμηνόπαυση υπάρχει άμεση ελάττωση της παραγωγής των οιστρογόνων ενώ στην φυσική μπορεί να χρειαστεί να περάσουν και χρόνια μέχρι να φτάσουμε στα ίδια χαμηλά επίπεδα.²⁵

Ηλικία εγκυμοσύνης και τοκιμότητα

Ο πιο σημαντικός αναπαραγωγικός παράγοντας κινδύνου είναι η ηλικία της πρώτης τελειόμηνης κύησης (**πίνακας 14**). Ο Mac Mahon και συν πρώτος έδειξε την ισχυρή θετική συσχέτιση της προχωρημένης ηλικίας του πρώτου τοκετού με το κίνδυνο της καρκινογένεσης στο μαστό.⁶⁰ Ανέτρεψαν επίσης την μέχρι τότε επικρατούσα αντίληψη ότι πιο σημαντικό προστατευτικό ρόλο έπαιζε η ύπαρξη πολλών παιδιών, αφού φάνηκε αυτή οφείλονταν κυρίως στη πρώιμη ηλικία του 1ου τοκετού. Με άλλα λόγια οι γυναίκες με ηλικία εγκυμοσύνης πάνω από τα 35 είχαν ελαφρά μεγαλύτερο κίνδυνο ακόμα και από τις άτεκνες γυναίκες και αυτό έχει επιβεβαιωθεί επανειλημμένως.^{13,60,61} Οι γυναίκες που δεν είχαν παιδιά κινδύνευαν περίπου μιάμιση φορά περισσότερο ενώ αυτές που είχαν γεννήσει πριν συμπληρώσουν τα 20 χρόνια κινδύνευαν 50% λιγότερο από αυτές που γέννησαν για πρώτη φορά μετά τα 30.⁶⁰

Παρόλο που η παραπάνω μελέτη δεν έδειξε ότι οι επιπλέον εγκυμοσύνες προστατεύουν ακόμα πιο πολύ, άλλες σύγχρονες μελέτες έχουν δείξει ότι είναι πιθανόν να υπάρχει μια περαιτέρω προστασία. Η προστασία που προσφέρουν αυτοί οι αναπαραγωγικοί παράγοντες φαίνεται να διαρκεί και μετά την εμμηνόπαυση.⁶¹ Η μακροχρόνια αυτή προστασία μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι, τα επίπεδα προλακτίνης έχουν βρεθεί ότι είναι πολύ υψηλότερα στις άτεκνες γυναίκες και αυτό διατηρείται και μετά την εμμηνόπαυση. Επίσης οι προεμμηνόπαυσιακές, (αλλά όχι και οι μετεμμηνόπαυσιακές), γυναίκες που έχουν γεννήσει, έχουν μικρότερα επίπεδα ελευθέρων κυκλοφορούντων οιστρογόνων και υψηλότερα επίπεδα SHBG, της σφαιρίνης δηλαδή πάνω στην οποία συνδέονται τα οιστρογόνα στο πλάσμα.⁴⁶ Παρόλα αυτά φαίνεται να υπάρχει ένα παράδοξο σε όλη αυτή την ιστορία. Οι γυναίκες που είχαν την τελευταία τους κύηση την τελευταία τριετία είχαν σχεδόν τριπλάσιο κίνδυνο για

καρκίνο στο μαστό από ότι οι γυναίκες ίδιας ηλικίας που είχαν γεννήσει το τελευταίο τους παιδί 10 έτη πριν.

Φαίνεται πως ο ρόλος της εγκυμοσύνης στην καρκινογένεση στο μαστό είναι αντικρουόμενος. Κατά τη διάρκεια του πρώτου τριμήνου της εγκυμοσύνης τα επίπεδα των κυκλοφορούντων οιστρογόνων αυξάνουν σημαντικά και αυτό είναι πιο έκδηλο κατά την πρώτη κύηση. Το μέγεθος της έκθεσης στα οιστρογόνα στο 1^ο τρίμηνο είναι ισοδύναμο με το αν είχε η γυναίκα πολλούς ωορρηκτικούς κύκλους το ίδιο διάστημα. Αυτή η θεώρηση ενισχύεται και από το γεγονός ότι οι γυναίκες που υποφέρουν από ναυτία και εμέτους στην εγκυμοσύνη τόσο βαριά ώστε να χρειαστούν να πάρουν φάρμακα για αυτό, παρουσιάζουν αυξημένο κίνδυνο για καρκίνο στο μαστό. Είναι άλλωστε γνωστό ότι οι γυναίκες αυτές έχουν υψηλότερα επίπεδα οιστραδιόλης από αυτές που δεν έχουν τέτοια συμπτώματα.⁴⁶

Ο προβλεπτικός ρόλος που μπορεί να παίζει το αναπαραγωγικό ιστορικό στην εκτίμηση του κινδύνου για ανάπτυξη καρκίνου στο μαστό, μπορεί να ενισχυθεί ακόμα περισσότερο αν συνδυασθούν οι παράγοντες αυτοί μεταξύ τους. Για παράδειγμα ο συνδυασμός της τρέχουσας ηλικίας της γυναίκας μαζί με την ηλικία της 1^{ης} κύησης και το χρονικό διάστημα που έχει περάσει από το 1^ο τοκετό βρέθηκε ότι προσφέρει ένα πιο ακριβή υπολογισμό του κινδύνου από ότι ο καθένας ξεχωριστά.¹⁶

Εκτρώσεις-αποβολές

Ο κίνδυνος για καρκίνο του μαστού δεν φαίνεται να είναι αυξημένος στις γυναίκες που είχαν κάνει είτε έκτρωση είτε αυτόματη αποβολή⁶², παρά τα αντικρουόμενα αποτελέσματα στη διεθνή βιβλιογραφία ¹⁴ (**πίνακας 15**). Μάλιστα οι πιο πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι οι εκτρώσεις προσφέρουν μια μικρή προστασία από το καρκίνο του μαστού. Αυτό οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η διαδικασία της κύησης αυτή καθαυτή είναι που προστατεύει ανεξάρτητα από την έκβαση της. Επίσης ούτε ο αυξημένος αριθμός αποβολών φαίνεται να αυξάνει τον κίνδυνο για καρκίνο του μαστού.⁶²

Θηλασμός

Έχει χυθεί πολύ μελάνι στην ιατρική βιβλιογραφία για το ρόλο του θηλασμού πάνω στην καρκινογένεση στο μαστό. Υπάρχει θεωρητική βάση για να στηρίξει την άποψη ότι ο θηλασμός προστατεύει αφού η γαλουχία είναι μια περίοδος όπου δεν υπάρχουν ή έστω αργούν να επανεμφανιστούν οι κανονικοί ωορρηκτικοί κύκλοι οι οποίοι συνοδεύονται από τα υψηλά επίπεδα κυκλοφορούντων οιστρογόνων.

Από την άλλη μεριά όμως η στενή σχέση του θηλασμού με την ηλικία της πρώτης εγκυμοσύνης και την τοκιμότητα δημιουργεί σύγχυση δεν αφήνει να φάνει η ανεξάρτητη επίδραση της, αν υπάρχει πάνω στην καρκινογένεση. Ο MacMahon και συν έδειξαν πως μετά τον υπολογισμό της επίδρασης της τοκιμότητας δεν παρέμεινε καμία συσχέτιση ούτε θετική αλλά ούτε και αρνητική του θηλασμού με τον καρκίνο στο μαστό.⁶³

Νεότερες μελέτες έδειξαν ότι ο θηλασμός ασκεί μια ήπια προστατευτική επίδραση στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες⁶⁴ και καθόλου στις μετεμμηνοπαυσιακές⁶⁵ (πίνακας 16). Όμως οι μελέτες αυτές αφορούσαν γυναίκες των χωρών της δύσης όπου ο θηλασμός δεν είναι πολύ δημοφιλής. Αντίθετα, σε χώρες όπως η Κίνα που ο θηλασμός είναι κοινή πρακτική για όλες σχεδόν τις γυναίκες φάνηκε ότι υπήρχε μία μείωση του κινδύνου και στις προεμμηνοπαυσιακές αλλά και στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Η μείωση αυτή φάνηκε ότι ήταν ανάλογη της χρονικής διάρκειας του θηλασμού.⁶⁶

Οικογενειακό ιστορικό

Το θετικό οικογενειακό ιστορικό για καρκίνο στο μαστό αποτελεί τον πιο παλιό παράγοντα κινδύνου και πολλές έρευνες έχουν γίνει για να εξακριβωθούν οι παράμετροι που καθορίζουν το μέγεθος της επίδρασης του, στον κίνδυνο για καρκίνο του μαστού. Σε μια μετανάλυση από τον Pharoah και συν το 1997 ανασκοπήθηκαν όλες οι εργασίες από το 1966 μέχρι το 1996 (52 και 22).⁶⁷ Σε αυτή την ανάλυση βρέθηκε ότι το μέγεθος του σχετικού κινδύνου επηρεάζεται από:

1. τον βαθμό συγγένειας (πρώτος ή δεύτερος)
2. την ηλικία που ο συγγενής εμφάνισε τον καρκίνο στο μαστό

3. τον συνολικό αριθμό των συγγενών με καρκίνο στο μαστό.

Πιο αναλυτικά βρέθηκε διπλάσιος κίνδυνος στις γυναίκες με ένα πρώτου βαθμού συγγενή που εμφάνισε καρκίνο σε ηλικία μεγαλύτερη των 50 ετών. Αν η ηλικία ήταν μικρότερη από 50 έτη ο κίνδυνος γίνονταν υπερτριπλάσιος. Επίσης ο κίνδυνος γινόταν μιάμιση φορά μεγαλύτερος εάν υπήρχε μόνο ένας δευτέρου βαθμού συγγενής με καρκίνο του μαστού, ενώ εάν υπήρχαν δύο συγγενείς πρώτου βαθμού ο κίνδυνος σχεδόν τετραπλασιαζόταν. Ανάλογα αποτελέσματα έδωσαν και άλλες μελέτες ²⁹ (πίνακας 17).

Λίπος

Υπάρχει αρκετή πληροφορία για το ρόλο της κατανάλωσης λίπους με τον κίνδυνο για καρκίνο του μαστού. Δυστυχώς όμως παρά τις πολλές ερευνητικές προσπάθειες τα αποτελέσματα δεν είναι ξεκάθαρα. Αυτό σημαίνει ή ότι δεν υπάρχει καμία σχέση ή ότι είναι δύσκολο πολύ για μεθοδολογικούς λόγους να βρεθεί μια ξεκάθαρη συσχέτιση.

Πειραματικά δεδομένα έχουν δείξει ότι η υψηλή κατανάλωση λίπους προάγει την καρκινογένεση. Η μείωση στη κατανάλωση λίπους φαίνεται ότι μειώνει σημαντικά και τα επίπεδα της οιστραδιόλης στον ορό. Δεν έχει όμως αποδειχτεί εάν αυτή η μείωση οδηγεί τελικά σε μείωση της συχνότητας του καρκίνου του μαστού.⁵¹ Ενώ οι case-control αναδρομικές μελέτες έχουν δείξει μια έστω και ασθενή θετική συσχέτιση της κατανάλωσης λίπους με τον καρκίνο,⁶⁸ οι προοπτικές μελέτες (cohort) δεν έδειξαν κάποια συσχέτιση.¹⁷ Η έστω και μικρή αυτή συσχέτιση αφορούσε μόνο τις μετεμμηνοπαυσιακές και όχι τις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, (πίνακας 18).

Καλοήθης νόσος του μαστού

Από τις μορφές καλοηθών νόσων του μαστού αυτή που έχει ξεκάθαρα συνδεθεί με αυξημένο κίνδυνο για καρκινογένεση είναι η επιθηλιακή υπερπλασία.

Η συνήθης απλή επιθηλιακή υπερπλασία χαρακτηρίζεται από αύξηση του αριθμού των φυσιολογικών επιθηλιακών κυττάρων που είναι τοποθετημένα πάνω στη βασική μεμβράνη. Όταν τα κύτταρα αυτά αποκτήσουν χαρακτήρες παρόμοιους με αυτούς των κυττάρων που συνιστούν το DCIS τότε η υπερπλασία χαρακτηρίζεται *ατυπική*.

Το 1985 ο Dupont και συν προσδιόρισε το σχετικό κίνδυνο για διηθητικό καρκίνο σε ασθενείς με βιοψίες από μη κακοήθεις βλάβες στο μαστό. Οι ασθενείς των οποίων η βιοψία έδειξε απλή υπερπλασία, είχαν διπλάσιο σχετικό κίνδυνο από αυτούς χωρίς στοιχεία υπερπλασίας στην βιοψία τους, ενώ αν η υπερπλασία είχε και τα ιστολογικά χαρακτηριστικά της ατυπίας ο κίνδυνος πενταπλασιαζόταν. Τέλος ενδεκαπλάσιο σχετικό κίνδυνο παρουσίαζαν οι ασθενείς με ατυπική υπερπλασία και οι οποίοι συγχρόνως είχαν ένα συγγενή πρώτου βαθμού με καρκίνο στο μαστό.⁶⁹

Η σχέση της παρουσίας ατυπικών κυττάρων και αυξημένου κινδύνου για καρκίνο στο μαστό έχει δείχτεί και με κυτταρολογικές μέθοδες όπως είναι η αναρρόφηση με λεπτή βελόνη (fine needle aspiration, FNA) η αναρρόφηση από τη θηλή (nipple aspiration fluid ,NAF) ή η έκπλυση με καθετήρα μέσω της θηλής (ductal lavage).^{51,70,71} Φαίνεται μάλιστα ότι η αύξηση του κινδύνου είναι εξίσου η ίδια και με τις δυο τεχνικές, δηλαδή υπάρχει αντιστοιχία μεταξύ της ύπαρξης υπερπλασίας και ατυπίας στο ιστολογικό παρασκεύασμα και στο κυτταρολογικό υλικό⁵¹ (πίνακας 19).

In situ

Η ύπαρξη λοβιακού καρκινώματος in situ (LCIS) συνδέεται με μια σχετική ετήσια συχνότητα της τάξεως του 1.8% και με ένα σχετικό κίνδυνο 16.4 σε σχέση με τις γυναίκες που δεν είχαν ιστορικό τέτοιων βλαβών.²⁵

Το πρόβλημα με το LCIS είναι ότι :

1. ο διηθητικός καρκίνος δεν θα αναπτυχθεί στο σημείο που βρίσκεται το LCIS καθώς αυτό δεν αποτελεί προδιηθητικό στάδιο του νεοπλάσματος⁷²,
2. σε αυξημένο κίνδυνο βρίσκεται όχι μόνο όλος ο υπόλοιπος μαστός στον οποίο εντοπίστηκε το LCIS αλλά και ο άλλος μαστός!⁷²,
3. εάν αναπτυχθεί διηθητικός καρκίνος αυτός είναι πιο πιθανό να είναι πορογενούς παρά λοβιακού τύπου!²⁵

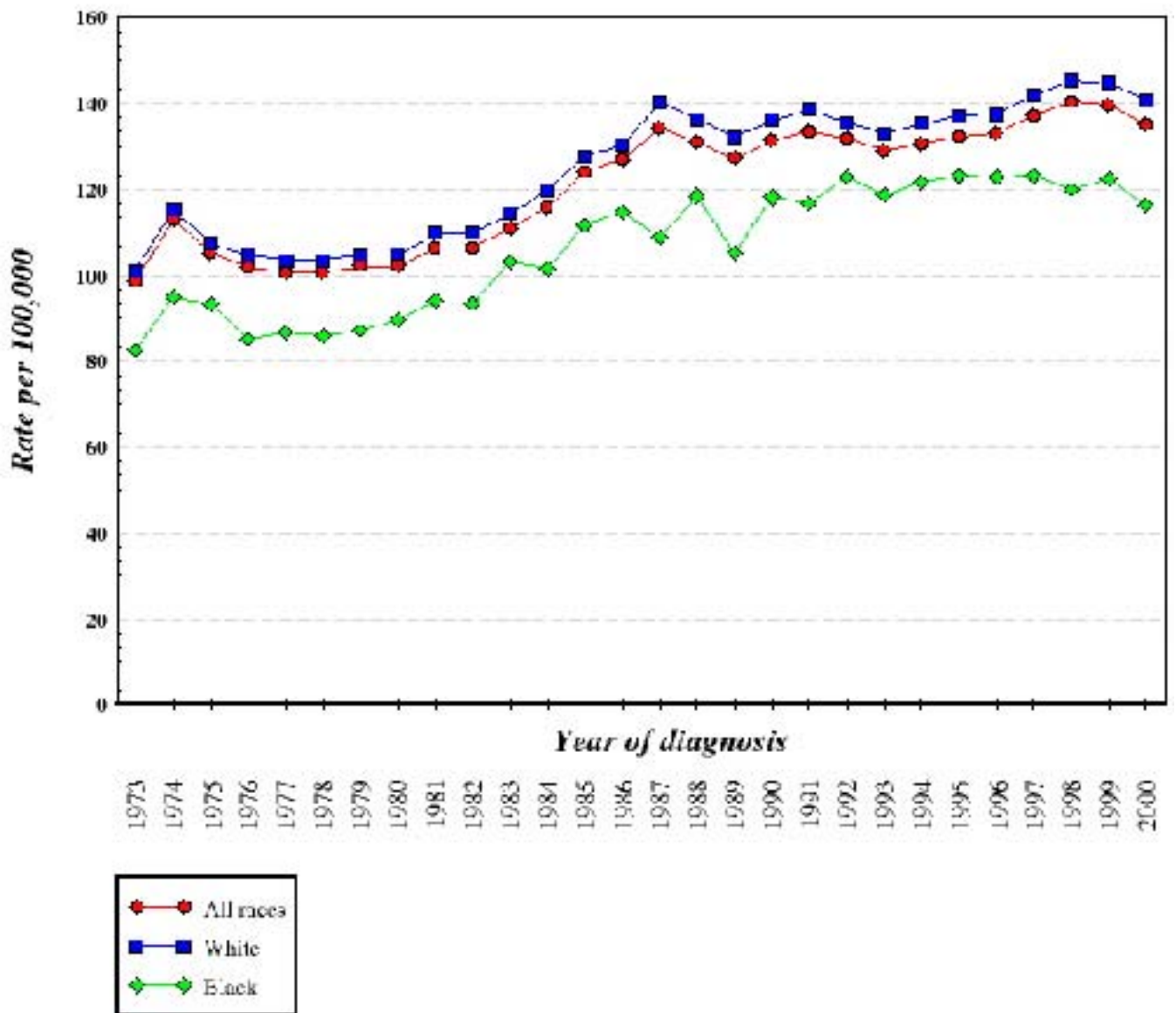
Εύκολα λοιπόν αναρωτιέται κανείς αν έχουν καμία αξία οι έστω και περιορισμένου πεδίου επεμβάσεις στο μαστό για την αφαίρεση τέτοιων βλαβών.

Αντίθετα με το LCIS, το πορογενές καρκίνωμα in situ (DCIS) θεωρείται προδιηθητικό στάδιο του πορογενούς διηθητικού καρκίνου και η ύπαρξη του συνδέεται με αυξημένο σχετικό κίνδυνο 17.3% και με ετήσια επίπτωση της τάξεως του 1.9%.²⁵

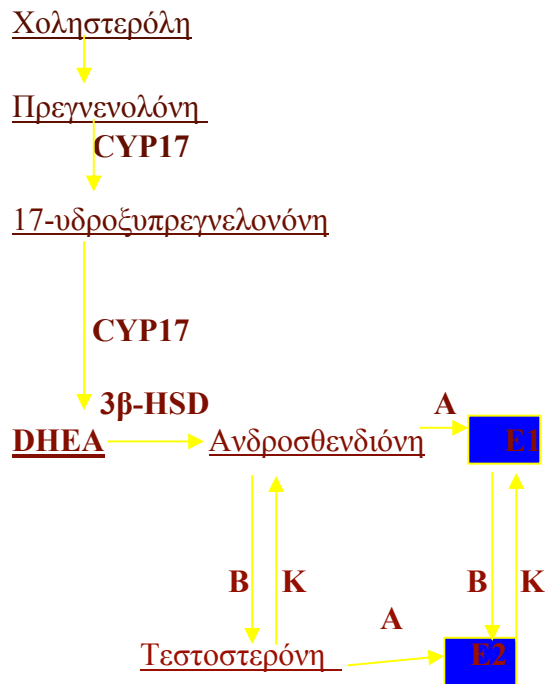
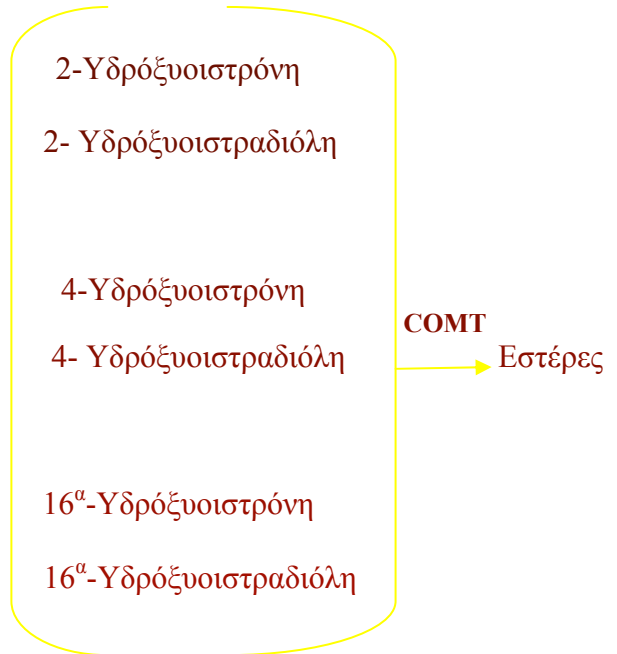
Προηγηθείς καρκίνος στο μαστό

Οι ασθενείς με καρκίνο του μαστού έχουν πιο μεγάλη πιθανότητα από ότι ο γενικός πληθυσμός να αποκτήσουν και ένα δεύτερο καρκίνο στο μαστό. Ο Hankey και συν βρήκε ετήσια συχνότητα 0,7% για δεύτερο καρκίνο σε 27175 ασθενείς ενώ ο Rosen και συν βρήκε παρόμοια επίπτωση (0.8%) η οποία είναι σαφώς μεγαλύτερη από αυτή του γενικού πληθυσμού (0.11%). Ο σχετικός κίνδυνος ανάπτυξης δεύτερου καρκίνου ήταν ευθέως ανάλογος με το στάδιο και αντιστρόφως ανάλογος με την ηλικία διάγνωσης του πρώτου όγκου.⁷³

ΕΙΚΟΝΕΣ

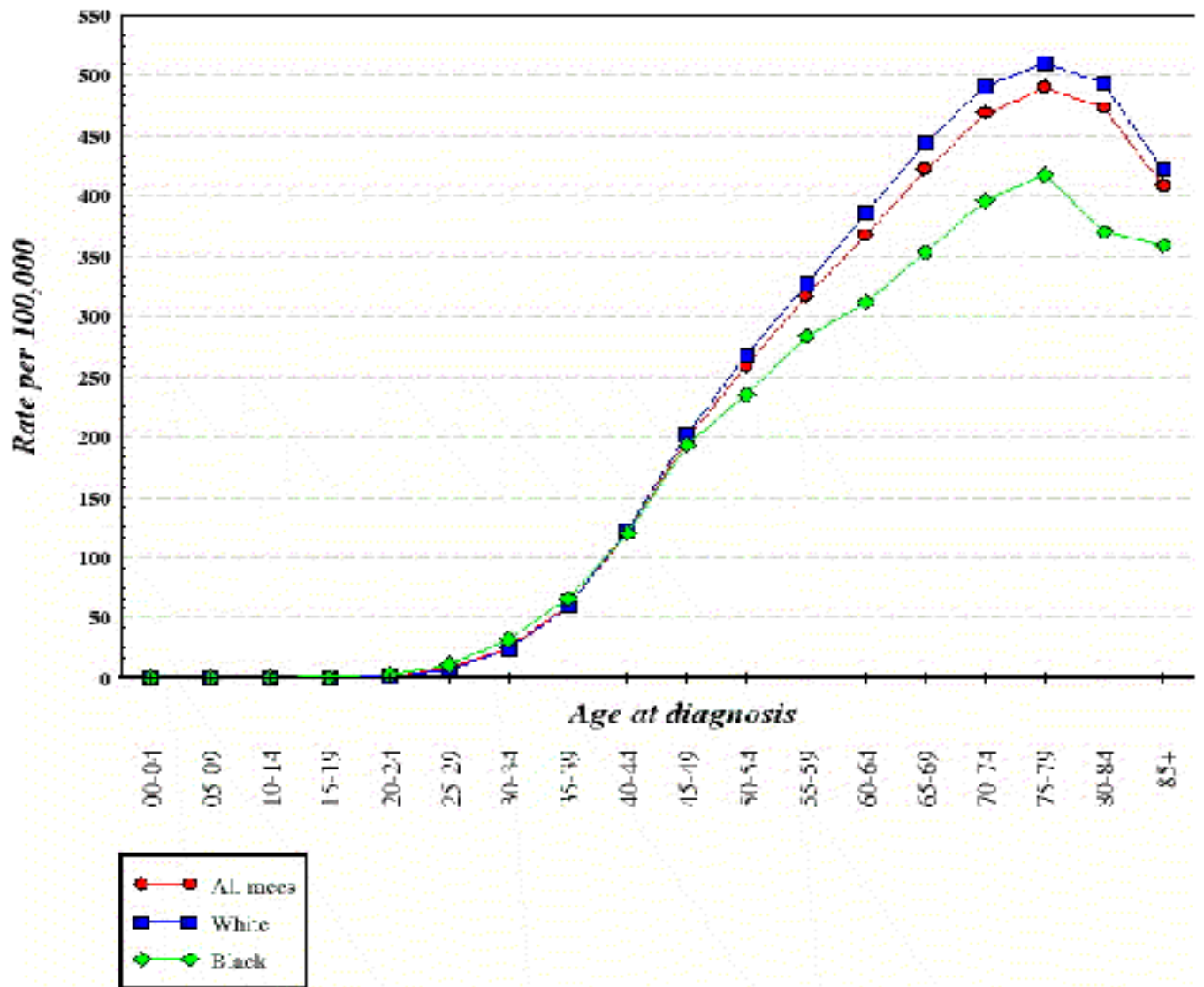


Εικόνα 1. Η συχνότητα του καρκίνου του μαστού στις ΗΠΑ από το 1973 ως το 2000, (Surveillance, Epidemiology and End Results, SEER statistics.)

ΣΥΝΘΕΣΗ**ΚΑΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ**

Εικόνα 2. Σύνθεση και καταβολισμός των οιστρογόνων.

E1, οιστρόνη, **E2**, οιστραδιόλη, **DHEA**, Δευδροεπιανδροστερόνη, **CYP17**, 17β-υδροξυλάση, **3β-HSD**, 3β-υδροξυδευδρογενάση, **A**, Αρωματάση, **B**, 17β-HSD, 17β-υδροξυδευδρογενάση, **K**, 17β-KSR, 17βκετορεδουκτάση, **COMT**, κατεχολ-Ο-μεθυλοτρανσφεράση.



Εικόνα 3. Συχνότητα εμφάνισης του καρκίνου του μαστού ανά ηλικία στις ΗΠΑ (Surveillance, Epidemiology and End Results, SEER statistics.)

ΠΙΝΑΚΕΣ

Πίνακας 1. Συχνότητα και θάνατοι (σε χιλιάδες) στην Ευρώπη από τα κυριότερα νεοπλασμάτα και στα 2 φύλα, το 1995.

<i>Καρκίνος</i>	<i>Νέα περιστατικά</i>	<i>Θάνατοι</i>
Πνεύμονα	377000	330000
Ορθοκολικός	334000	189000
Μαστού	321000	124000

Πίνακας 2. Χαρακτηριστικά των νεοπλασιών που οφείλονται σε μεταλλαγμένα γονίδια BRCA 1 και 2.

Γονίδιο (χρωμόσωμα)	Νεοπλασίες εκτός μαστού	Συχνότητα	Διαπερατότητα (ως 70 ετών)
BRCA-1(17q)	Ωοθηκών παχέος εντέρου, προστάτη	1/833* 1/107 Α.Ε [§]	Καρκίνος μαστού 60-80% Καρκίνος ωοθηκών 44%
BRCA-2 (13q)	Ανδρικός μαστός Ωοθηκών προστάτη παγκρέατος	(;)* 1/100 Α.Ε	Καρκίνος μαστού(γυναίκα) 80% Καρκίνος μαστού (άνδρας) 6% Καρκίνος ωοθηκών ?

* γενικός πληθυσμός § Ασkenάζι Εβραίοι

Πίνακας 3. Ποσοστό γυναικών με καρκίνος μαστού (ΚΜ) κάτω των 40 ετών σε σχέση με τη ύπαρξη μετάλλαξης στα γονίδια BRCA 1, 2 και με το οικογενειακό τους ιστορικό, (Australian Breast Cancer Family Study).

Αριθμός συγγενών 1 ^{ου} και 2 ^{ου} βαθμού με ΚΜ	Ποσοστό επί του συνόλου των περιστατικών (%)	Πιθανότητα να φέρει μετάλλαξη στο BRCA 1,2	Ποσοστό επί των φορέων της μετάλλαξης (%)
0	70	1 στις 20	60
1	28	1 στις 16	35
2	2	1 στις 8	5
>2	<1	1 στις 2	<1

Πίνακας 4. Παράγοντες κινδύνου από το οικογενειακό ιστορικό για τη πιθανότητα φορείας μετάλλαξης στα γονίδια BRCA 1 και 2.

Παράγοντες αυξημένου κινδύνου
1 Γνωστή μετάλλαξη στα BRCA1 ή BRCA2 στην οικογένεια
2 Μέλος της οικογένειας με καρκίνο του μαστού και των ωοθηκών
3 Δύο ή περισσότερα μέλη της οικογένειας με καρκίνο στο μαστό σε ηλικία <50 ετών.
4 Καρκίνος στο μαστό σε <i>άρρεν</i> μέλος.
5 Ένα ή περισσότερα μέλη με καρκίνο στο μαστό σε ηλικία <50 ετών και συγγένεια με Ασκενάζι Εβραίους.
6 Καρκίνος των ωοθηκών και συγγένεια με Ασκενάζι Εβραίους.

Πίνακας 5.

Μείζονες παράγοντες κινδύνου για τον καρκίνο του μαστού.

Παράγοντες κινδύνου
Φύλο (♀)
Ηλικία
Πρώιμη ηλικία εμμηναρχής
Ατεκνία- τοκιμότητα
Θηλασμός (καθόλου)
Ηλικία πρώτου τοκετού (προχωρημένη)
Ηλικία εμμηνόπαυσης(προχωρημένη)
Αντισυλληπτικά (σύγχρονη χρήση)
Θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης (Θ.Ο.Υ)
Παχυσαρκία (μετεμμηνοπαυσιακή)
Κατανάλωση ζωικού λίπους
Ελάχιστη Άσκηση
Καλοήθεις παθήσεις του μαστού (κυρίως ατυπική υπερπλασία)
Καρκίνωμα <i>in situ</i> (Λοβιακό-πορογενές)
Ακτινοβολία στο θώρακα
Οικογενειακό ιστορικό

Πίνακας 6. Μελέτες συσχέτισης της παχυσαρκίας με το κίνδυνο για το καρκίνο του μαστού.

Συγγραφέας	Ετος	Τύπος μελέτης	Πληθυσμός μελέτης		Μεταβλητές-κίνδυνος		Σχετικός κίνδυνος (relative risk)
			EP* / ηλικία	Περιπτώσεις/μάρτυρες	χαμηλός	υψηλός	
Hulka et al	1997	review	M*		$\Delta\text{ΜΣ}^{\text{¶}} < 22,9$	$\Delta\text{ΜΣ} > 30,7$	1,60
Tretli et al	1989	cohort	P* / M/ 30-69	570.000	$\Delta\text{ΜΣ}$ χαμηλός και >55 ετών	$\Delta\text{ΜΣ}$ υψηλός και >55 ετών	1.20
Lahman et al	2003	cohort	M /60	12.159	μικρή πρόσληψη βάρους	μεγάλη πρόσληψη βάρους >21 kg	1,75
Petrelli et al	2002	cohort	M	424.148	$\Delta\text{ΜΣ} < 20$ ΥΨΟΣ <60 inc	$\Delta\text{ΜΣ} > 40$ ΥΨΟΣ >66 inc	3,08 1,64
Shu et al		Case-control	Π, M	3,015 chinese	Π=WHR ♦ χαμηλό M= μικρή πρόσληψη βάρους $\Delta\text{ΜΣ}$ χαμηλός ΥΨΟΣ χαμηλό	Π= WHR υψηλό M=μεγάλη πρόσληψη βάρους $\Delta\text{ΜΣ}$ υψηλός ΥΨΟΣ υψηλό	1.7 2.0 2.0 1.7
WHI I	2002	cohort	M / 50-79	85.917	$\Delta\text{ΜΣ} < 22,6$, γυναίκες χωρίς ΘΟΥ&	$\Delta\text{ΜΣ} > 31,1$, γυναίκες χωρίς ΘΟΥ	2,52

*EP =Εμμηνορυσιακή κατάσταση, Π=προεμμηνοπαυσιακές , M= μετεμμηνοπαυσιακές

¶ $\Delta\text{ΜΣ}$ =Δείκτης Μάζας Σώματος.

♦ WHR = Waist to Hip Ratio

& ΘΟΥ= Θεραπεία Ορμονικής Υποκατάστασης.

Πίνακας 7. Επιδημιολογικές μελέτες συσχέτισης της κατανάλωσης αλκοόλ και του κινδύνου για καρκίνο στο μαστό.

Συγγραφέας	Έτος Διεξα- γωγής	Τύπος μελέτης	Πληθυσμός μελέτης		Ομάδες -κίνδυνος		Σχετικός κίνδυνος (relative risk)
			EP* / ηλικία	Περιπτώσεις/ μάρτυρες	χαμηλός	υψηλός	
Ellison et al	1966- 1999	Meta-analysis			Δεν πίνει	>2 ποτά/ημέρα	1.2
Royo- Bordonada	1997	Case-control πολυκεντρική	M*	315/364	Δεν πίνουν	Πρώην πότριες >20γρ /ημέρα	1.73 1.18

*EP =Εμμηνορυσιακή κατάσταση, M= μετεμμηνοπαυσιακές

Πίνακας 8. Επιδημιολογικές μελέτες συσχέτισης της Θεραπείας Ορμονικής Υποκατάστασης και του κινδύνου για καρκίνο στο μαστό

Συγγραφέας	Έτος Διεξα- γωγής	Τύπος μελέτης	Πληθυσμός μελέτης		Μεταβλητές-κίνδυνος		Σχετικός κίνδυνος (relative risk)
			EP* / ηλικία	Περιπτώ- σεις/ μάρτυρες	χαμηλός	υψηλός	
Nelson H et al	2002	μετανάλυση	M*		ποτέ	Σύγχρονη χρήση για>5 έτη	1.3
Newcomb PA et al	1989- 1991	Case-control πολυκεντρική	M	3130/ 3698	ποτέ	Στο παρελθόν για >15 έτη	1.05 1.11
Million Women Study	1996- 2001	cohort	M	29364 / 1084110 (σύνολο)	ποτέ	-Σύγχρονη χρήση -Στο παρελθόν -Μόνο οιστρογόνα -Οιστρογόνο +προγεστερι- νοειδές -τιβολόνη -από του στόματος -διαδερμικά εμφυτευμένα	1.66 1.01 1.30 2.00 1.45 1.32 1.24 1.35

*EP =Εμμηνορυσιακή κατάσταση, M= μετεμμηνοπαυσιακές

Πίνακας 9. Επιδημιολογικές μελέτες συσχέτισης της χρήσης Αντισυλληπτικών και του κινδύνου για καρκίνο στο μαστό.

Συγγραφέας	Τύπος μελέτης	Πληθυσμός μελέτης		Μεταβλητές-κίνδυνος		Σχετικός κίνδυνος (relative risk)
		EP* / ηλικία	Περιπτώσεις/ μάρτυρες	χαμηλός	υψηλός	
Ursin G et al	Case-control	Π* <40 ετών	744	ποτέ	σύγχρονη ή στο παρελθόν	1.4-2.5
Althuis et al	Case-control	Π* 20-44 ετών	1640/1492	Ποτέ	>35 μg οιστραδιόλης	1.99
				Ποτέ + >35ετών	>35 μg οιστραδιόλης + >35 ετών	3.62

*EP =Εμμηνορυσιακή κατάσταση, Π=προεμμηνοπαυσιακές

Πίνακας 10. Επιδημιολογικές μελέτες συσχέτισης του Καπνίσματος και του κινδύνου για καρκίνο στο μαστό.

Συγγραφέας	Έτος Διεξαγωγής	Τύπος μελέτης	Πληθυσμός μελέτης		Μεταβλητές-κίνδυνος		Σχετικός κίνδυνος (relative risk)
			EP* / ηλικία	Περιπτώσεις/ μάρτυρες	χαμηλός	Υψηλός	
Gammon MD, et al	1998	Case-control	Π,Μ* <55		Νυν καπνίστριες	ποτέ	0.82
					<15 ετών έναρξη	ποτέ	0.41
Manjer J, et al	2000	Cohort	Π,Μ	416/10902	ποτέ	Τέως καπνίστριες	1.31
						Π*+Τέως καπνίστριες	1.57

*EP =Εμμηνορυσιακή κατάσταση, Π=προεμμηνοπαυσιακές, Μ= μετεμμηνοπαυσιακές

Πίνακας 11. Επιδημιολογικές μελέτες συσχέτισης της Άσκησης και του κινδύνου για καρκίνο στο μαστό.

Συγγραφέας	Έτος Διεξαγωγής	Τύπος μελέτης	Πληθυσμός μελέτης		Μεταβλητές-κίνδυνος		Σχετικός κίνδυνος (relative risk)
			EP* / ηλικία	Περιπτώσεις/ μάρτυρες	χαμηλός	υψηλός	
Gammon MD	1990-1992	Case- control	<45	1668 / 1555	Άσκηση (12 ετών, 20 ετών και κατά το τελευταίο έτος)	Χωρίς άσκηση	0,94- 1,18
Rockhill	1980 NHS	Αναδρομική	Π, M* 30- 55	3137	Άσκηση το τελευταίο έτος >7 ώρες /εβδομάδα	<1 ώρα / εβδομάδα άσκηση	0,82 (0.70- 0.92)

*EP =Εμμηνορυσιακή κατάσταση, Π=προεμμηνοπαυσιακές , M= μετεμμηνοπαυσιακές

Πίνακας 12.Επιδημιολογικές μελέτες συσχέτισης της Ηλικίας Εμμηναρχής και του κινδύνου για καρκίνο στο μαστό.

Συγγραφέας	έτος διεξα- γωγής	τύπος μελέτης	πληθυσμός μελέτης		μεταβλητές- κίνδυνος		Σχετικός κίνδυνος (relative risk)
			EP* / ηλικία	περιπτώσεις/ μάρτυρες	χαμηλός	υψηλός	
Brinton L et al	1988	Case- control	Π,M*	2908/ 3180	>15 ετών	<12 ετών	1,3
Hulka et al	1997	review	M		>14 ετών	<12 ετών	1,5
Rockhill et al	1998	Case- control	20-74	830/ 758	>14 ετών	<11 ετών	1,4

*EP =Εμμηνορυσιακή κατάσταση, Π=προεμμηνοπαυσιακές , M= μετεμμηνοπαυσιακές

Πίνακας 13. Επιδημιολογικές μελέτες συσχέτισης της Ηλικίας Εμμηνόπαυσης και του κινδύνου για καρκίνο στο μαστό.

Συγγραφέας	Ετος	Τύπος Διεξα- γωγής μελέτης	Πληθυσμός μελέτης		Μεταβλητές- κίνδυνος		Σχετικός κίνδυνος (relative risk)
			EP */ ηλικία	Περιπτώσεις/ Μάρτυρες	χαμηλός	υψηλός	
Brinton L	1988	Case- control		2908/3180	<45 ετών	>55 ετών	1,5
Hulka et al	1997	review			<45 ετών	>55 ετών	2.0

*EP =Εμμηνορρυσιακή κατάσταση, Π=προεμμηνοπαυσιακές , M= μετεμμηνοπαυσιακές

Πίνακας 14. Επιδημιολογικές μελέτες συσχέτισης της Ηλικίας 1^{ης} Κύησης και της Τοκιμότητας και του κινδύνου για καρκίνο στο μαστό.

Συγγραφέας	Ετος	Τύπος Διεξα- γωγής μελέτης	Πληθυσμός μελέτης		Μεταβλητές- κίνδυνος		Σχετικός κίνδυνος (relative risk)
			EP* / ηλικία	Περιπτώσεις/ μάρτυρες	χαμηλός	υψηλός	
Brinton L,	1983	Case control		1362/ 1250	<18 ετών	>30 ετών	4.0
Ewertz et al	1990	metanalysis	Π,M	5568	<20 ετών	>35 ετών	1,4
Hulka et al	1997	review			<20 ετών	>30 ετών	2,7
<i>τοκιμότητα</i>							
Hulka et al	1997	review			>5 παιδιά	άτεκνες	1,4
Ewertz et al	1990	Metanalysis	Π,M	5568	Με παιδιά	άτεκνες	1,3

*EP =Εμμηνορρυσιακή κατάσταση, Π=προεμμηνοπαυσιακές , M= μετεμμηνοπαυσιακές

Πίνακας 15. Επιδημιολογικές μελέτες συσχέτισης των Αποβολών και των Εκτρώσεων και του κινδύνου για καρκίνο στο μαστό.

Συγγραφέας	Έτος	Τύπος μελέτης	Πληθυσμός μελέτης		Μεταβλητές-ομάδα κινδύνου		Σχετικός κίνδυνος (relative risk)
			EP / ηλικία	Περιπτώσεις/Μάρ-τυρες	χαμηλός	υψηλός	
Brinton L, et al	1983	Case control	Π,Μ*	1362-1250	καμία	1	ΜΣΣ ^{&}
					1	πολλές	2.2
Wingo et al	1997	review	Π, Μ		1	πολλές	ΜΣΣ

*EP = Εμμηνορυσιακή κατάσταση, Π= προεμμηνοπαυσιακές , Μ= μετεμμηνοπαυσιακές & ΜΣΣ= Μη στατιστικά σημαντικός.

Πίνακας 16. Επιδημιολογικές μελέτες συσχέτισης του Θηλασμού και του κινδύνου για καρκίνο στο μαστό.

Συγγραφέας	Έτος	Τύπος μελέτης	Πληθυσμός μελέτης		Μεταβλητές-κίνδυνος		Σχετικός κίνδυνος (relative risk)
			EP* / ηλικία	Περιπτώσεις/ μάρτυρες	χαμηλός	υψηλός	
Enger SM.	1998	Case-control	M*	974/973	>16 μήνες	καθόλου	1,37
			55-64				
Newcomb PA.	1994	Case-control	Π*, Μ	5878/8216	Π ναι	Π καθόλου	1,12
			<74 ετών		Μ ναι	Μ καθόλου	1,04

*EP =Εμμηνορυσιακή κατάσταση, Π=προεμμηνοπαυσιακές , Μ= μετεμμηνοπαυσιακές

Πίνακας 17. Επιδημιολογικές μελέτες συσχέτισης του Οικογενειακού ιστορικού και του κινδύνου για καρκίνο στο μαστό.

Συγγραφέας	Έτος Διεξαγωγής	Τύπος μελέτης	Πληθυσμός μελέτης		Μεταβλητές-κίνδυνος		Σχετικός κίνδυνος (relative risk)
			EP* / ηλικία	Περιπτώσεις/ μάρτυρες	Χαμηλός	υψηλός	
Madigan et al	1995	cohort	Π,Μ*	193/ 7508	Χωρίς ιστορικό	Θετικό ιστορικό	2.6
Pharoah et al	1966-1996	Syst.review- Metanalysis	Π,Μ		Χωρίς ιστορικό	-1 συγγενής 1 ^{ου} βαθμού >50 ετών	1.8
						-1 συγγενής 1 ^{ου} βαθμού <50 ετών	3.3
						-1 συγγενής 2 ^{ου} βαθμού	1.5
						- 2 συγγενείς 1 ^{ου} βαθμού	3.6

*EP =Εμμηνορυσιακή κατάσταση, Π=προεμμηνοπαυσιακές , Μ= μετεμμηνοπαυσιακές

Πίνακας 18. Επιδημιολογικές μελέτες συσχέτισης της κατανάλωσης Λίπους και του κινδύνου για καρκίνο στο μαστό.

Συγγραφέας	Έτος	Τύπος μελέτης	Πληθυσμός μελέτης		Μεταβλητές-κίνδυνος		Σχετικός κίνδυνος (relative risk)
			EP* / ηλικία	Περιπτώσεις/ μάρτυρες	χαμηλός	υψηλός	
Howe GR	1990	Μετανάλυση 12 μελετών case control	Π,Μ*		χαμηλή	υψηλή κατανάλωση κεκορεσμένου λίπους	1.46
Holmes MD	1976-86	Cohort	Π, M	2956/88795	30-35% της ενέργειας από κεκορεσμένο λίπος	< 20%	1,15

*EP =Εμμηνορυσιακή κατάσταση, Π=προεμμηνοπαυσιακές , M= μετεμμηνοπαυσιακές

Πίνακας 19. Επιδημιολογικές μελέτες συσχέτισης της παρουσίας υπερπλασίας με ή χωρίς ατυπία και του κινδύνου για καρκίνο στο μαστό.

Συγγραφέας	Έτος	Τύπος μελέτης	Πληθυσμός μελέτης		Μεταβλητές-κίνδυνος		Σχετικός κίνδυνος (relative risk)
			EP* / ηλικία	Περιπτώσεις/ μάρτυρες	χαμηλός	υψηλός	
Dupont WD	1993	Case control-review	Π, M*	95/190	Χωρίς υπερπλασία	Υπερπλασία με ατυπία Υπερπλασία χωρίς ατυπία	4,3 1,3
Wrensch MR	2001	cohort	Π,Μ	400/6900	Χωρίς υπερπλασία	Υπερπλασία με ατυπία- Υπερπλασία χωρίς ατυπία	2,0-2,8

*EP =Εμμηνορυσιακή κατάσταση, Π=προεμμηνοπαυσιακές , M= μετεμμηνοπαυσιακές

4.ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΚΑΙ ΠΡΟΒΛΕΠΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Η πρόγνωση στο καρκίνο του μαστού εξαρτάται κατά κύριο λόγο από την διασπορά της νόσου τη στιγμή της διάγνωσης και από την επιθετικότητα του όγκου η οποία προσδιορίζεται από την έκφραση πολλών και εν πολλοίς γενετικά καθορισμένων χαρακτηριστικών του κακοήθους κυττάρου ⁷⁴. Τούτα περιλαμβάνουν μοριακούς βιολογικούς παράγοντες, οι οποίοι συχνά έχουν εκτός από προγνωστική και προβλεπτική αξία. Η διάκριση μεταξύ των δύο είναι συχνά δυσχερής. Προγνωστικοί (prognostic) παράγοντες θεωρούνται αυτοί οι οποίοι μπορούν να προβλέψουν την τελική έκβαση της νόσου με τους όρους του διαστήματος χωρίς νόσο και της επιβίωσης ανεξάρτητα από τη όποια θεραπεία που θα εφαρμοστεί. Χαρακτηρίζονται είτε ως βιολογικοί ή ως χρονολογικοί προγνωστικοί δείκτες γιατί μας παρέχουν ενδείξεις για την ικανότητα και τη ταχύτητα του όγκου να αναπτύσσεται, να διηθεί και να δίνει μεταστάσεις ^{75,76}. (πίνακας 20).

Κριτήρια που έχουν προταθεί για να αποκτήσει κλινική σημασία σαν προγνωστικός δείκτης ένας παράγοντας είναι τα εξής ⁷⁷:

- i. να υπάρχει βιολογική συσχέτιση (μηχανισμός),
- ii. να είναι αναπαραγώγιμος σε διαφορετικά εργαστήρια,
- iii. να έχει πιστοποιηθεί σε μεγάλες προοπτικές μελέτες,
- iv. να έχει πιστοποιηθεί από άλλους ανεξάρτητους ερευνητές,
- v. να υπάρχουν ξεκάθαρα αξιόπιστα όρια.

Από την άλλη μεριά ως προβλεπτικοί (*predictive*) θεωρούνται εκείνοι οι δείκτες η παρουσία των οποίων εμπλέκεται στο αν ο συγκεκριμένος όγκος θα εμφανίσει ευαισθησία ή αντίσταση σε μία συγκεκριμένη θεραπεία ή ουσία ^{75,76}.

Από τα παραπάνω γίνεται φανερό πόσο σημαντικό είναι για τον σχεδιασμό της θεραπευτικής στρατηγικής (therapeutic decision –making) στο κάθε ασθενή ξεχωριστά να γνωρίζουμε όλους τους παράγοντες που έχουν προγνωστική και προβλεπτική αξία για αυτό τον

ασθενή. Μέχρι τώρα τη σπουδαιότερη πληροφορία την παίρνουμε από την ιστολογική εξέταση του όγκου.

Οι βασικές παράμετροι από την ιστολογική εξέταση που δίνουν την απαραίτητη και πιο αξιόπιστη πληροφορία για την πρόγνωση και το σχεδιασμό της θεραπείας του ασθενή είναι οι παρακάτω:

1. η μέγιστη διάμετρος, ο βαθμός κακοήθειας και ιστολογικός τύπος του διηθητικού καρκίνου.
2. η ελάχιστη απόσταση του καρκίνου από τα εγχειρητικά όρια
3. η παρουσία ή όχι εμβόλων στα λεμφαγγεία ή τα αιμοφόρα αγγεία
4. το μέγεθος και ο βαθμός κακοήθειας του καρκίνου *in situ*
5. ο αριθμός των διηθημένων και των εξετασθέντων λεμφαδένων από τον παθολογοανατόμο
6. η παρουσία ή όχι οιστρογονικών υποδοχέων
7. η παρουσία ή όχι υπερέκφρασης του ογκογονιδίου HER-2/*neu*.

ΜΕΓΕΘΟΣ ΟΓΚΟΥ

Το μέγεθος του όγκου (όπως μετριέται στο παθολογοανατομικό εργαστήριο) έχει φανεί σε πολλές μελέτες ότι έχει χρονοεξαρτώμενη προγνωστική αξία αφού οι ασθενείς με μικρότερους όγκους έχουν μεγαλύτερη επιβίωση από ότι αυτοί με μεγαλύτερους όγκους^{78,79,80,81}. Η προγνωστική του αξία είναι και φαίνεται πως η επιβίωση είναι μεγάλη σε όγκους μικρότερους από 15 mm κάτι που δίνει μεγάλη αξία στο μαζικό πληθυσμιακό έλεγχο (screening control) με τη μαστογραφία αφού τέτοιοι όγκοι μπορούν να γίνουν αντιληπτοί από έμπειρους ακτινολόγους^{79,82}. Στην υποομάδα των ασθενών με αρνητικούς λεμφαδένες το μέγεθος και ο βαθμός κακοήθειας του όγκου φαίνεται ότι έχουν την μεγαλύτερη προγνωστική αξία και κλινική χρησιμότητα⁸³.

ΒΑΘΜΟΣ ΚΑΚΟΗΘΕΙΑΣ

Τα κριτήρια που υιοθετήθηκαν από τους Bloom και Richardson⁸⁴ χρησιμοποιούνται διεθνώς για να χαρακτηρίσουν την επιθετικότητα του όγκου με βάση κύρια μορφολογικά χαρακτηριστικά του καρκινικού κυττάρου. Αργότερα αναπτύχθηκαν και άλλες μέθοδες όπως η μέθοδος Nottingham που χρησιμοποιεί τρεις ιστολογικές παραμέτρους: τον πλειομορφισμό

του πυρήνα, το βαθμό διαφοροποίησης σε αδενικό ιστό των καρκινικών κυττάρων και ο αριθμός των μιτώσεων στο πυρήνα. Όλα αυτά τα μοντέλα έχουν αποδείξει την προγνωστική τους αξία με τους όγκους χαμηλού βαθμού κακοήθειας να εμφανίζουν υψηλά ποσοστά επιβίωσης σε σχέση με τους υψηλής κακοήθειας^{85,86}.

ΑΓΓΕΙΑΚΑ ΕΜΒΟΛΑ

Η παρουσία μεταστατικών κυττάρων (έμβολα) στα αγγεία του μαστικού αδένου θεωρείται σπουδαίος προγνωστικός παράγοντας ο οποίος σχετίζεται σε πού μεγάλο βαθμό με τις λεμφαδενικές μεταστάσεις^{87,88}. Η υποκειμενικότητα από την παθολογοανατομική παρατήρηση φαίνεται να παίζει μικρότερο ρόλο εδώ και να μην επηρεάζει την αναπαραγωγικότητα των αποτελεσμάτων⁸⁸. Ακόμα και σε καταστάσεις όπου δεν ανευρίσκονται διηθημένοι λεμφαδένες, η παρουσία καρκινικών εμβόλων στα αιμοφόρα αγγεία και στα λεμφαγγεία σχετίζεται με πρόωρη τοπική υποτροπή της νόσου⁸⁷. Δεν είναι ακόμα ξεκάθαρο αν ο προγνωστικός ρόλος τους είναι εξίσου σημαντικός σε ότι αφορά την συνολική επιβίωση⁷⁴.

ΛΕΜΦΑΔΕΝΕΣ

Η μέχρι τώρα έρευνα αλλά και η κλινική εμπειρία έχει κατά δείξει ότι τη μεγαλύτερη αξία ως προγνωστικός παράγοντας στο καρκίνο του μαστού την έχει η παρουσία η μη διηθημένων λεμφαδένων. είναι ένας χρονοεξαρτώμενος προγνωστικός δείκτης αφού όσο πιο αργά στην εξέλιξη του εντοπιστεί ο όγκος το πιο πιθανό είναι να υπάρχει μετάσταση στους επιχώριους λεμφαδένες⁸⁹. Παρά τη μεγάλη του αξία στη πρόγνωση της νόσου δεν είναι δυνατό από μόνος του να προσδιορίσει με 100% ακρίβεια ποιοι ασθενείς θα καταλήξουν η θα θεραπευτούν πλήρως⁷⁸.

ΑΛΛΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ

Άλλοι δείκτες με πτωχότερη προγνωστική αξία έχουν να κάνουν με την μορφολογία του ιστολογικού τύπου (π.χ σωληνώδες, βλεννώδες, λοβιακό, μυελογενές, κλπ) και με άλλα χαρακτηριστικά του όγκου όπως η παρουσία νεκρώσεων ινώσεων και ελαστώσεων, κλπ⁷⁴.

ΟΡΜΟΝΙΚΟΙ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ

Οι υποδοχείς των οιστρογόνων και της προγεστερόνης είναι στεροειδικοί υποδοχείς που εδράζονται στο πυρήνα του κυττάρου. Οι ορμόνες αυτές πιστεύεται ότι μεταφέρονται μέσω των υποδοχέων στο πυρήνα και σχηματίζουν σύμπλοκα τα οποία επηρεάζουν τη λειτουργία ογκογονιδίων και ογκοκατασταλτικών γονιδίων που ελέγχουν το κυτταρικό πολλαπλασιασμό.

Η παρουσία υποδοχέων των οιστρογόνων και της προγεστερόνης θεωρείται γενικά ως ένα ευνοϊκό γεγονός για τη πρόγνωση της εξέλιξης της νόσου αλλά δεν υπάρχουν ξεκάθαρες αποδείξεις για αυτό στη διεθνή βιβλιογραφία. Ακόμα και στις μελέτες όπου φαίνεται η δυσμενής προγνωστική σημασία της απουσίας των οιστρογονικών υποδοχέων αυτή εξαφανίζεται συνήθως στη πολυπαραγοντική ανάλυση λόγω της επίδρασης των υπολοίπων παραγόντων⁸³. Παρόμοια, οι υποδοχείς οιστρογόνων δεν είναι ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας λόγω της στενής σχέσης που έχουν κυρίως με το βαθμό κακοήθειας του όγκου^{78,83}. Τα αντικρουόμενα αυτά αποτελέσματα των διαφόρων μελετών έχουν να κάνουν με αρκετές παραμέτρους του σχεδιασμού τους. Κυριότερες από αυτές είναι η ποικιλία των μεθόδων προσδιορισμού των υποδοχέων που διαφέρουν από μελέτη σε μελέτη, τα σημεία διαχωρισμού των θετικών από τα αρνητικά αλλά ακόμα και το διάστημα της παρακολούθησης των ασθενών. Ειδικά για το τελευταίο είναι γνωστή ότι η διαφορά στη επιβίωση και στο διάστημα χωρίς υποτροπή μεταξύ των ασθενών με θετικούς και αρνητικούς υποδοχείς είναι πολύ μεγαλύτερη την πρώτη 5ετία⁹⁰. Αυτό κάνει τους υποδοχείς να είναι ένας χρονοεξαρτώμενος προγνωστικός δείκτης⁹¹.

Από την άλλη μεριά όμως φαίνεται ότι είναι αρκετά καλός προβλεπτικός παράγοντας της ορμονοθεραπείας του καρκίνου του μαστού με ταμοξιφαίνη αλλά και με νεότερα φάρμακα⁷⁴. Περίπου το 50% των ασθενών με θετικούς οιστρογονικούς υποδοχείς, το 60-70% με θετικούς και τους δύο υποδοχείς και το 40% με θετικούς οιστρογονικούς και αρνητικούς προγεστερονικούς υποδοχείς ανταποκρίνεται στην ορμονοθεραπεία⁹².

ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ

Επειδή κανείς από τους παραπάνω δείκτες δεν έχει τη μέγιστη προγνωστική ή/και προβλεπτική ικανότητα για κάθε ασθενή ξεχωριστά, ίσως ο συνδυασμός αυτών να έδινε καλύτερα αποτελέσματα. Το πιο γνωστό τέτοιο μοντέλο είναι ο δείκτης Nottingham (NPI). Ο δείκτης NPI (Nottingham Prognostic Index) υπολογίζεται ως εξής:

$$NPI = \text{μέγεθος όγκου}(cm) \times 0,2 + \text{στάδιο λεμφαδένων}(1,2,3) + \text{βαθμός κακοήθειας}(1,2,3)^{78}.$$

Κατατάσσει τους όγκους σε 3 κατηγορίες: κακής, ενδιάμεσης και καλής προγνώσεως (cut off points: 3,4 και 5,4) και αποτελεί ουσιαστικά την πρώτη απόπειρα εξατομίκευσης της πρόγνωσης κάθε ασθενή που έχει καρκίνο στο μαστό. Όμως παρά τα καλά αποτελέσματα του ακόμα και σε πολυκεντρικές μελέτες με μεγάλο αριθμό ασθενών η αποτυχία του σε αρκετούς ασθενείς οδήγησε σε αναζήτηση άλλων μοντέλων αφού είναι φανερό ότι κάτι λείπει από το παζλ.

Τα τελευταία χρόνια η έρευνα έχει επικεντρωθεί στην ανακάλυψη νέων γενετικών, μοριακών και άλλων προγνωστικών παραγόντων καθώς και στη συσχέτισή τους με επιδημιολογικές, κλινικές και απεικονιστικές παραμέτρους της νόσου. Οι παράγοντες αυτοί έχουν να κάνουν με τη διαφοροποίηση του όγκου, τη διεισδυτικότητα (π.χ καθεψίνη D), την επιθετικότητα (π.χ EGF-R, HER-2/*neu*, p53), την υπερπλασία (π.χ S-phase fraction, Ki67 staining) κλπ⁹³⁻¹⁰⁰. Όμως, κανείς προγνωστικός παράγοντας ούτε από τους συνήθεις, ούτε από τους νεότερους, ούτε συνδυασμοί τους μπόρεσαν σε κάποια μελέτη μέχρι τώρα να προσδιορίσουν με ακρίβεια κάποια ομάδα ασθενών με χαμηλό ή υψηλό κίνδυνο για υποτροπή. Αυτή τη στιγμή ο παράγοντας με τον πιο αναγνωρισμένο ρόλο στη πρόγνωση και τη εκλογή της καταλληλότερης θεραπείας είναι το ογκογονίδιο **HER-2/*neu***.

ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ

Μεταγωγή σημάτων

Η μεταγωγή σημάτων (**signal transduction**) είναι ο τρόπος με τον οποίο ένα κύτταρο επικοινωνεί με ένα άλλο. Η "συνομιλία" μεταξύ δύο κυττάρων περιλαμβάνει έναν μοριακό αγγελιοφόρο (ligand) από τον αποστολέα και μια περιοχή-υποδοχέα (receptor) πάνω στην

μεμβράνη του κυττάρου στην οποία συνδέεται ο αγγελιοφόρος. Όταν το σήμα παραλαμβάνεται, το μήνυμα μεταφέρεται από την εξωτερική επιφάνεια του κυττάρου στον πυρήνα του κυττάρου. Τα μηνύματα μπορούν να είναι υγιή ή επιβλαβή για τον οργανισμό. Παραδείγματος χάριν, μερικά μηνύματα μπορεί να «λένε» στο κύτταρο να αυξηθεί (πράγμα που μπορεί να οδηγήσει στον καρκίνο) ή να αρχίσει η διαδικασία απόπτωσης.

Μερικές από τις πιο κοινές οδούς μεταγωγής των σημάτων περιλαμβάνουν τους πρωτεϊνικούς υποδοχείς κινασών της τυροσίνης (tyrosine kinases), οι οποίες αποτελούνται από τρία βασικά μέρη:

1. Ένας εξωκυττάριος (*extracellular ligand-binding domain*) υποδοχέας που βρίσκεται έξω από το κύτταρο και λαμβάνει τα εισερχόμενα σήματα
2. Μια διαμεμβρανική (*transmembrane*) περιοχή που διασχίζει τη μεμβράνη των κυττάρων και μεταβιβάζει τις πληροφορίες από το εξωτερικό στο εσωτερικό;
3. Μια ενδοκυτταρική περιοχή κινασών στην οποία προστίθεται ένα μόριο φωσφορικού άλατος στη τυροσίνη. Αυτή η διαδικασία είναι η αρχή ενός «καταρράκτη» αντιδράσεων στο εσωτερικό του κυττάρου και αναφέρεται ως φωσφορυλίωση "*phosphorylation*."

Οικογένεια «HER»

Στην ογκολογία, ένα από τα σημαντικότερα δίκτυα υποδοχέων -σημάτων του τύπου των κινασών της τυροσίνης είναι μια ομάδα υποδοχέων που ανήκουν στην οικογένεια " HER ", επίσης γνωστή ως δίκτυο σημάτων ErbB. Η οικογένεια των HER υποδοχέων αποτελείται από τέσσερα κύρια μέλη καλούμενα συνήθως HER1/EGFR, HER2, HER3 και HER4.

Κάθε ένας από τους υποδοχείς αυτούς εμπλέκεται στην ανάπτυξη του καρκίνου αν και ο βαθμός συμμετοχής ποικίλλει. Υπάρχει μια μη αμελητέα σχέση "αλληλεπίδρασης" μεταξύ των HER πρωτεϊνών, πράγμα που σημαίνει ότι η ενεργοποίηση ή η παρεμπόδιση της μιας μπορεί να έχει ανάλογα αποτελέσματα στις άλλες. Η κατανόηση του βιολογικού ρόλου της οικογένειάς HER έχει οδηγήσει στην ανακάλυψη και άλλων σημαντικών συστημάτων μεταγωγής σημάτων, όπως π.χ υποδοχείς που είναι διακριτοί από την οικογένειά HER αλλά έχουν τη δυνατότητα να επιδρούν με τα δικά τους σήματα στους HER –εξαρτώμενους όγκους.

Προσδιορίζοντας την πηγή δυσλειτουργίας σε όλα τα κύτταρα, μέχρι σε ένα επίπεδο μεταγωγής σημάτων κυτταρικού πολλαπλασιασμού η διαδικασία είναι κανονική και είναι μέρος του κανονικού κύκλου πολλαπλασιασμού. Είναι η υπερέκφραση, ή η ενεργοποίηση, αυτών των σημάτων - ή η αποτυχία να αντισταθμιστούν ή να εμποδιστούν εκείνα τα σήματα -- που οδηγούν στον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό. Στην περίπτωση του γονιδίου HER2, παραδείγματος χάριν, η υπερέκφραση είναι το αποτέλεσμα μιας γενετικής αλλαγής που παράγει πολλαπλάσια αντίγραφα ενός γονιδίου το οποίο κωδικοποιεί την παραγωγή του υποδοχέα. Λόγω του πλεονάσματος των γονιδίων στο κύτταρο, δημιουργούνται υπερβολικοί αριθμοί μεμβρανικών υποδοχέων οι οποίοι όταν ενεργοποιούνται, μεταφέρουν υπερβολικά σήματα πολλαπλασιασμού που υποκινούν το κύτταρο να επιταχύνει την κυτταροδιαίρεση με τελική κατάληξη την δημιουργία όγκων.

Μετάλλαξη γονιδίων HER και καρκίνος

Όνομα	Άλλα ονόματα	Τύποι διαταραχής	Είδη καρκίνου
HER1	EGFR	Υπερέκφραση Η μετάλλαξη οδηγεί σε ατέρμονη (non-stop) δραστηριότητα	Κεφαλής, λαιμού, ουροδ.κύστης, προστάτη, νεφρού, μη μικροκυτταρικό πνεύμονα, ωθηκών, παγκρέατος, γλοιοβλάστωμα.
HER2	c-erbB-2 ErbB2	Υπερέκφραση Συν έκφραση με HER-1 βελτιώνει τη δυνατότητα πρόβλεψης για την επιθετικότητα του καρκίνου του μαστού	Μαστού, ωθηκών.
HER3	ErbB3	Συνέκφραση με HER-2 βελτιώνει τη δυνατότητα πρόβλεψης για την επιθετικότητα του καρκίνου του μαστού	Μαστού, παχέος, στομάχου, προστάτη, κλπ
HER4	ErbB4	Συνέκφραση με HER-2 έχει προγνωστική αξία	Μαστού, προστάτη, μυελοβλάστωμα (παιδιά).

Ένα φυσικό χαρακτηριστικό γνώρισμα της οικογένειας των HER υποδοχέων είναι ότι το σύστημα υποδοχέων περιλαμβάνει πάντα δύο πρωτείνες-υποδοχείς σε συνδυασμό, σε έναν σχηματισμό αποκαλούμενο διμερές "dimer." Τα ομοδιμερή "homodimers" είναι συνδυασμοί δύο παρόμοιων τύπων υποδοχέων, όπως HER1/HER1 και HER3/HER3. Τα ετεροδιμερή «heterodimers» αποτελούνται από δύο διαφορετικούς υποδοχείς, όπως π.χ τα: HER1/HER2, HER1/HER3 και HER4/HER3. Τα διάφορα ετερο- και ομοδιμερή έχουν διαφορές στη ικανότητα μεταγωγής των

σημάτων μέσα στο κύτταρο. Παραδείγματος χάριν, η ομο-έκφραση ορισμένων ζευγαριών (όπως HER3/HER2) είναι ισχυρότερη από άλλα όπως το HER3/HER3 ομοδιμερές, το οποίο είναι ανενεργό. Η έρευνα είναι εν εξελίξει για να γίνει καλύτερα κατανοητό γιατί διαφορετικές ενώσεις διμερών έχουν διαφορετικά αποτελέσματα και πώς αυτά τα αποτελέσματα εκδηλώνονται στο καρκινικό κύτταρο.

Ογκογονίδιο HER-2/*neu*

Το HER-2/*neu* είναι ένα πρωτογονίδιο που βρίσκεται στο χρωμόσωμα 17q11.2-12 και κωδικοποιεί ένα μέρος ενός υποδοχέα που αποτελείται από τρία μέρη: εντός κυτταροπλάσματος, επί της κυτταρικής μεμβράνης και εκτός του κυττάρου ¹⁰¹. Ο υποδοχέας αυτός είναι μία πρωτεΐνη 185 kd πάνω στην οποία συνδέεται με τον επιδερμικό αυξητικό παράγοντα. **(Εικόνα 1)**

Η σύνδεση αυτή προκαλεί το σχηματισμό ομο-ετεροδιμερών που οδηγούν στην φωσφορυλίωση του ενδοκυττάριου τμήματος του υποδοχέα η οποία με τη σειρά της πυροδοτεί ένα καταρράκτη ενδοκυττάριων αντιδράσεων με τελικό αποτέλεσμα την υπερπλασία του κυττάρου. Έτσι η ενεργοποίηση του ογκογονιδίου αυτού είναι δυνατόν να οδηγήσει στην υπερβολική ή και ανεξέλεγκτη παραγωγή πρωτεϊνών-υποδοχέων οι οποίοι με τη σειρά τους ενοχοποιούνται για την προαγωγή ή ακόμα την έναρξη της διαδικασίας εξαλλαγής του κυττάρου σε νεοπλασματικό ¹⁰².

Η ενεργοποίηση του γονιδίου και η υπερπαραγωγή της πρωτεΐνης εμφανίζεται στο **ένα** **τρίτο** περίπου των όγκων στο μαστό¹⁰³.

Πάρα πολλές μελέτες έχουν γίνει για να εκτιμηθεί η προγνωστική αξία της υπερέκφρασης του HER-2/*neu* στους ασθενείς με καρκίνο στο μαστό. Στους ασθενείς που έχουν όγκους με θετικούς λεμφαδένες η παρουσία του HER-2/*neu* έχει ξεκάθαρη δυσμενή προγνωστική αξία και συνδέεται με μικρότερο διάστημα χωρίς υποτροπή της νόσου και μειωμένη επιβίωση.¹⁰⁴ Αντίθετα τα πράγματα είναι πιο πολύπλοκα στους ασθενείς χωρίς λεμφαδενική συμμετοχή όπου δεν έχει αποδειχτεί η προγνωστική αξία του HER-2/*neu* αφού τα αποτελέσματα των μελετών που έχουν γίνει μέχρι τώρα είναι αντικρουόμενα ^{83,93,105}.

Χρονικό ανακαλύψεων που αφορούν το γονίδιο HER2/neu

-
- 1980** - Ανακάλυψη των EGFR
 - 1985** - Διαπίστωση της διαφορετικότητας του γονιδίου HER2 από το HER1
 - 1985** - Εύρεση του Promoter Region του HER2 πρωτοογκογονιδίου – (Proceedings of the National Academy of Science)
 - 1987** - Το HER2 συνδέεται ευθέως με τον καρκίνο του μαστού
 - 1987** - Καρκίνος του μαστού: Συσχέτιση της υπερέκφρασης του γονιδίου HER2/neu με γρήγορη υποτροπή και μειωμένη επιβίωση
 - 1998** - Το FDA εγκρίνει τη χρήση του Herceptin σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού.
-

Ένα άλλο ερώτημα που προκύπτει από τη βιβλιογραφία έχει να κάνει με το κατά πόσο ανεξάρτητος είναι ως προγνωστικός δείκτης το HER-2/neu. Αν και κάποιοι ερευνητές θεωρούν το HER-2/neu ανεξάρτητο προγνωστικό δείκτη ^{104,105} πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι η υπερέκφραση του HER-2/neu συνδέεται στενά με την παρουσία και άλλων δυσμενών προγνωστικών δεικτών όπως είναι: οι διηθημένοι λεμφαδένες, το μεγάλο μέγεθος του όγκου, ο υψηλός βαθμός κακοήθειας, η απουσία οιστρογονικών και προγεστερονικών υποδοχέων, ιδιαίτερα στους όγκους με αρνητικούς λεμφαδένες κλπ. Σε μερικές από αυτές τις μελέτες το HER-2/neu χάνει την προγνωστική αξία που είχε στη univariate ανάλυση όταν γίνεται multivariate ανάλυση. Παρόλα αυτά το συμπέρασμα είναι ότι σε γενικές γραμμές η υπερέκφραση του HER-2/neu στους όγκους στο μαστό έχει δυσμενή επίδραση στη επιβίωση αυτών των ασθενών και αυτό το φαινόμενο πρέπει να εξηγηθεί σε βιολογικό και μοριακό επίπεδο ^{106, 107,108,109, 110}

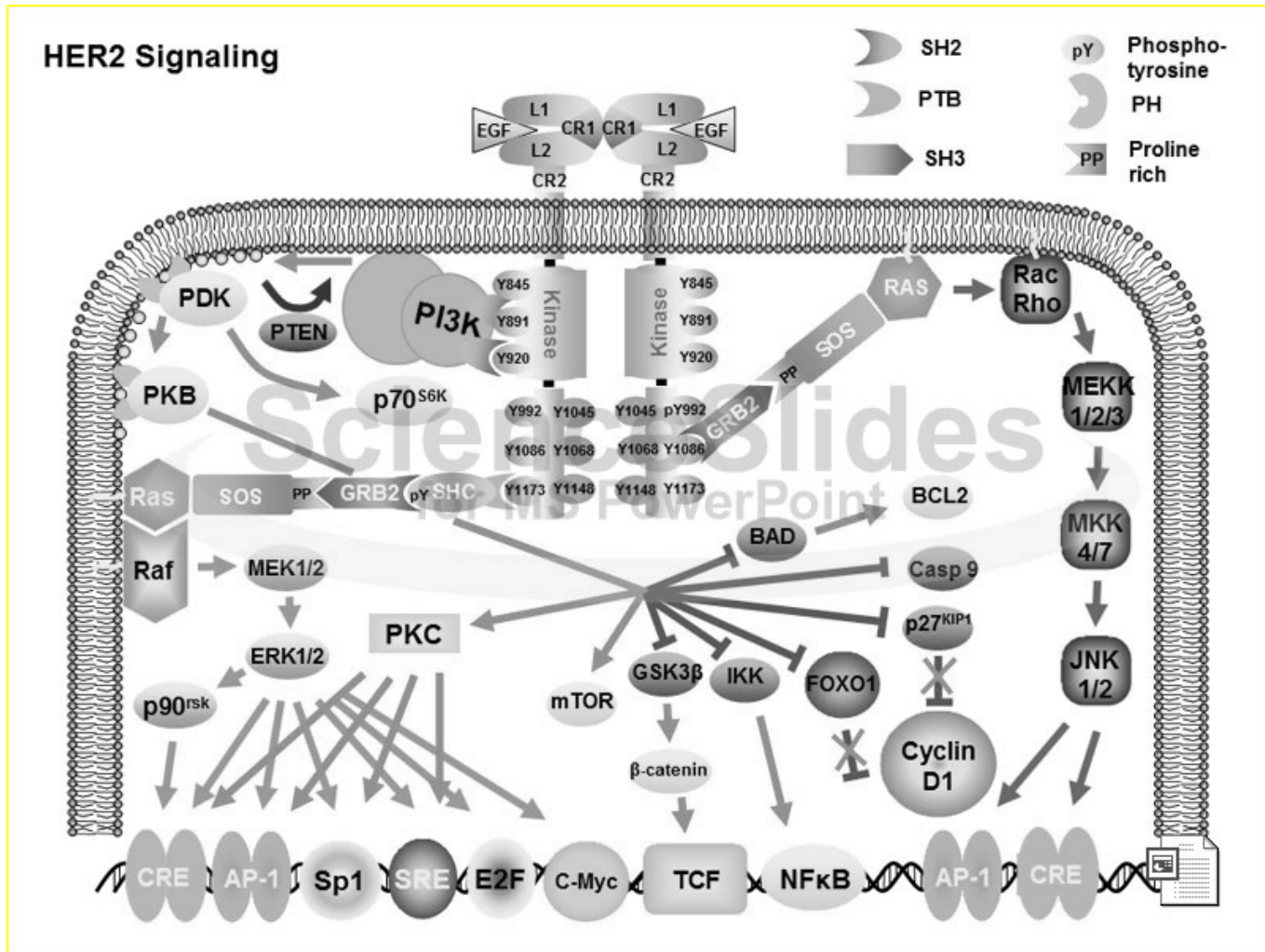
Αρκετές μελέτες έχουν προσπαθήσει να ανιχνεύσουν εάν η υπερέκφραση του HER-2/neu έχει προβλεπτική αξία ούτως ώστε να γίνει η επιλογή του καταλληλότερου χημειοθεραπευτικού ή άλλου σχήματος. Το πιο καθαρό συμπέρασμα που έχει βγει μέχρι τώρα δείχνουν ότι η υπερέκφραση του HER-2/neu συνδέεται με αυξημένη ευαισθησία στα χημειοθεραπευτικά σχήματα που περιέχουν ανθρακυκλίνες. Από την άλλη μεριά υπάρχουν κάποια δεδομένα που δείχνουν ότι το HER-2/neu συνδέεται με αυξημένη αντοχή σε άλλες ουσίες όπως είναι οι ταξάνες, η κυκλοφωσφαμίδη, η μεθοτρεξάτη, η 5-φλουοροουρακίλη και η

ταμοξιφαίνη αλλά τα αποτελέσματα είναι αντικρουόμενα αφού υπάρχουν και μελέτες που δείχνουν ευαισθησία σε αυτές τις ουσίες ^{105,106,107,111}

Η διαφαινόμενη σημασία του HER-2/*neu* στη πρόγνωση και στη θεραπεία των ασθενών με καρκίνο του μαστού το έκανε το ίδιο θεραπευτικό στόχο. Έτσι αναπτύχθηκε μετά από πειράματα στο εργαστήριο ένα μονοκλωνικό ειδικό αντίσωμα που λέγεται *Hercptin* (*trastuzumab*) και χορηγείται στους ασθενείς στοχεύοντας το ίδιο το HER-2/*neu* στα καρκινικά κύτταρα ¹¹². Μάλιστα το αντίσωμα αυτό έχει δείξει πολύ καλά αποτελέσματα ακόμα και όταν χορηγείται μόνο του σε ασθενείς στους οποίους δεν απέδωσε η χημειοθεραπεία ¹¹³.

Πρόσφατα ιδιαίτερο ενδιαφέρον ¹¹⁴ έχει αποκτήσει η εμπλοκή της ενεργοποίησης του γονιδίου αυτού μαζί με άλλα στην αρχική φάση της ογκογενετικής διαδικασίας στο μαστό η οποία μέχρι τώρα αποδιδόταν αποκλειστικά στην μεσολάβηση άμεσα ή έμμεσα των οιστρογόνων και των υποδοχέων τους, και αυτό θα διαπραγματευτούμε στη εργασία που ακολουθεί.

ΕΙΚΟΝΑ 1. Μεταγωγή Σήματος μέσω HER-2/neu συστήματος.



ΠΙΝΑΚΕΣ

Πίνακας 20. Προγνωστικοί παράγοντες ⁷⁵

Κλασσικοί/ ιστολογικοί	Βιολογικοί
Λεμφαδενική συμμετοχή	Δείκτες αγγειογένεσης (VEGF, μετρήσεις μικροαγγείων)
Μέγεθος όγκου	Δείκτες υπερπλασίας (Ki67, MIBI, TLI)
Βαθμός κακοήθειας	Υποδοχείς αυξητικών παραγόντων (EGFR, HER-2/neu)
Ορμονικοί υποδοχείς	Ρυθμιστές κυτταρικού κύκλου (P53, c-myc, κυκλίνες)
Διήθηση αγγείων	Πρωτεάσες (ενεργοποιητής του πλασμινογόνου, καθεψίνη)
Ηλικία	Μεταστατικοί πρωτεϊνικοί δείκτες (nm23, laminin 67 kDA)
Άλλοι	(pS2)

Η αναγκαιότητα της μελέτης

Η επίπτωση του Καρκίνου του Μαστού αυξάνεται παγκοσμίως αλλά φαίνεται ότι υπάρχουν μεγάλες διαφορές στο ρυθμό αύξησης της συχνότητας του από χώρα σε χώρα καθώς επίσης και στην ίδια χώρα στη διάρκεια του χρόνου.

Στην βιβλιογραφία υπάρχει πλήθος μελετών που έχουν γίνει σε χώρες με χαμηλή αλλά και υψηλή επίπτωση της νόσου για να ανιχνευθούν ποιοι είναι αυτοί οι παράγοντες που επιδρούν στη καρκινογένεση στο μαστό και εν τέλει ευθύνονται για την αύξηση της συχνότητας του. Από τις μελέτες αυτές έχουν αποτυπωθεί πλήθος παραγόντων: *γενετικοί, βιολογικοί, περιβαλλοντικοί, διατροφικοί, αναπαραγωγικοί, ανθρωπομετρικοί* κλπ, οι οποίοι σε διαφορετικό βαθμό ανά χώρα και ανά πληθυσμό φαίνεται ότι εμπλέκονται στη ογκογενετική διαδικασία στο μαστό. Έτσι προκύπτει η ανάγκη να ερευνηθεί σε κάθε πληθυσμό το προφίλ των παραγόντων αυτών και να ανιχνευθούν η βαρύτητα του καθενός και οι συσχετίσεις μεταξύ τους.

Στην Κρήτη, με το σχετικά κλειστό ανθρωπογεωγραφικό περιβάλλον και το αρκετά ομοιογενές γενετικό υλικό, έχουν πραγματοποιηθεί έρευνες σχετικά με την επίπτωση του καρκίνου του μαστού στο νησί και βάσει αυτών γνωρίζουμε ότι η συχνότητα του στο νησί είναι από τις χαμηλότερες πανευρωπαϊκά με τάση αύξησης όμως. Εκτός όμως από αυτή την μελέτη της επίπτωσης, καμία άλλη επιδημιολογική έρευνα δεν είχε γίνει μέχρι τώρα, για να διερευνηθούν ποιοι από τους γνωστούς παράγοντες κινδύνου είναι αυτοί που συμβάλλουν στην εμφάνιση του καρκίνου του μαστού στις γυναίκες της Κρήτης

Επιπρόσθετα μετά από πλήθος ερευνητικών εργασιών έχει πια γίνει κατανοητό ότι ο καρκίνος του μαστού δεν είναι μια ασθένεια, αλλά πολλές διαφορετικές ασθένειες. Ακόμα και όταν ταξινομούνται οι όγκοι μαζί με βάση την εμφάνισή τους, αυτοί μπορούν να εξελιχθούν διαφορετικά λόγω του διαφορετικού γενετικού *makeup*. Μήπως μπορούμε να ξεχωρίσουμε τις διάφορες υποομάδες των γυναικών βάσει κάποιων μη-γενετικών χαρακτηριστικών όπως για

παράδειγμα οι παράγοντες κινδύνου; Ποια είναι η σχέση των τροποποιήσιμων και μη, ορμονοεξαρτώμενων και μη, αναπαραγωγικών και μη, παραγόντων κινδύνου με την μετάλλαξη και την υπερέκφραση των ογκογονιδίων που φαίνεται να παίζουν το κύριο ρόλο στη κακοήθη εξαλλαγή του κυττάρου;

Κυρίαρχο ρόλο σε αυτή την υπόθεση φαίνεται ότι παίζει το ογκογονίδιο *HER-2/neu*. Στη διεθνή βιβλιογραφία υπάρχουν μόλις 5 επιδημιολογικές εργασίες που προσπάθησαν να βρουν μία στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ του *HER-2/neu* και κάποιων από τους παράγοντες κινδύνου ούτως ώστε να ρίξουν λίγο φως στο ρόλο του *HER-2/neu* στη καρκινογένεση και ιδιαίτερα στη σχέση του με την οιστρογονική επίδραση πάνω στο μαστικό κύτταρο. Φαίνεται πολύ σημαντικό λοιπόν να διερευνηθεί αυτή η σχέση και η μελέτη μας συμβάλλει σε αυτό ερευνώντας σε ένα πληθυσμό ομοιόμορφο γενετικά και με σχετικά χαμηλή αλλά σταδιακά αυξανόμενη συχνότητα καρκίνου στο μαστό.

Η παρούσα επιδημιολογική μελέτη πραγματοποιήθηκε για να καλύψει αυτό το έλλειμμα χρησιμοποιώντας σαν δείγμα τις Κρητικές γυναίκες που επισκέφτηκαν το Ιατρείο Μαστού του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ηρακλείου από το 1990 έως το 2002. Το δείγμα αυτό μπορεί να θεωρηθεί αντιπροσωπευτικό του γυναικείου πληθυσμού της νήσου για δύο λόγους κυρίως:

- Υπάρχει αρκετά ομοιογενές γενετικό και πολιτισμικό περιβάλλον σε όλο το νησί, και
- το Ιατρείο Μαστού της Κλινικής Χειρουργικής Ογκολογίας του Πα.Γ.Ν.Ηρακλείου έχει τη δυνατότητα εκ των πραγμάτων ως τριτοβάθμια μονάδα να συγκεντρώνει τη συντριπτική πλειοψηφία των περιστατικών με καρκίνο στο μαστό από όλες τις περιοχές της Κρήτης.

Σκοπός και στόχοι της μελέτης

Ο βασικός ερευνητικός σκοπός της μελέτης ήταν να διερευνηθεί αν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των παραγόντων κινδύνου με ένα από τους πιο γνωστούς μοριακούς προγνωστικούς δείκτες το HER-2/*neu*.

Επιγραμματικά οι επιμέρους στόχοι της μελέτης επικεντρώνονται στα εξής:

1. να καταγραφεί η συχνότητα εμφάνισης των γνωστών παραγόντων κινδύνου για το καρκίνο του μαστού.
2. να διαπιστωθεί το μέγεθος της επίδρασης των παραγόντων αυτών στο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου στο μαστό στο σύνολο και σε επιλεγμένες υποομάδες Κρητικών γυναικών.
3. να ερευνηθεί αν υπάρχει διαφορά στην εμφάνιση των παραγόντων κινδύνου μεταξύ των γυναικών που ζουν στις πόλεις και στην ύπαιθρο του νησιού.
4. να διαπιστωθεί αν υπάρχουν υποομάδες Κρητικών γυναικών που βρίσκονται σε υψηλότερο κίνδυνο για να αναπτύξουν HER-2/*neu* + καρκίνο στο μαστό από τον υπόλοιπο γυναικείο πληθυσμό.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΜΕΛΕΤΗ 1

*Ο ΕΠΙΠΟΛΑΣΜΟΣ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ
ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΓΙΑ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ
ΣΤΙΣ ΓΥΝΑΙΚΕΣ ΤΗΣ ΚΡΗΤΗΣ.*

*Διαστρωμάτωση ανάλογα με την εμμηνορυσιακή
κατάσταση, την ηλικία και τον τόπο διαμονής...*

ΣΚΟΠΟΣ - ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο καρκίνος του μαστού, η πιο γνωστή γυναικεία νεοπλασία, παρουσιάζει μια ολοένα και αυξανόμενη επίπτωση τα τελευταία χρόνια παγκοσμίως ¹¹⁶. Η αύξηση αυτή φαίνεται ότι είναι αρκετά πιο εκσεσημασμένη σε χώρες όπου παραδοσιακά ο καρκίνος του μαστού ήταν σε χαμηλή συχνότητα ¹¹⁷. Η Ελλάδα έχει μία από τις χαμηλότερες συχνότητες της νόσου ανάμεσα στις χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Η αναφερθείσα προτυποποιημένη κατά την ηλικία συχνότητα στην Ελλάδα κατά το έτος 1995 ήταν 60.3 ανά 100000 γυναίκες τα 2/3 δηλαδή της συχνότητας στη Βρετανία για το ίδιο έτος. Πάντως θεωρείται σχεδόν σίγουρο το γεγονός να υπάρχει υποεκτίμηση στη συχνότητα καθώς στην Ελλάδα δεν υπάρχει κάποιο Εθνικό Κέντρο Καταγραφής των νεοπλασιών ούτε κάποιο εθνικό πρόγραμμα πληθυσμιακού ελέγχου για εφαρμογή. Στη Κρήτη την ίδια χρονική περίοδο η αναφερθείσα συχνότητα ήταν στις 70,6 ανά 100000 γυναίκες κάτι που βασίστηκε στη λειτουργία ενός περιφερειακού καταγραφικού κέντρου για τις νεοπλασίες στο νησί ^{118,119}.

Το νησί της Κρήτης παρουσιάζει αυξημένους ρυθμούς ανάπτυξης τα τελευταία χρόνια όπως και η υπόλοιπη χώρα. Όμως, είναι γνωστό ότι τέτοιες γρήγορες κοινωνικοοικονομικές αλλαγές έχουν οδηγήσει σε άλλες χώρες σε αλλαγές στις διατροφικές συνήθειες, τα αναπαραγωγικά μοτίβα των γυναικών των χωρών αυτών και τελικά σε αύξηση της συχνότητας της νόσου ^{120,121}.

Από τις παραπάνω παρατηρήσεις προέκυψε η ανάγκη να μελετήσει κανείς τα χαρακτηριστικά των Κρητικών γυναικών με κακοήθεια στο μαστό. Πιο αναλυτικά ο σκοπός της μελέτης αυτής ήταν να βρει και να μετρήσει τις συσχετίσεις που υπάρχουν μεταξύ των διαφόρων διατροφικών, αναπαραγωγικών και ανθρωπομετρικών δεικτών και της συχνότητας της νόσου καθώς επίσης να διερευνήσει τις πιθανές διαφορές που μπορεί να υπάρχουν στο προφίλ των παραγόντων κινδύνου ανάμεσα στις Κρητικές γυναίκες.

ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΕΣ

Επιλέχθηκαν ασθενείς που επισκέφτηκαν το ιατρείο μαστού της κλινικής Χειρουργικής Ογκολογίας στο Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Ηρακλείου από το 1990 έως τον Ιούνιο του 2002. Στις γυναίκες αυτές κατά τη πρώτη επίσκεψη τους στο Ιατρείο τους παίρνονταν ένα ιστορικό με τα εξής στοιχεία:

1. Ονοματεπώνυμο, πατρώνυμο.
2. Περιοχή μόνιμης κατοικίας
3. Ηλικία
4. Ιστορικό μη-κακοήθους βλάβης ή κατάστασης στο μαστό
5. Οικογενειακό ιστορικό καρκίνου του μαστού (βαθμός συγγένειας, ηλικία διάγνωσης)
6. Οικογενειακό ιστορικό άλλων κακοηθειών.
7. Ηλικία εμμηναρχής
8. Αναπαραγωγικό ιστορικό (τοκιμότητα, ηλικία πρώτης κύησης, θηλασμός, καταστολή θηλασμού, ιστορικό αποβολών)
9. Εμμηνορρυσιακή κατάσταση (ηλικία εμμηνόπαυσης)
10. Χρήση αντισυλληπτικών
11. Χρήση Θεραπείας Ορμονικής Υποκατάστασης
12. Ιστορικό ακτινοβολίας στο θώρακα
13. κατανάλωση ζωικού λίπους ,
14. παχυσαρκία (ΔΜΣ)
15. κατανάλωση καφεΐνης

Πεντακόσιες εννιά γυναίκες (509) με πρωτοπαθή διηθητικό καρκίνο στο μαστό περιληφθήκαν στη μελέτη. Οι γυναίκες αυτές έπρεπε να ήταν Ελληνικής καταγωγής, μόνιμες κάτοικοι σε οποιαδήποτε περιοχή του νησιού. Γυναίκες αλλοδαπές ή με μόνιμη κατοικία εκτός Κρήτης αποκλείστηκαν από τη μελέτη.

Για σύγκριση επιλέχθηκε ένα δείγμα 522 γυναικών στρωματοποιημένο κατά την ηλικία από το σύνολο των γυναικών χωρίς κακοήθεια που εξετάστηκαν στο ιατρείο μαστού την ίδια χρονική περίοδο. Οι γυναίκες αυτές παρουσιάστηκαν στο Ιατρείο για να κάνουν τον τακτικό προληπτικό τους έλεγχο είτε αιτιώμενες κάποιου είδους συμπτωματολογία όπως μασταλγία, ψηλαφητούς όζους, έκκριση από τη θηλή, ψηλαφητό μόρφωμα στη μασχάλη ή ακόμα και διερεύνηση ύποπτης μαστογραφίας. Καμιά από αυτές τις γυναίκες δεν εμφάνισαν κακοήθεια

στο στήθος κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης τους η οποία κατά μέσο όρο έφθανε τους 41 μήνες (από 12 έως 94 μήνες).

Στη παρούσα μελέτη αναλύθηκαν οι παρακάτω μεταβλητές βάσει συγκεκριμένων διακριτών τιμών που προέκυψαν από τη διεθνή βιβλιογραφία και συνήθη πρακτική: περιοχή διαμονής (αγροτική , αστική), ηλικία κατά τη συνέντευξη (≤ 40 , 41-49, > 50 ετών), ηλικία εμμηναρχής (≤ 12 ετών, > 12 ετών), ηλικία πρώτης τελειόμηνης εγκυμοσύνης (< 20 , 21-29 και > 30 ετών), τοκιμότητα (ατεκνία, 1,2 και > 3 παιδιά), θηλασμός (ναι, όχι), χρήση ορμονών για καταστολή του θηλασμού (ναι, όχι), αποβολές ή και εκτρώσεις (ναι, όχι), ηλικία εμμηνόπαυσης (≤ 50 , > 50 ετών), χρήση θεραπείας ορμονικής υποκατάστασης (ναι, όχι), χρήση αντισυλληπτικών δισκίων (ναι, όχι), ιστορικό καλοήθους νόσου στο μαστό (ναι, όχι), οικογενειακό ιστορικό καρκίνου στο μαστό (ναι, όχι), σωματικό βάρος κατά την ημέρα της συνεντεύξεως (Δείκτης Μάζας Σώματος $\leq 29 \text{ kg/m}^2$, $\Delta\text{ΜΣ} > 29 \text{ kg/m}^2$), κατανάλωση καφεΐνης (≤ 2 φλιτζάνια τη ημέρα, > 2 /ημέρα), κατανάλωση ζωικού λίπους (≤ 2 φορές τη βδομάδα, < 2) και ιστορικό ακτινοβολίας στο θώρακα (ναι, όχι). Ως μετεμμηνοπαυσιακές θεωρήθηκαν οι γυναίκες οι οποίες ήταν σε εμμηνόπαυση (φυσική ή τεχνητή) περισσότερο από 10 μήνες ενώ οι γυναίκες που δεν είχαν περίοδο για λιγότερο από 10 μήνες κατά την ημέρα της συνεντεύξεως χαρακτηρίστηκαν ως περιεμμηνοπαυσιακές και περιλήφθηκαν με τις προεμμηνοπαυσιακές στην ανάλυση.

Η στατιστική δοκιμασία χ^2 χρησιμοποιήθηκε για να υπολογιστεί ο σχετικός κίνδυνος και τα διαστήματα εμπιστοσύνης που δείχνουν το βαθμό συσχέτισης των διαφόρων ομάδων των γυναικών με και χωρίς κακοήθεια. Εν συνεχεία έγινε περαιτέρω πολυπαραγοντική ανάλυση stepwise logistic regression analysis (backward LR), για να αποκλειστούν οι συγχυτικοί παράγοντες. Η περαιτέρω ανάλυση περιλάμβανε τη κατηγοριοποίηση του δείγματος ανάλογα με την ηλικία, την εμμηνορυσιακή κατάσταση και την περιοχή διαμονής.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Η μέση ηλικία των ασθενών ήταν τα 58 έτη και για τις δύο ομάδες. Δεν υπήρχαν διαφορές μεταξύ των ομάδων όσον αφορά την ηλικία κατά τη συνέντευξη, το τόπο διαμονής ,

την εμμηνορυσιακή κατάσταση (**πίνακας 1**). Στον **πίνακα 2** φαίνονται τα αποτελέσματα για όλες τις γυναίκες και ξεχωριστά για τις προ- και μετεμμηνοπαυσιακές. Οι γυναίκες με κακοήθεια εμφάνισαν πιο συχνά ηλικία εμμηναρχής <12 ετών , ηλικία εμμηνόπαυσης >50 ετών , χρήση αντισυλληπτικών δισκίων, λιγότερες αποβολές, λιγότερες εγκυμοσύνες και μεγαλύτερη ηλικία πρώτης κύησης ενώ είχαν και μεγαλύτερο ΔΜΣ από τις μάρτυρες. Δεν υπήρχαν διαφορές όσον αφορά τους υπόλοιπους παράγοντες. Με τη διαστρωμάτωση βάσει της εμμηνορυσιακής κατάστασης παρατηρηθήκαν τα εξής : οι μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με κακοήθεια εμφάνισαν τα ίδια χαρακτηριστικά με τα παραπάνω με τη προσθήκη της θετικής συσχέτισης με τη χρήση θεραπείας ορμονικής υποκατάστασης (σε πολύ μικρό δείγμα όμως). Οι προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με κακοήθεια ήταν πιο παχύσαρκες και εμφάνισαν θετική συσχέτιση με τη πρώιμη ηλικία εμμηναρχής (<12 ετών), όψιμη ηλικία πρώτης κύησης (>21 ετών) και χρήση αντισυλληπτικών (πολύ μικρό δείγμα).

Πολυπαραγοντική ανάλυση

Στον **πίνακα 3** φαίνονται τα αποτελέσματα της πολυπαραγοντικής ανάλυσης στις δύο ομάδες με την ίδια διαστρωμάτωση. Στο σύνολο των γυναικών και στην κατηγορία των μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών βρέθηκαν παρόμοιες στατιστικές συσχετίσεις. Συγκεκριμένα ο σχετικός κίνδυνος για κακοήθεια στο μαστό αύξανε όταν η ηλικία της πρώτης κύησης ήταν άνω των 30 ετών (OR=2.45, 95%C.I: 1.48-4.06) και ο δείκτης μάζας σώματος ήταν μεγαλύτερος του 29, (OR=1.97, 95%C.I: 1.32-2.95) ενώ ο κίνδυνος φαίνεται να μειωνόταν όταν υπήρχε ιστορικό έστω και μίας αποβολής ή έκτρωσης (OR=0.57 95%C.I: 0.41-0.80) Από την άλλη μεριά οι προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες εμφάνιζαν αυξημένο κίνδυνο όχι μόνο με την αύξηση του βάρους (OR=4.17, 95%C.I: 1.52-11.48) και με την μεγαλύτερη ηλικία πρώτης κύησης (OR=2.52,95%C.I: 1.37-4.64) αλλά επιπλέον και με τη χρήση αντισυλληπτικών από το στόμα (OR=4.55, 95%C.I: 1.65-12.51). Περαιτέρω ανάλυση των ευρημάτων αυτών στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες έγιναν με διαχωριστικό σημείο την ηλικία των 45 ετών (**πίνακας 4**). Εκεί φάνηκε ότι όλοι οι παράγοντες που αύξαναν τον κίνδυνο στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, παρέμεναν σημαντικοί μόνο στην ομάδα των γυναικών > 45

ετών, ενώ στις νεότερες ο μόνος στατιστικά σημαντικός παραγοντας ήταν η τοκιμότητα ($p=0.006$, πιο συγκεκριμένα η γέννηση ενός παιδιού).

Τόπος κατοικίας

Η κατανομή των παραγόντων και στις δύο ομάδες ανάλογα με το τόπο κατοικίας φαίνεται στο **πίνακα 5**. Οι γυναίκες από τις αγροτικές περιοχές της Κρήτης ήταν μεγαλύτερες σε ηλικία και οι περισσότερες ήταν σε εμμηνόπαυση. Επιπλέον οι περισσότερες εξ αυτών είχαν τεκνοποιήσει, σε νεαρότερη ηλικία, είχαν κάνει λιγότερες εκτρώσεις, θήλασαν οι περισσότερες, κατανάλωναν λιγότερη καφεΐνη και ζωικό λίπος (χωρίς να είναι παχύτερες) σε σχέση με τις αστές Κρητικές. Αντίθετα πιο πολλές γυναίκες που ζούσαν σε αστικές περιοχές της Κρήτης είχαν χρησιμοποιήσει αντισυλληπτικά και ορμόνες που καταστέλλουν το θηλασμό.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Πριν από τη κύρια συζήτηση των αποτελεσμάτων πρέπει να θιχτούν ορισμένα θέματα που αφορούν τη μεθοδολογία. Η συνέντευξη έλαβε χώρα με κάθε ασθενή ξεχωριστά κατά τη διάρκεια της πρώτης επίσκεψης στο ιατρείο και πριν από οποιαδήποτε άλλη παρέμβαση. Αυτό είναι ένα θετικό στοιχείο της μελέτης γιατί οι ασθενείς έδωσαν όλες τις πληροφορίες ανεπηρέαστες από την οποιαδήποτε διάγνωση. Εξ αιτίας αυτού, το σφάλμα ανάμνησης (recall bias) δεν επηρεάζεται από κανένα άλλο παράγοντα παρά μόνο από τα αυστηρώς προσωπικά χαρακτηριστικά της κάθε ασθενούς πράγμα το οποίο είναι αναπόφευκτο. Επιπρόσθετα, το σφάλμα επιλογής (selection bias) μειώνεται καθώς η ίδια διαδικασία επιλογής τηρήθηκε για όλες τις ασθενείς και τις μάρτυρες, και καθώς κάθε υποομάδα των ασθενών συγκρίθηκε με την ίδια ομάδα μαρτύρων και τυχόν διαφορές που βρέθηκαν δεν θα πρέπει να αποδοθούν σε σφάλματα επιλογής ή/ και ανάμνησης. Από την άλλη μεριά η ομάδα των μαρτύρων αποτελούνταν από όλες τις γυναίκες που προσήλθαν για κάποιο λόγο στο ιατρείο και δεν εμφάνισαν κακοήθεια στο μαστό μέχρι την ημέρα που αναλύθηκαν τα δεδομένα. Άραγε μπορεί αυτή η ομάδα να είναι αντιπροσωπευτική του γυναικείου πληθυσμού της Κρήτης; Προηγούμενες έρευνες έχουν δείξει ότι η συχνότητα του καρκίνου του μαστού δεν ήταν υψηλότερη στις γυναίκες με συμπτωματολογία από το μαστό από ότι στο γενικό πληθυσμό¹²². Άλλες μελέτες έδειξαν ότι δεν υπάρχουν διαφορές στη συχνότητα εμφάνισης των παραγόντων

κινδύνου (εκτός από το οικογενειακό ιστορικό) σε αυτές τις γυναίκες σε σχέση πάλι με το γενικό πληθυσμό¹²³. Όλα αυτά δείχνουν ότι αυτές οι γυναίκες δεν αποτελούν ομάδα αυξημένου κινδύνου για καρκίνο του μαστού και ότι μπορούν να αντιπροσωπεύσουν το γενικό γυναικείο πληθυσμό^{122,123}. Τέλος, παρά τον ικανό αριθμό ασθενών που συμμετείχαν στη μελέτη όταν επιχειρείται η διαστρωμάτωση με την εμμηνορυσιακή κατάσταση ή με τους υποδοχείς οιστρογόνων (στην επόμενη μελέτη) ορισμένες υποομάδες περιέχουν πολύ μικρό αριθμό ατόμων με αποτέλεσμα τα διαστήματα εμπιστοσύνης να είναι ευρεία και η εκτίμηση του κινδύνου έχει μειωμένη αξιοπιστία.

Σε αυτή την επιδημιολογική μελέτη φάνηκε ότι η όψιμη ηλικία πρώτης κύησης και η παχυσαρκία είναι οι κυριότεροι παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη καρκίνου του μαστού στο γυναικείο πληθυσμό της Κρήτης, ο οποίος εμφανίζει σχετικά χαμηλή συχνότητα καρκίνου στο μαστό σε σχέση με άλλες ευρωπαϊκές χώρες. Επιπλέον φάνηκε μια προστατευτική επίδραση αναφερόμενης αποβολής ή έκτρωσης κυρίως στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες ενώ οι προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες άνω των 45 ετών που είχαν κάνει χρήση αντισυλληπτικών δισκίων κατά το παρελθόν διέτρεχαν μεγαλύτερο κίνδυνο. Πάντως αυτό το τελευταίο εύρημα δεν πρέπει να υπερεκτιμηθεί καθώς μόνο το 4,8% των γυναικών της μελέτης είχαν χρησιμοποιήσει αντισυλληπτικά δισκία. Ακόμα πιο μικρό (μόνο 2%) ήταν το ποσοστό των γυναικών που είχαν κάνει χρήση θεραπείας ορμονικής υποκατάστασης.

Η προστασία που φαίνεται να παρέχει προηγηθείσα ανεπιτυχής κύηση από τον καρκίνο του μαστού έχει τονιστεί και από άλλους ερευνητές, οδηγώντας έτσι στην υπόθεση ότι η προστασία που παρέχουν οι κυοφορίες είναι ανεξάρτητη της κατάληξής τους^{124,125}. Παρόλα αυτά η τοκιμότητα δεν φαίνεται να παρέχει προστασία έτσι όπως τουλάχιστο φάνηκε στη πολυπαραγοντική ανάλυση πράγμα που έχει παρατηρηθεί από παλιά¹²⁶.

Περίπου το 80% των γυναικών και των 2 ομάδων είχαν θηλάσει τα παιδιά τους, αλλά παρά την υψηλή αυτή συχνότητα δεν βρέθηκε να υπάρχει καμία συσχέτιση θετική ή αρνητική με τον καρκίνο του μαστού εκτός μια οριακής σημαντικότητας προστασία που εμφανίστηκε στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες άνω των 45 ετών. Πολλές μελέτες έχουν δείξει παρόμοια

αποτελέσματα αλλά όμως οι περισσότερες εξ αυτών αφορούσαν γυναίκες του Δυτικού Κόσμου στις οποίες δεν είναι τόσο δημοφιλής ο θηλασμός ^{127,128}.

Το πιο χαρακτηριστικό εύρημα της μελέτης είναι η ιδιαίτερα στενή θετική συσχέτιση της παχυσαρκίας με τον κίνδυνο για καρκίνο στο μαστό ανεξάρτητα από την εμμηνορυσιακή κατάσταση των γυναικών. Αυτό έρχεται εν μέρει σε αντίθεση με τα αποτελέσματα πολλών μελετών που έχουν δείξει ότι οι παχύσαρκες προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες διατρέχουν μικρότερο κίνδυνο για καρκίνο στο μαστό σε σχέση με τις συνομήλικες τους με μικρό σωματικό βάρος ¹²⁹. Υπάρχουν πάντως άλλες μελέτες στη διεθνή βιβλιογραφία που έχουν βρει παρόμοια με τη δική μας θετική συσχέτιση χρησιμοποιώντας άλλο δείκτη παχυσαρκίας (π.χ τον λόγο ισχίου-περιφέρειας μέσης) από το ΔΜΣ που χρησιμοποιήθηκε εδώ ¹³⁰. Ενδιαφέρον προκαλεί το γεγονός ότι η ανάλυση έδειξε ότι η αύξηση του κινδύνου είναι πιο εκσεσημασμένη στις παχύσαρκες προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες που είναι άνω των 45 ετών. Η αύξηση αυτή του κινδύνου με την ηλικία ίσως έχει να κάνει με τη μακροχρόνια πρόσληψη βάρους (weight gaining) η οποία έχει ενοχοποιηθεί ως παράγοντας κινδύνου για καρκίνο στο μαστό. Έτσι με αυτό τον τρόπο η προστασία που προσφέρει η παχυσαρκία στις νεαρότερες προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (κυρίως λόγω των πολλών ανωορρηκτικών κύκλων) φαίνεται να εξαφανίζεται με τα χρόνια ¹³¹.

Τέλος ο αυξημένος κίνδυνος στις παχύσαρκες μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, (ο οποίος αποδίδεται στην αυξημένη ποσότητα κυκλοφορούντων οιστρογόνων που παράγονται στο λιπώδη ιστό) είναι σύμφωνος με τη πλειοψηφία των μελετών στη διεθνή βιβλιογραφία αν και υπάρχει κάποια διαφοροποίηση στις προοπτικές μελέτες ¹³⁰⁻¹³³.

Αν και δεν χρησιμοποιήθηκαν προτυποποιημένα ερωτηματολόγια διατροφής υπάρχουν κάποια ενδιαφέροντα ευρήματα στη σχέση διατροφής και καρκίνου του μαστού στις γυναίκες της Κρήτης. Περίπου μία στις πέντε γυναίκες της μελέτης κατανάλωνε ζωικό λίπος περισσότερο από 2 φορές εβδομαδιαίως. Η υψηλή κατανάλωση αφορούσε κύρια τις γυναίκες από τις αγροτικές περιοχές οι οποίες όμως δεν ήταν παχύτερες των γυναικών που ζούσαν στις πόλεις. Η παραδοσιακή Κρητική διατροφή είναι στενά συνδεδεμένη με τη μεγάλη κατανάλωση

ελαιόλαδου το οποίο ανήκει στα μονοακόρεστα λίπη και ζωικού λίπους και δεν συνδέεται με αυξημένο κίνδυνο για καρκίνο του μαστού¹³⁴. Όμως σε πολλούς μεσογειακούς πληθυσμούς που έχουν υιοθετήσει το μοντέρνο Δυτικό μοντέλο διατροφής η υψηλή κατανάλωση κεκορεσμένων λιπών έχει συνδεθεί με αύξηση του κινδύνου για καρκίνο στο μαστό¹³⁵. Αυτή η αλλαγή στις διατροφικές συνήθειες μπορεί να είναι μία από τις αιτίες της αύξησης της θνησιμότητας από νεοπλασίες που παρατηρείται τις τελευταίες δεκαετίες στην Νότια Ευρώπη¹³⁶. Δυστυχώς πρόσφατες έρευνες έχουν δείξει ότι τα τελευταία χρόνια οι νεαρές Κρητικοπούλες έχουν αρχίσει να ακολουθούν τα μοντέρνα διατροφικά πρότυπα με την μεγαλύτερη κατανάλωση λίπους και θερμίδων¹³⁷.

Επιπρόσθετα στα παραπάνω ευρήματα η ανάλυση των ευρημάτων ανάλογα με τη περιοχή διαμονής έδειξε ότι οι γυναίκες που ζουν στις πόλεις εμφανίζουν σε μεγαλύτερη συχνότητα κάποιους αναπαραγωγικούς παράγοντες κινδύνου για το καρκίνο του μαστού σε σχέση με τις γυναίκες της υπαίθρου. Οι αστές Κρητικές γεννάνε λιγότερα παιδιά σε μεγαλύτερη ηλικία, έχουν περισσότερες αποβολές και εκτρώσεις και χρησιμοποιούν συχνότερα από του στόματος αντισυλληπτικά. Παρόλα αυτά ο καρκίνος του μαστού δεν είναι πιο συχνός στις γυναίκες των πόλεων και αυτό μάλλον έχει να κάνει με τη ομοιογένεια του πληθυσμού στο νησί και το κοινό γενετικό του υπόβαθρο¹¹⁸. Επίσης είναι δύσκολο να εκτιμηθεί η βαρύτητα ενός παράγοντα μέσα σε ένα περιβάλλον με στενά και όμοια πολιτιστικά δεσμά¹³⁸. Πάντως όλες αυτές οι αλλαγές στο τρόπο ζωής δεν πρέπει να περνούν απαρατήρητες και η επίπτωση τους στην επίπτωση του καρκίνου του μαστού στα επόμενα χρόνια πρέπει να εκτιμηθεί πιο αναλυτικά στο μέλλον.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Εν κατακλείδι φαίνεται ότι μερικοί από τους πιο σημαντικούς παράγοντες κινδύνου για καρκίνο στο μαστό όπως η παχυσαρκία και η όψιμη ηλικία πρώτης κύησης διατηρούν την σημασία τους σε πληθυσμούς με χαμηλή συχνότητα της νόσου όπως είναι οι γυναίκες της Κρήτης. Αξιοσημείωτη είναι επίσης η προστατευτική επίδραση της κύησης ανεξάρτητα αποτελέσματος ιδιαίτερα στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Τέλος, από τη μελέτη προκύπτει

το ενδιαφέρον ερώτημα αν οι διαφαινόμενες αλλαγές στο τρόπο ζωής των Κρητικών γυναικών συμβάλλουν σε αύξηση της συχνότητας του καρκίνου του μαστού στο νησί στα χρόνια που έρχονται.

ΠΙΝΑΚΕΣ

ΠΙΝΑΚΑΣ 1. Χαρακτηριστικά των γυναικών της μελέτης.

Παράγοντες κινδύνου	Όλες οι γυναίκες (n=1031)				p value
	Περιπτώσεις (n=509)	(%)	Μάρτυρες (n=522)	(%)	
Ηλικία (κατά τη συνέντευξη)					
<= 40	38	7.5	42	8.0	0.872
41-49	106	20.8	103	19.7	
>50	355	71.7	377	72.2	
Τόπος διαμονής					
Αγροτικές περιοχές	240	47.2	264	50.6	0.272
Αστικές περιοχές	269	52.8	258	49.4	
Εμμηνορυσιακή κατάσταση					
Πέρι/Προεμμηνοπαυσιακές	136	26.7	142	27.2	0.861
Μετεμμηνοπαυσιακές	373	73.3	380	72.8	

Πίνακας 2. Σχετικός κίνδυνος (προτυποποιημένος για την ηλικία) για καρκίνο στο μαστό ανάλογα με την εμμηνορυσιακή κατάσταση.

Παράγοντες κινδύνου	Σύνολο γυναικών (n=1031)					Προεμμηνοπαυσιακές (n=278)					Μετεμμηνοπαυσιακές(n=753)				
	Περιπτώσεις (n=509)	Μάρτυρες (n=522)	OR ^a	95%CI	p value	Περιπτώσεις (n=136)	Μάρτυρες (n=142)	OR	95%CI	p value	Περιπτώσεις (n=373)	Μάρτυρες (n=380)	OR	95%CI	p value
Ηλικία 1^{ης} κύησης															
<20 έτη	86	146	1.00			31	53	1.00			55	93	1.00		
21-29	232	240	1.64	1.19-2.26	0.002	68	56	2.08	1.18-3.66	0.011	164	184	1.51	1.02-2.24	0.041
>30 έτη	81	62	2.22	1.45-3.39	<0.001	11	12	1.57	0.62-3.97	0.342	70	50	2.37	1.45-3.88	0.001
Αποβολές – εκτρώσεις															
Όχι	235	223	1.00			48	56	1.00			187	167	1.00		
Ναι	183	235	0.74	0.57-0.96	0.026	68	71	1.12	0.67-1.86	0.669	115	164	0.63	0.46-0.86	0.004
Δείκτης μάζας σώματος															
≤29kg/m ²	406	457	1.00			116	135	1.00			290	322	1.00		
>29kg/m ²	103	65	1.78	1.27-2.50	0.001	20	7	3.33	1.36-8.14	0.006	83	58	1.59	1.10-2.30	0.014
Χρήση αντισυλληπτικών															
Όχι	475	507	1.00			111	135	1.00			364	372	1.00		
Ναι	34	15	2.42	1.30-4.50	0.004	25	7	4.34	1.81-10.42	<0.001	9	8	1.15	0.44-3.01	0.776
Ηλικία εμμηναρχής															
≤12 έτη	198	143	1.68	1.29-2.17	<0.001	56	40	1.73	1.05-2.86	0.031	142	103	1.65	1.22-2.25	0.001
>12 έτη	311	376	1.00			80	99	1.00			231	277	1.00		
Τοκιμότητα															
ατεκνία	108	72	1.00			26	18	1.00			82	54	1.00		
1	53	57	0.62	0.38-1.00	0.049	8	17	0.33	0.12-0.92	0.030	45	40	0.74	0.43-1.28	0.282
2	178	183	0.65	0.45-0.93	0.019	57	54	0.73	0.36-1.48	0.730	121	129	0.62	0.40-0.94	0.025
>3	170	210	0.54	0.38-0.77	0.001	45	53	0.59	0.29-1.21	0.147	125	157	0.52	0.35-0.80	0.002
Θηλασμός															
Όχι	83	78	1.00			31	25	1.00			52	53	1.00		
Ναι	318	372	0.80	0.57-1.13	0.211	79	99	0.64	0.35-1.18	0.151	239	273	0.89	0.59-1.36	0.595
Καταστολή θηλασμού															
Όχι	363	405	1.00			88	98	1.00			275	307	1.00		
Ναι	38	45	0.94	0.60-1.48	0.797	22	26	0.94	0.50-1.78	0.855	16	19	0.94	0.47-1.86	0.860
Οικογενειακό ιστορικό															
Όχι	470	486	1.00			127	133	1.00			343	353	1.00		
Ναι	39	36	1.12	0.70-1.79	0.636	9	9	1.05	0.40-2.72	0.925	30	27	1.14	0.67-1.96	0.627

Πίνακας 2 , συνέχεια

Παράγοντες κινδύνου	Σύνολο γυναικών (n=1031)					Προεμμηνοπαυσιακές (n=278)					Μετεμμηνοπαυσιακές(n=753)				
	Περιπτώσεις (n=509)	Μάρτυρες (n=522)	OR*	95%CI	p value	Περιπτώσεις (n=136)	Μάρτυρες (n=142)	OR	95%CI	p value	Περιπτώσεις (n=373)	Μάρτυρες (n=380)	OR	95%CI	p value
Ηλικία															
εμμηνόπαυσης*															
<= 50	199	241	1.00								199	241	1.00		
> 50	171	139	1.49	1.11-2.00	0.007						171	139	1.49	1.11-2.00	0.007
Θ.Ο.Υ*															
Όχι	362	377	1.00								362	377	1.00		
Ναι	11	3	3.82	1.06-13.80	0.028						11	3	3.82	1.06-13.80	0.028
Ακτινοβολία στο θώρακα															
Όχι	490	508	1.00			133	141	1.00			357	367	1.00		
Ναι	19	14	1.41	0.70-2.84	0.338	3	1	3.18	0.33-30.96	0.293	16	13	1.27	0.60-2.67	0.536
Κατανάλωση ζωικού λίπους															
Όχι	422	426	1.00			109	114	1.00			313	312	1.00		
Ναι	87	96	0.92	0.66-1.30	0.585	27	28	1.01	0.56-1.82	0.978	60	68	0.88	0.60-1.29	0.509
Κατανάλωση καφεΐνης															
<2 φλυτζάνια/ημέρα	395	401	1.00			93	102	1.00			302	299	1.00		
>2 φλυτζάνια/ημέρα	114	117	0.99	0.74-1.30	0.942	43	40	1.18	0.71-1.97	0.530	71	77	0.91	0.64-1.31	0.620
Καλοήθης νόσος στο μαστό															
Όχι	435	74	1.00			116	120	1.00			319	318	1.00		
Ναι	438	84	0.89	0.63- 1.25	0.489	20	22	0.94	0.49-1.81	0.855	54	62	0.87	0.58-1.29	0.485

*Μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες μόνο. Θ.Ο.Υ:θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης
 & OR, odds ratio, σχετικός κίνδυνος, **Έντονα στοιχεία:** στατιστικά σημαντικά.

ΠΙΝΑΚΑΣ 3 . Παράγοντες που αυξάνουν στατιστικά σημαντικά το σχετικό κίνδυνο για καρκίνο του μαστού σύμφωνα με την εμμηνορυσιακή κατάσταση (πολυπαραγοντική ανάλυση)

Παράγοντες	OR*	95% CI*	p value
<u>Σύνολο γυναικών</u>			
Αποβολές (θετικό ιστορικό)	0.57	0.41-0.80	0.001
ΔΜΣ >29 kg/m ²	1.97	1.32-2.95	0.001
Ηλικία 1 ^{ης} κύησης <= 20	1.00		
Ηλικία 1 ^{ης} κύησης 21-29	1.53	1.02-2.29	0.038
Ηλικία 1 ^{ης} κύησης >30	2.45	1.48-4.06	<0.001
<u>Προεμμηνοπαυσιακές</u>			
Χρήση OC** (ever)	4.55	1.65-12.51	0.003
ΔΜΣ >29 kg/m ²	4.17	1.52-11.48	0.006
Ηλικία 1 ^{ης} κύησης <= 20	1.00		
Ηλικία 1 ^{ης} κύησης 21-29	2.52	1.37-4.64	0.003
<u>Μετεμμηνοπαυσιακές</u>			
Αποβολές (θετικό ιστορικό)	0.58	0.42-0.80	0.001
ΔΜΣ >29 kg/m ²	1.96	1.31-2.94	0.001
Ηλικία 1 ^{ης} κύησης <= 20	1.00		
Ηλικία 1 ^{ης} κύησης 21-29	1.54	1.03-2.30	0.037
Ηλικία 1 ^{ης} κύησης >30	2.45	1.49-4.06	<0.001

προτυποποιημένα για τους εξής παράγοντες: ηλικία, καλοήγη νόσο στο μαστό, οικογενειακό ιστορικό, αποβολές, θηλασμός, καταστολή θηλασμού, χρήση αντισυλληπτικών, χρήση Θ.Ο.Υ, ακτινοβολία στο θώρακα, κατανάλωση καφεΐνης, ζωικού λίπους, ΔΜΣ, ηλικία εμμηναρχής, ηλικία πρώτης κύησης και τοκιμότητα.

* OR, odds ratio; CI, confidence interval, διαστήματα εμπιστοσύνης.

** OC, oral contraceptives, αντισυλληπτικά από του στόματος.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4. Παράγοντες που αυξάνουν στατιστικά σημαντικά το σχετικό κίνδυνο για καρκίνο του μαστού σύμφωνα με την εμμηνουρσιακή κατάσταση και την ηλικία (πολυπαραγοντική ανάλυση)

	Προεμμηνοπαυσιακές ≤45 ετών (περιπτώσεις/μάρτυρες, n= 70/75)			Προεμμηνοπαυσιακές >45 ετών (περιπτώσεις/μάρτυρες, n= 66/67)			μετεμμηνοπαυσιακές >45 ετών (περιπτώσεις/μάρτυρες, n= 368/375)		
	<i>p</i> value &	OR	95%CI	<i>p</i> value &	OR [#]	95%CI	<i>p</i> value &	OR	95%CI
Ένα παιδί*	0.006	0.11	0.02- 0.53	ΜΣ	0.63	0.11- 3.76	ΜΣ	1.26	0.73- 2.16
Ηλικία 1^{ης} κύησης 21-29 ετών*	0.060	2.61	0.96- 7.13	0.026	3.25	1.15- 9.17	0.032	1.58	1.04- 2.41
Ηλικία 1^{ης} κύησης >30 ετών*	ΜΣ	2.32	0.51- 10.66	ΜΣ	1.98	0.34- 11.41	0.003	2.23	1.32- 3.78
Χρήση αντισυλληπτι- κών (ναι)	0.060	4.67	0.94- 23.24	0.050	6.48	1.00- 41.86	ΜΣ	1.71	0.56- 5.23
Θηλασμός (ναι)	ΜΣ	1.42	0.51- 4.00	0.059	0.32	0.01- 1.04	ΜΣ	1.02	0.64- 1.63
ΔΜΣ >29 kg/m²	ΜΣ	2.24	0.30- 16.90	0.023	4.98	1.25- 19.76	0.004	1.87	1.23- 2.86
Αποβολές (ναι)	ΜΣ	0.94	0.39- 2.30	ΜΣ	0.63	0.25- 11.58	0.002	0.59	0.41- 0.83

[#] προτυποποιημένα για τους εξής παράγοντες: ηλικία, καλοήγη νόσο στο μαστό, οικογενειακό ιστορικό, αποβολές, θηλασμός, καταστολή θηλασμού, χρήση αντισυλληπτικών, χρήση Θ.Ο.Υ, ακτινοβολία στο θώρακα, κατανάλωση καφεΐνης, ζωικού λίπους, ΔΜΣ, ηλικία εμμηναρχής, ηλικία πρώτης κύησης και τοκιμότητα.

*ατεκνία και ηλικία 1^{ης} κύησης ≤20 years θεωρήθηκαν σαν κατηγορίες αναφοράς (OR =1.00), κατ' αναλογία.

[&]έντονα στοιχεία = στατιστικά σημαντικό (p value ≤ 0.05), πλάγια στοιχεία =οριακής σημαντικότητας, ΜΣ= μη σημαντικό.

ΠΙΝΑΚΑΣ 5. Κατανομή των γυναικών κατά το τόπο διαμονής και τους παράγοντες κινδύνου για καρκίνο στο μαστό.

Παράγοντες κινδύνου	Υπαιθρος (n=504)	%	Πόλεις (n=527)	%	p value
Εμμηνορρυσιακή κατάσταση					
Πέρι/Προεμμηνοπαυσιακές	97	19.2	181	34.3	
Μετεμμηνοπαυσιακές	407	80.8	346	65.7	<0.001
Ηλικία (κατά τη συνέντευξη)					
≤50	106	21	183	34.7	
>50	398	79	344	65.3	<0.001
Ηλικία 1^{ης} κήσης					
<20	126	30.1	106	24.8	
21-29	238	56.8	234	54.7	
>30	55	13.1	88	20.6	0.010
Αποβολές -εκτρώσεις					
Όχι	257	59.2	201	45.5	
Ναι	177	40.8	241	54.5	<0.001
Δείκτης Μάζας Σώματος					
<28	416	82.5	447	84.8	
>29	88	17.5	80	15.2	ΜΣ
Χρήση αντισυλληπτικών					
Όχι	491	97.4	491	93.2	
Ναι	13	2.6	36	6.8	0.001
Ηλικία εμμηναρχής					
≤12	153	30.4	188	35.8	
>12	350	69.6	337	64.2	ΜΣ
Τοκιμότητα					
ατεκνία	82	16.3	98	18.6	
1	51	10.1	59	11.2	
2	161	31.9	200	38.0	
3 συν	210	41.7	170	32.3	0.019
Θηλασμός					
Όχι	68	16	93	21.7	
Ναι	354	84	336	78.3	0.038
Καταστολή θηλασμού					
Όχι	397	94.1	371	86.5	
Ναι	25	5.9	58	13.5	<0.001
Οικογενειακό ιστορικό (1^{ου} βαθμού συγγενής)					
Όχι	457	90.7	499	94.7	
Ναι	47	9.3	28	5.3	0.013

Πίνακας 5, συνέχεια

Ηλικία						
εμμηνόπαυσης*						
	<= 50	239	58.8	202	58.6	
	> 50	167	41.2	143	41.4	MΣ
Χρήση οιστρογόνων						
(Θ.Ο.Υ)* &						
	Όχι	493	97.8	517	98	
	Ναι	11	2.2	10	2	MΣ
Κατανάλωση ζωικού						
λίπους						
	Όχι	390	77.4	458	86.9	
	Ναι	114	22.6	69	13.1	<0.001
Κατανάλωση						
καφεΐνης						
	<2 φλυτζάνια/ημέρα	419	83.6	377	71.7	
	>2 φλυτζάνια/ημέρα	82	16.4	149	28.3	< 0.001

* Αφορούν μόνο τις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες.

& Θ.Ο.Υ , Θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης. MΣ, μη σημαντικό.

ΜΕΛΕΤΗ 2

Η ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΩΝ
ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΓΙΑ
ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ ΜΕ ΤΗΝ
ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΤΟΥ
ΟΓΚΟΓΟΝΙΔΙΟΥ HER-2/*neu* ΣΤΙΣ
ΓΥΝΑΙΚΕΣ ΤΗΣ ΚΡΗΤΗΣ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός: Η κατάταξη των όγκων του μαστού βάσει της υπερέκφρασης ή όχι του HER-2/*neu* μπορεί να καθορίσει μια υποομάδα καρκινοπαθών στην οποία μπορεί να είναι πιο εύκολο να μετρηθεί το μέγεθος της επίδρασης των παραγόντων κινδύνου στη καρκινογένεση στο μαστό. Σκοπός της μελέτης είναι να εξετάσει εάν οι Κρητικές γυναίκες που έχουν όγκο στο μαστό με υπερέκφραση πρωτεΐνης HER-2/*neu* συνδέονται με κάποιο από τους γνωστούς παράγοντες κινδύνου για καρκίνο του μαστού, και να αναγνωρίσει υποομάδες γυναικών οι οποίες ήταν σε αυξημένο κίνδυνο για καρκίνο στο μαστό.

Ασθενείς και Μέθοδοι: Περιλήφθηκαν 384 γυναίκες με πρωτοπαθή διηθητικό καρκίνο του μαστού και για σύγκριση επιλέχτηκε με τυχαιοποίηση ένα δείγμα 566 γυναικών προτυποποιημένο κατά την ηλικία. Ο ανοσοιστοχημικός προσδιορισμός της υπερέκφρασης της HER-2/*neu* ογκοπρωτεΐνης και των ορμονικών υποδοχέων έγινε με μονοκλωνικά αντισώματα. Έγινε ανάλυση με τη δοκιμασία χ^2 και πολυπαραγοντική ανάλυση που περιλάμβανε τη διαστρωμάτωση του δείγματος ανάλογα την εμμηνορυσιακή κατάσταση και την παρουσία ή όχι οιστρογονικών υποδοχέων.

Αποτελέσματα: Στη πολυπαραγοντική ανάλυση (*multivariate analysis*) των μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών αλλά και στο σύνολο του δείγματος η σύγκριση μεταξύ των HER-2/*neu* θετικών και αρνητικών γυναικών έδειξε μια θετική συσχέτιση της παχυσαρκίας (Δείκτης Μάζας Σώματος $>29 \text{ kg/m}^2$) με τους HER-2/*neu* + όγκους ($p=0.011$). Στις γυναίκες με αρνητικούς υποδοχείς οιστρογόνων αν και ο ΔΜΣ $>29 \text{ kg/m}^2$ αύξανε το κίνδυνο και στις δύο ομάδες η απευθείας σύγκριση μεταξύ των HER-2/*neu* θετικών και αρνητικών όγκων έδειξε μια στατιστικά σημαντική συσχέτιση με τους πρώτους (OR=2.46, 95%CI: 0.97-6.21) πάλι.

Συμπεράσματα: Η μελέτη δεν επιβεβαίωσε ότι η συχνότητα των καθιερωμένων ή πιθανών, ορμονοεξαρτώμενων και μη, παραγόντων κινδύνου εμφάνισης καρκίνου του μαστού διαφέρει ανάλογα με τη παρουσία της HER-2/*neu* ογκοπρωτεΐνης, με εξαίρεση τη παχυσαρκία. Απαιτούνται περαιτέρω μελέτες με μεγαλύτερα μεγέθη δειγμάτων για να εξετάσουν πώς αυτοί οι ενδεχομένως τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου του μαστού αλληλεπιδρούν με τους βιολογικούς μοριακούς δείκτες όπως την HER-2/*neu* ογκοπρωτεΐνη.

ΣΚΟΠΟΣ-ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το ογκογονίδιο HER-2/*neu* γνωστό επίσης και ως c-erb-b2, c-neu ή ERBB2, εδράζεται στο χρωμόσωμα 17q11.2-12 και κωδικοποιεί μια γλυκοπρωτεΐνη που είναι παρόμοια με τον υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR)¹³⁹. Η ενίσχυση του ογκογονιδίου αυτού συνήθως συνεπάγεται και την υπερέκφραση της αντίστοιχης ογκοπρωτεΐνης και ανευρίσκεται στο 15-40% των όγκων στο μαστό¹³⁹⁻¹⁴⁷.

Η διεθνής βιβλιογραφία βρίθει μελετών οι οποίες καταδεικνύουν το πολλά υποσχόμενο ρόλο του HER-2/*neu* σαν προγνωστικό και προβλεπτικό παράγοντα στο καρκίνο του μαστού. Η ανεύρεση του στα καρκινικά κύτταρα έχει συνδεθεί με γρήγορη υποτροπή, μειωμένη επιβίωση και αντίσταση σε ορισμένα χημειοθεραπευτικά σχήματα^{140,148}. Από την άλλη μεριά η παρατήρηση ότι παρόμοιοι μορφολογικά όγκοι του μαστού εμφανίζουν διαφορετική βιολογική συμπεριφορά, έχει καταστήσει απαραίτητο τον προσδιορισμό βιολογικών δεικτών όπως το HER-2/*neu*, οι οποίοι μπορούν να βοηθήσουν αποφασιστικά στην εκτίμηση του κινδύνου (risk assessment) για καρκίνο στο μαστό¹⁴⁹. Μελέτες έδειξαν ότι οι μεταλλάξεις στο ογκογονίδιο αυτό εμπλέκονται από πολύ νωρίς στη καρκινογένεση στο μαστό ενώ η παρουσία του παραμένει συνεχής σαν αυτοκόλλητο σε όλα τα στάδια ανάπτυξης του όγκου από το *in situ* ως τις μεταστατικές εστίες¹⁵⁰. Εξαιτίας αυτών των παρατηρήσεων κάποιοι ερευνητές υποστήριξαν την άποψη ότι η υπερέκφραση είτε του γονιδίου είτε της πρωτεΐνης του, ίσως να είναι πιο αντιπροσωπευτικός δείκτης της αιτιολογικής ετερογένειας του καρκίνου του μαστού, παρά της πορείας και της πρόγνωσης του^{141,145-147}.

Παράλληλα, παραμένει αδιευκρίνιστη η συνεισφορά και η αιτιολογική συσχέτιση με την καρκινογένεση στο μαστό όλων σχεδόν των γνωστών και πιθανών παραγόντων κινδύνου που έχουν μελετηθεί. Κύριος λόγος για αυτό, πέρα από μεθοδολογικά προβλήματα είναι η ύπαρξη πολλών διαφορετικών δρόμων που οδηγούν στην έναρξη της κακοήθους εξαλλαγής και στη περαιτέρω ανάπτυξη του όγκου¹⁵¹. Έτσι, κάποιοι ερευνητές σκέφθηκαν ότι ίσως η κατάταξη των όγκων βάσει της υπερέκφρασης ή όχι του HER-2/*neu* μπορεί να καθορίσει μια υποομάδα καρκινοπαθών στην οποία μπορεί να είναι πιο εύκολο να μετρηθεί το μέγεθος της

επίδρασης των παραγόντων κινδύνου στη καρκινογένεση στο μαστό^{141,145,146}. Από τα παραπάνω θα μπορούσε να υποθέσει κανείς, ότι μια στενή σχέση μεταξύ ενός παράγοντα κινδύνου με τους όγκους που είναι HER-2/*neu* θετικοί μπορεί να σημαίνει ότι, είτε η μετάλλαξη του ογκογονιδίου άνοιξε το δρόμο για να επιδράσει ο παράγων στη ογκογενετική διαδικασία είτε η δράση και των δύο είναι συνεργική και χρονικά παράλληλη και οδήγησε στη έναρξη σχηματισμού του όγκου και στην περαιτέρω ανάπτυξη του.

Επειδή οι μελέτες που έχουν διενεργηθεί για να αποδείξουν τις παραπάνω υποθέσεις είναι λίγες και με αντικρουόμενα αποτελέσματα, κάναμε αυτή τη μελέτη που σκοπό έχει **α)** να εξετάσει εάν οι Κρητικές γυναίκες που έχουν όγκο στο μαστό με υπερέκφραση της HER-2/*neu* πρωτεΐνης συνδέονται με κάποιο από τους γνωστούς παράγοντες κινδύνου για καρκίνο του μαστού, και **β)** να αναγνωρίσει κάποιες υποομάδες γυναικών οι οποίες ήταν σε αυξημένο κίνδυνο για καρκίνο στο μαστό.

ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΕΣ

Από τις πεντακόσιες εννιά γυναίκες (**509**) με πρωτοπαθή διηθητικό καρκίνο στο μαστό που περιληφθήκαν στη πρώτη μελέτη, εξετάστηκαν οι **384**. Στις γυναίκες αυτές έγινε ο ανοσοϊστοχημικός προσδιορισμός της ογκοπρωτεΐνης HER-2/*neu* και των ορμονικών υποδοχέων.

Για σύγκριση επιλέχθηκε ένα δείγμα 566 γυναικών στρωματοποιημένο κατά την ηλικία από το σύνολο των γυναικών χωρίς κακοήθεια που εξετάστηκαν στο ιατρείο μαστού την ίδια χρονική περίοδο. Καμιά από αυτές τις γυναίκες δεν εμφάνισαν κακοήθεια στο στήθος κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης τους η οποία κατά μέσο όρο έφθανε τους 40 μήνες (από 12 έως 92 μήνες).

Στη παρούσα μελέτη αναλύθηκαν οι παρακάτω μεταβλητές βάσει συγκεκριμένων διακριτών τιμών που προέκυψαν από τη διεθνή βιβλιογραφία και συνήθη πρακτική: περιοχή διαμονής (αγροτική, αστική), ηλικία κατά τη συνέντευξη (≤ 50 , > 50 ετών), ηλικία εμμηναρχής (≤ 12 , > 12 ετών), ηλικία πρώτης τελειόμηνης εγκυμοσύνης (< 23 , ≥ 23 ετών), τοκιμότητα (ατεκνία, 1,2 και > 3 παιδιά), θηλασμός (ναι, όχι), χρήση ορμονών για καταστολή του θηλασμού

(ναι, όχι), αποβολές ή και εκτρώσεις (ναι, όχι), ηλικία εμμηνόπαυσης (≤ 50 , >50 ετών), χρήση θεραπείας ορμονικής υποκατάστασης (ναι, όχι), χρήση αντισυλληπτικών δισκίων (ναι, όχι), ιστορικό καλοήθους νόσου στο μαστό (ναι, όχι), οικογενειακό ιστορικό καρκίνου στο μαστό (ναι, όχι), σωματικό βάρος κατά την ημέρα της συνεντεύξεως (Δείκτης Μάζας Σώματος ≤ 29 kg/m², ΔΜΣ >29 kg/m²), και ιστορικό ακτινοβολίας στο θώρακα (ναι, όχι). Ως μετεμμηνοπαυσιακές θεωρήθηκαν οι γυναίκες οι οποίες ήταν σε εμμηνόπαυση (φυσική ή τεχνητή) περισσότερο από 10 μήνες ενώ οι γυναίκες που δεν είχαν περίοδο για λιγότερο από 10 μήνες κατά την ημέρα της συνεντεύξεως χαρακτηρίστηκαν ως περιεμμηνοπαυσιακές και περιλήφθηκαν με τις προεμμηνοπαυσιακές στην ανάλυση.

Ανοσοιστοχημική ανάλυση

1. HER-2/neu ογκοπρωτεΐνη

Ο ανοσοιστοχημικός προσδιορισμός της υπερέκφρασης της HER-2/neu ογκοπρωτεΐνης έγινε με το μονοκλωνικό αντίσωμα CB11 (NCL-CB11, Novocastra Laboratories, UK 12 8EW), σε διάλυση 1/50 με περίοδο επώασης τα 60 λεπτά. Η όλη διαδικασία πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του αυτόματου συστήματος OPTIMAX (μαζί με το Super Sensitive Link-Label Detection System RTU Multilink AP/Fast Red, QA2000XE από την εταιρεία BioGenex Laboratories, San Ramon CA 94583 USA) αφού προηγήθηκε προετοιμασία με μικροκύματα στα 500 Watts για 3X5 λεπτά σε διάλυμα κιτρικού (0.01 M, pH 6). Τμήματα από όγκους του μαστού με γνωστή υπερέκφραση HER-2/neu ογκοπρωτεΐνης χρησιμοποιήθηκαν ως θετικοί μάρτυρες, ενώ οι αρνητικοί προήλθαν από τη χρήση μη-άνοσου ορού αντί για το αντίσωμα. Η κατηγοριοποίηση (Scoring) βασίστηκε στα κριτήρια που συστήνει η DAKO A/S για το HercepTest¹⁵².

Βαθμολογήθηκε η ένταση και η μορφή pattern της χρώσης της μεμβράνης των καρκινικών κυττάρων χρησιμοποιώντας τη κλίμακα 0-3+: αρνητικά θεωρήθηκαν τα σκορ 0-1+ ,ασθενώς θετικά τα σκορ 2+ (απαιτείται η χρήση FISH σε αυτά), και ισχυρώς θετικά τα δείγματα με σκορ 3+.

2. Οιστρογονικοί και προγεστερονικοί υποδοχείς

Τμήματα πάχους 3 μm στρωμένα σε αρνητικά φορτισμένα πλακάκια καθαρίστηκαν με ξυλένη και ενυδατώθηκαν με αλκοόλη. Αφού προηγήθηκε προετοιμασία με μικροκύματα στα 500 Watts για 3X5 λεπτά σε διάλυμα κιτρικού (0.01 M, pH 6) η έκφραση των οιστρογονικών (ERa) και προγεστερονικών υποδοχέων (PR) εξετάστηκε με την ίδια ανοσοιστοχημική μέθοδο που αναφέρθηκε παραπάνω χρησιμοποιώντας τα μονοκλωνικά αντισώματα (DAKO M7047) για τους οιστρογονικούς υποδοχείς και (Biogenex code # MU 328-UC) για τους προγεστερονικούς υποδοχείς σε διαλύσεις 1/50 και 1/20 αντίστοιχα μετά από μια περίοδο επώασης 60 λεπτών σε θερμοκρασία δωματίου. Οι θετικοί και οι αρνητικοί μάρτυρες προήλθαν με την ίδια διαδικασία που αναφέρθηκε παραπάνω.

Η καταμέτρηση των θετικών πυρήνων έγινε με τελική μεγέθυνση 400X (μικροσκόπιο: Teaching double-headed NICON, ECLIPSE E400 εφοδιασμένο με CFI 10X22 oculars) αφού πρώτα προηγήθηκε ανίχνευση με μεγέθυνση 100X για να εντοπιστούν οι περιοχές (hot spots) με τα καρκινικά κύτταρα με την μεγαλύτερη ένταση χρώσης για ER+ και PR+ θετικούς πυρήνες.

Όλα τα καρκινικά κύτταρα σε 3 πεδία παρατήρησης με την υψηλότερη ένταση χρώσης (hot spots) εξετάζονταν ταυτόχρονα από δύο παθολογοανατόμους και καταγράφονταν ο λόγος των ER και PR θετικών πυρήνων ξεχωριστά. Ο μέσος όρος των δυο ανεξαρτήτων μετρήσεων θεωρήθηκε ως η τελική τιμή για κάθε πεδίο. Ως τελικός δείκτης ανοσοαντιδραστικότητας (σκορ) θεωρήθηκε η μέση τιμή του ποσοστού αναλογίας των ER και PR θετικών πυρήνων των καρκινικών κυττάρων στο σύνολο των πεδίων (hot spots). Η ένταση της χρώσης χαρακτηρίστηκε ως αρνητική (0), ασθενής (1+) , μεσαία (2+) και ισχυρή (3+). Σε δείγματα όπου η ένταση της χρώσης ήταν διαφορετική από πεδίο σε πεδίο ορίστηκε ως τελική τιμή ο μέσος όρος. Τελικά, ως θετικά για οιστρογονικούς ή προγεστερονικούς υποδοχείς θεωρήθηκαν τα δείγματα των οποίων το 10% τουλάχιστον των πυρήνων των καρκινικών κυττάρων εμφάνιζαν ένταση χρώσης από 1+ ως 3+.

Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική δοκιμασία χ^2 χρησιμοποιήθηκε για να υπολογιστεί ο σχετικός κίνδυνος και τα διαστήματα εμπιστοσύνης που δείχνουν το βαθμό συσχέτισης των διαφόρων ομάδων των γυναικών με και χωρίς κακοήθεια. Τιμές του $p < 0.05$ θεωρήθηκαν ως στατιστικά σημαντικές. Εν συνεχεία έγινε περαιτέρω πολυπαραγοντική ανάλυση, «*stepwise logistic regression analysis (backward LR)*», για να αποκλειστούν οι συγχυτικοί παράγοντες και να εκτιμηθεί η ανεξάρτητη επίδραση των παραγόντων κινδύνου στις ασθενείς με κακοήθεια ανάλογα με τη παρουσία ή όχι του HER-2/*neu*. Η περαιτέρω ανάλυση περιλάμβανε τη διαστρωμάτωση του δείγματος ανάλογα την εμμηνορρυσιακή κατάσταση και την παρουσία ή όχι οιστρογονικών υποδοχέων.

Οι ανωτέρω σχετικοί κίνδυνοι που προκύπτουν από την σύγκριση των ασθενών με καρκίνο με τις μάρτυρες (case-controls odds ratios) βοηθούν να καθορίσουμε το μοντέλο της ετερογένειας και των πιθανών αιτιολογικών συσχετίσεων στις υποομάδες που σχηματίζονται από τη κατανομή των παραγόντων κινδύνου. Επιπρόσθετα, υπολογίσθηκαν οι σχετικοί κίνδυνοι που προκύπτουν από τη απευθείας σύγκριση των ασθενών (case-case odds ratios) μεταξύ τους και οι οποίοι δείχνουν (και μετρούν άμεσα) την ετερογένεια του κινδύνου μεταξύ των HER-2/*neu* θετικών και HER-2/*neu* αρνητικών όγκων. Φαίνεται μάλιστα ότι η απόσταση από τη μονάδα (1.00) του σχετικού κινδύνου είναι μια αναλογική απευθείας μέτρηση της ετερογένειας του κινδύνου για καρκινογένεση στο μαστό μεταξύ των δύο υποομάδων¹⁵³.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στο **πίνακα 1** παρουσιάζονται τα χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων στη μελέτη. Η μέση ηλικία των ασθενών ήταν τα 56.3 έτη. Η σύγκριση των ασθενών με τις μάρτυρες και μετά την απομάκρυνση των συγχυτικών παραγόντων έδειξε αυξημένο κίνδυνο για καρκίνο του μαστού στις γυναίκες που ανέφεραν: χρήση αντισυλληπτικών δισκίων (OR=4.40, 95%C.I: 1.46-13.48), θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης (OR=7.34, 95%C.I: 2.03-26.53), ηλικία 1^{ης} κύησης πάνω από τα 23 έτη (OR=1.91, 95%C.I: 1.29-2.83) και Δείκτη μάζας σώματος (ΔΜΣ) μεγαλύτερο από 29 kg/m² (OR=3.13, 95%C.I: 2.03-4.84). Αντίθετα προστασία παρείχε η

ύπαρξη αποβολών ή εκτρώσεων στο ιστορικό (OR=0.56, 95%C.I: 0.38-0.82). Πρέπει πάντως να επισημανθεί ότι ο αριθμός των χρηστριών αντισυλληπτικών και θεραπείας ορμονικής υποκατάστασης είναι πολύ μικρός για να δώσει αξιόπιστα αποτελέσματα (για αυτό και τόσο ευρεία διαστήματα εμπιστοσύνης).

Τα χαρακτηριστικά των όγκων ανάλογα με την υπερέκφραση ή όχι της HER-2/neu ογκοπρωτεΐνης παρουσιάζονται στο **πίνακα 2**. Το 38% (145/378) των όγκων εμφάνισε υπερέκφραση της HER-2/neu ογκοπρωτεΐνης. Οι HER-2/neu+ όγκοι δεν σχετίζονταν με την εμμηνορυσιακή κατάσταση, την ηλικία το μέγεθος το στάδιο ή το βαθμό κακοήθειας του όγκου, την ύπαρξη διηθημένων λεμφαδένων και οιστρογονικών υποδοχέων. Η μόνη συσχέτιση είχε να κάνει με τους όγκους με αρνητικούς προγεστερονικούς υποδοχείς ($p=0.038$).

Στο **πίνακα 3** παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της πολυπαραγοντικής ανάλυσης των παραγόντων κινδύνου σε σχέση με τους HER-2/neu θετικούς και αρνητικούς ασθενείς ανάλογα με την εμμηνορυσιακή κατάσταση και σε σύγκριση με τους μάρτυρες.

Οι προεμμηνοπαυσιακές HER-2/neu + γυναίκες ήταν σε ελαφρά αυξημένο κίνδυνο σε σύγκριση με τους μάρτυρες μόνο αν είχαν ηλικία εμμηναρχής <12 ετών (OR=2.09, 95%C.I: 0.99-4.42) ενώ αντίθετα η ηλικία πρώτης κύησης >23 έτη, ο ΔΜΣ >29, το οικογενειακό ιστορικό και η χρήση αντισυλληπτικών αύξανε το κίνδυνο για HER-2/ neu – όγκους σε αυτή την υποομάδα. Παράλληλα, η απευθείας σύγκριση μεταξύ HER-2/ neu + και HER-2/ neu – γυναικών έδειξε ότι οι HER-2/neu + γυναίκες που είχαν κάνει έστω και μία αποβολή ήταν σε αυξημένο κίνδυνο ενώ αντίθετα οι γυναίκες που είχαν κάνει χρήση αντισυλληπτικών δισκίων ($p =0.007$) ή είχαν θετικό οικογενειακό ιστορικό ($p=0.035$) ανέπτυσαν όγκους που δεν εκφράζανε τον HER-2/neu υποδοχέα.

Όσον αφορά τα αποτελέσματα στην υποομάδα των μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών αυτά ταυτίζονται με το σύνολο των γυναικών. Πιο συγκεκριμένα η ηλικία 1^{ης} κύησης > 23 ετών ($p=0.008$) και ο ΔΜΣ >29 kg/m² ($p<0.001$) αύξανε τον κίνδυνο για καρκίνο του μαστού και στις δύο ομάδες, ενώ οι γυναίκες που είχαν κάνει έκτρωση ή αποβολή διέτρεχαν μικρότερο κίνδυνο ($p =0.016$) ανεξάρτητα από τη έκφραση η όχι του HER-2/neu σε σύγκριση πάντα με

τους μάρτυρες. Η μη- έκφραση του HER-2/*neu* υποδοχέα συνδέονταν επιπλέον με τη παρουσία τεσσάρων ακόμα παραγόντων: τη χρήση αντισυλληπτικών (OR=6.47, 95%CI: 1.88-22.16), θεραπείας ορμονικής υποκατάστασης (OR=10.70, 95%CI: 2.71-42.31), το οικογενειακό ιστορικό (OR=2.23, 95%CI: 1.08-4.63) και την πρόωμη ηλικία εμμηναρχίας (<12 έτη) (OR=1.72, 95%CI: 1.07-2.75). Τέλος, στη σύγκριση μεταξύ των HER-2/*neu* θετικών και αρνητικών γυναικών φαίνεται μια στατιστικά σημαντική συσχέτιση του ΔΜΣ >29 kg/m² με τους HER-2/*neu* + όγκους (p=0.011) ενώ η αρνητική σχέση της ηλικίας εμμηναρχίας <12 ετών με τους HER-2/*neu* + όγκους που φάνηκε στη προηγούμενη ανάλυση έχει χάσει την σημαντικότητά της, (p=0.067). Επιπρόσθετα, η σημαντικότητα των άλλων παραγόντων όπως της χρήσης οιστρογόνων είναι περιορισμένη λόγω του πολύ μικρού αριθμού ασθενών με αποτέλεσμα να υπάρχουν επικαλυπτόμενα και πολύ ευρεία διαστήματα εμπιστοσύνης.

Η πολυπαραγοντική ανάλυση με περαιτέρω διαστρωμάτωση βάσει της έκφρασης η μη οιστρογονικών υποδοχέων φαίνεται στο **πίνακα 4**. Στην ομάδα των γυναικών με θετικούς υποδοχείς οιστρογόνων, μειωμένο κίνδυνο διέτρεχαν αυτές που είχαν κάνει έκτρωση ή αποβολή ανεξάρτητα από το HER-2/*neu*, ενώ η απευθείας σύγκριση μεταξύ των ασθενών ανάλογα με το HER-2/*neu* δεν αποκάλυψε καμία συσχέτιση. Αντίθετα στις γυναίκες με αρνητικούς υποδοχείς οιστρογόνων αν και ο ΔΜΣ >29 kg/m² αύξανε το κίνδυνο και στις δύο ομάδες, η απευθείας σύγκριση μεταξύ των HER-2/*neu* θετικών και αρνητικών όγκων έδειξε μια στατιστικά σημαντική συσχέτιση με τους πρώτους (OR=2.46, 95%CI: 0.97-6.21) επιβεβαιώνοντας τη στενή σχέση της παχυσαρκίας με την εμφάνιση HER-2/*neu* θετικών όγκων. Στην ίδια ομάδα η εμφάνιση HER-2/*neu* αρνητικών όγκων συνδέθηκε με τη παρουσία θετικού οικογενειακού ιστορικού (OR=2.72 95%CI:1.05-7.07), ηλικία εμμηνόπαυσης άνω των 50 ετών (OR=2.05, 95%CI: 1.10-3.79) και την τοκμότητα (OR=2.38, 95%CI: 1.21-4.67).

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η μελέτη αυτή, η οποία πραγματοποιήθηκε σε ένα Μεσογειακό πληθυσμό με χαμηλή¹¹⁸ για τα Ευρωπαϊκά δεδομένα επίπτωση του καρκίνου του μαστού, βρήκε ότι η παχυσαρκία αυξάνει το κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου στο μαστό με υπερέκφραση της ογκοπρωτεΐνης του

γονιδίου HER-2/*neu*. Στη πραγματικότητα η παχυσαρκία αύξανε τον κίνδυνο για καρκίνο του μαστού ανεξάρτητα από το HER-2/*neu* αλλά η σχέση αυτή ήταν πιο δυνατή για τους θετικούς HER-2/*neu* όγκους.

Πολύ λίγες μελέτες έχουν μέχρι τώρα εξετάσει τη πιθανότητα η παρουσία του HER-2/*neu* να μπορεί να διακρίνει υποομάδες ασθενών με διαφορετικό αιτιολογικό προφίλ και καμία από αυτές δεν έδειξε κάποια σχέση μεταξύ της παχυσαρκίας και των HER-2/*neu* θετικών όγκων^{141,145-147}. Επιπλέον μία εξ αυτών έδειξε απολύτως καμία συσχέτιση με οποιαδήποτε παράγοντα κινδύνου όσον αφορά ασθενείς με αρνητικούς λεμφαδένες¹⁴³.

Πιο συγκεκριμένα ενώ σε δύο μελέτες φάνηκε μια θετική σχέση της πρώιμης ηλικίας πρώτης κύησης με τους HER-2/*neu* θετικούς όγκους εμείς βρήκαμε αυξημένο κίνδυνο με τη όψιμη ηλικία ανεξάρτητα από την ύπαρξη του HER-2/*neu*. Παρόμοια δεν επιβεβαιώσαμε την αντίστροφη σχέση μεταξύ αποβολών και θετικών HER-2/*neu* όγκων αφού η σχέση αυτή στη δική μας μελέτη ίσχυε μεν αλλά ανεξάρτητα δε από το HER-2/*neu*^{141,145}.

Δεν επιβεβαιώθηκε επίσης εδώ, η αύξηση του κινδύνου για θετικούς HER-2/*neu* όγκους με τη χρήση αντισυλληπτικών δισκίων αλλά στο δικό μας πληθυσμό η χρήση τέτοιων δισκίων ήταν ελάχιστη^{145,146}. Η ασθενώς προστατευτική επίδραση της τοκιμότητας στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες που είχε φανεί στην αρχική ανάλυση εξαφανίστηκε στη παλίνδρομη χωρίς να υπάρχει καμία συσχέτιση με τη παρουσία του HER-2/*neu* όπως είχε δειχτεί αλλού¹⁴⁵. Επίσης αν και το 80% του πληθυσμού μας θήλασε δεν βρέθηκε καμία σχέση με το HER-2/*neu* ενώ και τα αποτελέσματα άλλων μελετών είναι αντικρουόμενα μεταξύ τους^{141,147}.

Αυτές οι διαφορές με τις προηγούμενες μελέτες μπορεί να οφείλονται σε διάφορους λόγους όπως είναι ο σχεδιασμός και η μεθοδολογία, ο πληθυσμός της μελέτης και οι εργαστηριακές μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν. Όμως, η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε εδώ, (ανοσοιστοχημεία με το μονοκλωνικό αντίσωμα CB11) είναι εξίσου ικανή στην ανίχνευση, είτε της υπερέκφρασης της ογκοπρωτεΐνης, είτε της ενίσχυσης του ίδιου του HER-2/*neu* γονιδίου^{140,142} ενώ έχει εμφανίσει υψηλά ποσοστά διαγνωστικής ακρίβειας όταν συγκρίθηκε με τον

ανοσοφθορισμό (fluorescence *in situ* hybridization, FISH)^{142,154}. Ακόμα στη παρούσα μελέτη το ποσοστό των καρκίνων που ήταν HER-2/*neu* θετικοί είναι μέσα στα όρια που έχουν αναφερθεί αλλού^{141,143-147}.

Η έλλειψη συσχέτισης του HER-2/*neu* με τους οιστρογονοεξαρτώμενους παράγοντες κινδύνου που βρέθηκε εδώ δεν συμβαδίζει με την υπόθεση που υποστηρίζει ότι τα οιστρογόνα και το HER-2/*neu* ενεργοποιούνται μαζί και δρουν συνεργικά διαμέσου κοινού δρόμου για να ξεκινήσει και να προαχθεί η καρκινογένεση στο μαστό^{155,156}. Ο μόνος ορμονοεξαρτώμενος παράγοντας που βρέθηκε στην ανάλυση μας να αυξάνει το κίνδυνο για HER-2/*neu* θετικούς όγκους είναι η παχυσαρκία εκφραζόμενη ως δείκτης μάζας σώματος πάνω από 29 kg/m². Είναι γνωστό ότι οι παχύσαρκες (μετεμμηνοπαυσιακές) γυναίκες εκτίθενται σε υψηλότερα επίπεδα οιστρογόνων λόγω της παραγωγής τους στο λιπώδη ιστό και της μειωμένης σύνθεσης της πρωτεΐνης με την οποία συνδέονται στη κυκλοφορία (SHBG)^{157,158}. Τα υψηλότερα επίπεδα οιστρογόνων με τη σειρά τους αυξάνουν το ρυθμό της κυτταρικής διαίρεσης στο μαστό και τα υπερπλαστικά αυτά κύτταρα μπορούν πιο εύκολα να υποστούν μεταλλάξεις και κατά συνέπεια κακοήθη εξαλλαγή. Οι μεταλλάξεις αυτές αφορούν πολλά γονίδια που ελέγχουν τον μεταβολισμό των ορμονών, τη επιδιόρθωση του DNA ή είναι ογκοκατασταλτικά γονίδια ή ακόμα και ογκογονίδια όπως το HER-2/*neu*^{156,159}. Πειραματικά μάλιστα ευρήματα έχουν δείξει ότι τα κυκλοφορούντα οιστρογόνα δίνουν το ερέθισμα και διεγείρουν την υπερπλασία των καρκινικών κυττάρων όχι μόνο διαμέσου των ορμονικών υποδοχέων αλλά επίσης διαμέσου του υποδοχέα του HER-2/*neu* γονιδίου ενισχύοντας έτσι την παραπάνω υπόθεση περί κοινής αλληλοσυμπληρούμενης δράσης^{142,155,156}.

Παράλληλα, στη μελέτη μας φάνηκε μια αυξημένη πιθανότητα οι HER-2/*neu* θετικοί όγκοι να μην εκφράζουν οιστρογονικούς υποδοχείς και παρόλο που αυτή η σχέση δεν ήταν τελικά στατιστικά σημαντική, αυτό είναι κοινό εύρημα σε αρκετές επιδημιολογικές και πειραματικές εργασίες^{140,148,156,160}. Γι αυτό το λόγο η διαστρωμάτωση των όγκων βάσει της ύπαρξης ή όχι οιστρογονικών υποδοχέων μπορεί να αποκαλύψει διαφορές στις συσχετίσεις των παραγόντων κινδύνου με το HER-2/*neu*¹⁴⁶. Στη δική μας μελέτη η παχυσαρκία φάνηκε να

αυξάνει περισσότερο το κίνδυνο για HER-2/neu+ καρκίνο στο μαστό στους ασθενείς με αρνητικούς οιστρογονικούς υποδοχείς. Ο πιθανός μηχανισμός έχει να κάνει με τη περίσσεια οιστρογόνων (που όπως αναφέραμε συνοδεύει την παχυσαρκία) η οποία μπορεί να προκαλέσει την υπερέκφραση του HER-2/neu γονιδίου στους όγκους με αρνητικούς οιστρογονικούς υποδοχείς αφού έχει παρατηρηθεί ότι η χορήγηση αντιοιστρογόνων σε αυτούς τους όγκους μειώνει τα επίπεδα του HER-2/neu^{146,156}.

Από την άλλη μεριά όμως, φαίνεται ότι η ογκογενετική διαδικασία παραγωγής HER-2/neu θετικών όγκων στο μαστό δεν είναι εξ ολοκλήρου βασισμένη στην περισσή επίδραση των οιστρογόνων η οποία προκύπτει μέσα από την παρουσία των γνωστών οιστρογονοεξαρτώμενων παραγόντων κινδύνου στο ιστορικό των ασθενών^{144,147,149,151}. Αυτό διαφαίνεται στη δική μας μελέτη από την σχεδόν ανύπαρκτη συσχέτιση με άλλους παράγοντες κινδύνου πλην της παχυσαρκίας. Προκύπτει λοιπόν το ερώτημα αν υπάρχουν και άλλοι δρόμοι ογκογένεσης στο μαστό στους οποίους ο ρόλος του HER-2/neu να είναι καταλυτικός μεν, ανεξάρτητος δε από τα οιστρογόνα. Πολλά πειραματικά δεδομένα υπάρχουν να το υποστηρίξουν αυτό. Πρώτα από όλα, πρόσφατες έρευνες έδειξαν ότι οι HER-2/neu θετικοί όγκοι διαφέρουν γενετικά από τους HER-2/neu αρνητικούς¹⁴². Υπάρχουν πολλές γονιδιακές μεταβολές που συνοδεύουν την υπερέκφραση του HER-2/neu γονιδίου και κάποιες από αυτές είναι ανεξάρτητες από τη δράση των οιστρογόνων και την ταυτόχρονη έκφραση των οιστρογονικών υποδοχέων^{142,161-163}. Οι γενετικές αυτές μεταβολές μπορεί να είναι οι κύριοι λόγοι που ένας όγκος με θετικούς οιστρογονικούς υποδοχείς μετατρέπεται στη πορεία σε όγκο που δεν εκφράζει οιστρογονικούς υποδοχείς^{149,156}. Ακόμα και στους HER-2/neu θετικούς όγκους με επίσης θετικούς ορμονικούς υποδοχείς, όσο πιο ψηλά είναι τα επίπεδα των HER-2/neu υποδοχέων τόσο πιο χαμηλά είναι τα επίπεδα των ορμονικών υποδοχέων¹⁶⁰. Επιπλέον, η ενεργοποίηση του HER-2/neu γονιδίου ίσως παίζει ένα σπουδαίο ρόλο στην ανάπτυξη των επιθετικών καρκίνων που εμφανίζονται στα ενδιάμεσα χρονικά διαστήματα των κανονικών προγραμμάτων παρακολούθησης των γυναικών (regular screening programmes) ενώ ο ρόλος των ορμονικών υποδοχέων στην ανάπτυξη των συγκεκριμένων όγκων φαίνεται πως είναι αμελητέος¹⁶⁴.

Όλα τα παραπάνω ενισχύουν την υπόθεση ότι υπάρχουν διαφορετικές υποομάδες καρκίνων στο μαστό οι οποίες εμφανίζουν διαφορετική συμπεριφορά και πιθανά να έχουν διαφορετική αιτιοπαθογένεια και εξέλιξη, άμεσα επηρεαζόμενες από την επίδραση διαφορετικών κάθε φορά παραγόντων κινδύνου.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τελικά, η μελέτη δεν επιβεβαίωσε ότι η συχνότητα των καθιερωμένων ή πιθανών, ορμονοεξαρτώμενων και μη, παραγόντων κινδύνου εμφάνισης καρκίνου του μαστού διαφέρει ανάλογα με τη παρουσία της HER-2/*neu* ογκοπρωτεΐνης, με εξαίρεση τη παχυσαρκία. Απαιτούνται περαιτέρω μελέτες με μεγαλύτερα μεγέθη δειγμάτων για να εξετάσουν πώς αυτοί οι ενδεχομένως τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου του μαστού αλληλεπιδρούν με τους βιολογικούς δείκτες όπως τη HER-2/*neu* ογκοπρωτεΐνη. Τα συμπεράσματά τους θα μας βοηθήσουν όχι μόνο να κατανοήσουμε βαθύτερα την αιτιολογία του καρκίνου του μαστού, αλλά και να βρούμε οποιεσδήποτε συσχετίσεις που θα αύξαναν τη διακριτική ακρίβεια (discriminatory accuracy) στην εντόπιση των γυναικών που βρίσκονται σε υψηλότερο κίνδυνο.

ΠΙΝΑΚΕΣ

Πίνακας 1: Χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων

<i>παράγοντες</i>	Περιπτώσεις N=384 n(%)	Μάρτυρες N=566 n(%)	OR ¹ (95% CI ³)	OR ² (95% CI)
Ηλικία				
≤50 έτη	138(36)	178(31)	1.00	
>50 έτη	246(64)	388(69)	0.82(0.62-1.08)	ΜΣ
Περιοχή διαμονής				
Υπαιθρος	189(49)	292(52)	1.00	
Πόλεις	195(51)	274(48)	0.91(0.70-1.18)	ΜΣ
Εμμηνορρυσιακή κατάσταση				
Προεμμηνοπαυσιακές	134(35)	170(30)	1.00	
Μετεμμηνοπαυσιακές	250(65)	396(70)	0.80(0.60-1.06)	ΜΣ
Ηλικία εμμηνόπαυσης⁴				
≤50 έτη	144(59)	252(64)	1.00	
>50 έτη	102(41)	140(36)	1.28(0.92-1.77)	ΜΣ
Ηλικία εμμηναρχής				
≤ 12 έτη	155(40)	150(27)	1.86(1.41-2.45)	ΜΣ
>12 έτη	229(60)	412(73)	1.00	
Χρήση αντισυλληπτικών				
όχι	341(89)	548(97)	1.00	1.00
ναι	43(11)	18(3)	3.84(2.18-6.77)	4.40(1.46-13.28)
Χρήση οιστρογόνων⁴				
όχι	231(92)	393(99)	1.00	1.00
ναι	19(8)	3(1)	10.78(3.15-36.81)	7.34(2.03-26.53)
Οικογενειακό ιστορικό (συγγενής 1^{ου} βαθμού)				
όχι	341(89)	522(92)	1.00	
ναι	43(11)	44(8)	1.5(0.96-2.33)	ΜΣ

Πίνακας 1, συνέχεια

Ηλικία 1^{ης} κύησης				
<23 έτη	106(35)	239(50)	1.00	1.00
>= 23 έτη	197(65)	242(50)	1.84(1.37-2.47)	1.91(1.29-2.83)
Τοκιμότητα				
Χωρίς παιδιά	79(20)	78(14)	1.00	
1-2	175(46)	255(45)	0.68(0.47-0.98)	ΜΣ
3 συν	130(34)	233(41)	0.55(0.38-0.80)	ΜΣ
Αποβολές				
όχι	183(57)	247(50)	1.00	1.00
ναι	138(43)	248(50)	0.75(0.57-0.99)	0.56(0.38-0.82)
Θηλασμός				
όχι	67(22)	84(17)	1.00	
ναι	238(78)	404(82)	0.74(0.52-1.06)	ΜΣ
Καταστολή θηλασμού				
όχι	273(90)	438(90)	1.00	
ναι	31(10)	50(10)	0.99(0.62-1.60)	ΜΣ
Ακτινοβολία στο θώρακα				
όχι	372(97)	550(97)	1.00	
ναι	12(3)	16(3)	1.11(0.52-2.37)	ΜΣ
Δείκτης Μάζας Σώματος				
<=29 kg/m ²	282(74)	498(88)	1.00	1.00
>29 kg/m ²	97(26)	68(12)	2.52(1.79-3.55)	3.13 (2.03-4.84)
Καλοήθης νόσος				
όχι	315(82)	472(83)	1.00	
ναι	69(18)	94(17)	1.10(0.78-1.55)	ΜΣ

¹OR : σχετικός κίνδυνος προτυποποιημένος μόνο με την ηλικία

²OR : σχετικός κίνδυνος προτυποποιημένος για τους εξής παράγοντες: ηλικία, καλοήθη νόσο στο μαστό, οικογενειακό ιστορικό, αποβολές, θηλασμός, καταστολή θηλασμού, χρήση αντισυλληπτικών, χρήση Θ.Ο.Υ, ακτινοβολία στο θώρακα, ΔΜΣ, ηλικία εμμηναρχής, ηλικία πρώτης κύησης και τοκιμότητα.

³CI : Διαστήματα εμπιστοσύνης, ⁴ μόνο μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες

ΜΣ: Μη στατιστικώς σημαντικά **Έντονα στοιχεία**: στατιστικώς σημαντικές τιμές.

Πίνακας 2. Χαρακτηριστικά στοιχεία των όγκων των ασθενών με καρκίνο του μαστού ανάλογα με την έκφραση του HER-2/neu

Χαρακτηριστικά	HER-2/neu+ n=145 (%)	HER-2/neu- n=233 (%)	p value
Ηλικία			0.533
<=50 έτη	55 (40)	81 (60)	
>50 έτη	90 (37)	152 (63)	
Σταδιοποίηση			0.106
I	30 (45)	36 (55)	
II	76 (35)	143 (65)	
III	20 (34)	39 (66)	
IV	2 (50)	2 (50)	
Άγνωστο	17 (57)	13 (43)	
Μέγεθος όγκου			0.161
T1	55 (44)	71 (56)	
T2	65 (35)	121 (65)	
>T3	10 (29)	25 (71)	
Άγνωστο	15 (48)	16 (52)	
Εμμηνορρυσιακή κατάσταση			0.762
Προεμμηνοπαυσιακές	52 (40)	80 (60)	
Μετεμμηνοπαυσιακές	93 (38)	153 (62)	
Βαθμός κακοήθειας			0.577
I	7 (33)	14 (67)	
II	64 (36)	113 (64)	
III	60 (43)	80 (57)	
Άγνωστο	14 (35)	26 (65)	
Λεμφαδενική συμμετοχή			0.119
Αρνητική	55 (33)	112 (67)	
Θετική	89 (43)	118 (57)	
Άγνωστο	1 (25)	3 (75)	
Οιστρογονικοί υποδοχείς			
Θετικοί	60 (33)	120 (67)	
Αρνητικοί	85 (43)	112 (57)	
Άγνωστο		1	
Προγεστερονικοί υποδοχείς			0.038
Θετικοί	49 (49)	52 (51)	
Αρνητικοί	96 (35)	180 (65)	
Άγνωστο		1	

Πίνακας 3. Πολυπαραγοντική (Multivariate) ανάλυση των παραγόντων κινδύνου σε σχέση με την υπερέκφραση του HER-2/neu και σύμφωνα με την εμμηνορυσιακή κατάσταση.

παράγοντες κινδύνου	HER-2/neu+ περιπτώσεις/μάρτυρες OR ² (95% CI ³)	HER-2/neu- περιπτώσεις/μάρτυρες OR (95% CI)	Λόγος των OR's HER-2/neu+/HER-2/neu- OR (95% CI)
Προεμμηνοπαυσιακές			
Ηλικία 1 ^{ης} κύησης (>23 έτη)	ΜΣ	3.56(1.70-7.46)	ΜΣ
ΔΜΣ (>29 kg/m ²)	ΜΣ	6.89(2.23-21.25)	ΜΣ
Αποβολές (ναι)	ΜΣ	0.49(0.23-1.05)	3.12 (1.18-8.24)
Οικογενειακό ιστορικό (θετικό)	ΜΣ	3.30(1.10-9.96)	0.09 (0.01-0.85)
Χρήση αντισυλ/κών (ναι)	ΜΣ	11.19(3.7-33.84)	0.16 (0.04-0.60)
Ηλικία εμμηναρχής (<12 έτη)	2.09 (0.99-4.42)	ΜΣ	ΜΣ
Μετεμμηνοπαυσιακές			
Ηλικία 1 ^{ης} κύησης (>23 έτη)	2.19(1.23-3.91)	1.66(1.03-2.66)	ΜΣ
ΔΜΣ(>29 kg/m ²)	4.83(2.75-8.49)	2.67(1.56-4.55)	2.23 (1.20-4.15)
Αποβολές (ναι)	0.50(0.28-0.88)	0.62(0.39-0.97)	ΜΣ
Οικογενειακό ιστορικό (θετικό)	ΜΣ	2.23(1.08-4.63)	ΜΣ
Χρήση οιστρογόνων (ναι)	ΜΣ	10.70(2.71-42.31)	0.21 (0.04-1.08)
Χρήση αντισυλ/κών (ναι)	ΜΣ	6.47(1.89-22.16)	ΜΣ
Ηλικία εμμηναρχής (<12 έτη)	ΜΣ	1.72(1.07-2.75)	0.54 (0.28-1.04)
Σύνολο			
Ηλικία 1 ^{ης} κύησης (>23 έτη)	2.19(1.23-3.91)	1.66 (1.03-2.66)	ΜΣ
ΔΜΣ(>29 kg/m ²)	4.83(2.75-8.49)	2.67(1.56-4.55)	2.23(1.20-4.15)
Αποβολές (ναι)	0.50(0.28-0.88)	0.62(0.39-0.97)	ΜΣ
Οικογενειακό ιστορικό (θετικό)	ΜΣ	2.23(1.08-4.63)	ΜΣ
Χρήση οιστρογόνων (ναι)	ΜΣ	10.70(2.70-42.32)	ΜΣ
Χρήση αντισυλ/κών (ναι)	ΜΣ	6.47(1.88-22.16)	ΜΣ
Ηλικία εμμηναρχής (<12 έτη)	ΜΣ	1.72(1.07-2.75)	0.54 (0.28-1.04)

¹OR : σχετικός κίνδυνος προτυποποιημένος για τους εξής παράγοντες: ηλικία, καλοήγη νόσο στο μαστό, οικογενειακό ιστορικό, αποβολές, θηλασμός, καταστολή θηλασμού, χρήση αντισυλληπτικών, χρήση Θ.Ο.Υ, ακτινοβολία στο θώρακα, ΔΜΣ, ηλικία εμμηναρχής, ηλικία πρώτης κύησης και τοκιμότητα.

²CI : Διαστήματα εμπιστοσύνης, ΜΣ: Μη στατιστικώς σημαντικά

Έντονα στοιχεία: στατιστικώς σημαντικές τιμές.

Πίνακας 4. Πολυπαραγοντική (Multivariate) ανάλυση των παραγόντων κινδύνου σε σχέση με την υπερέκφραση του HER-2/neu και σύμφωνα με την ύπαρξη οιστρογονικών υποδοχέων

παράγοντες κινδύνου	HER-2/neu+ περιπτώσεις/μάρτυρες OR ² (95% CI ³)	HER-2/neu- περιπτώσεις/μάρτυρες OR (95% CI)	Λόγος των OR's HER-2/neu+/HER-2/neu- OR (95% CI)
O.Y¹ +			
ΔΜΣ(>29 kg/m ²)	5.59 (2.58-12.13)	2.84 (1.52-5.32)	NS
Ηλικία 1 ^{ης} κύησης (>23 έτη)	2.09 (0.97-4.53)	NS	NS
Οικογενειακό ιστορικό (θετικό)	NS	2.18 (0.92-5.14)	NS
Αποβολές (ναι)	0.44 (0.20- 0.95)	0.56 (0.32-0.99)	NS
O.Y-			
ΔΜΣ(>29 kg/m ²)	5.33 (2.59-10.94)	2.41 (1.15-5.04)	2.46 (0.97-6.21)
Ηλικία 1 ^{ης} κύησης (>23 έτη)	2.37 (1.08-5.18)	1.78 (0.93-3.42)	NS
Οικογενειακό ιστορικό (θετικό)	NS	2.72 (1.05-7.07)	NS
Ηλικία (>50 έτη)	NS	2.05 (1.10-3.79)	NS
Τοκιμότητα (1-2 γεννήσεις)	NS	2.38 (1.21-4.67)	NS

¹ O.Y: οιστρογονικοί υποδοχείς,

²OR : σχετικός κίνδυνος προτυποποιημένος για τους εξής παράγοντες: ηλικία, καλοήγη νόσο στο μαστό, οικογενειακό ιστορικό, αποβολές, θηλασμός, καταστολή θηλασμού, χρήση αντισυλληπτικών, χρήση Θ.Ο.Υ, ακτινοβολία στο θώρακα, ΔΜΣ, ηλικία εμμηναρχής, ηλικία πρώτης κύησης και τοκιμότητα.

³CI : Διαστήματα εμπιστοσύνης , ΜΣ: Μη στατιστικώς σημαντικά

Έντονα στοιχεία: στατιστικώς σημαντικές τιμές.

Συνέπειες της Διατριβής – Συνέχεια της έρευνας

Σε αυτή την επιδημιολογική μελέτη φαίνεται ότι μερικοί από τους πιο σημαντικούς παράγοντες κινδύνου για καρκίνο στο μαστό όπως η παχυσαρκία και η όψιμη ηλικία πρώτης κύησης διατηρούν την σημασία τους σε πληθυσμούς με χαμηλή συχνότητα της νόσου όπως είναι οι γυναίκες της Κρήτης. Αξιοσημείωτη είναι επίσης η προστατευτική επίδραση της κύησης ανεξάρτητα αποτελέσματος ιδιαίτερα στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Αυτά τα ευρήματα δείχνουν το αποτύπωμα του καρκίνου του μαστού στο νησί της Κρήτης σε σχέση με την συχνότητα εμφάνισης των παραγόντων κινδύνου στο γυναικείο πληθυσμό του νησιού. Έτσι καθίσταται πολύ σημαντικό το ερώτημα αν τυχόν αύξηση της επίπτωσης των παραγόντων αυτών θα επιφέρει και αύξηση της επίπτωσης του καρκίνου του μαστού στις γυναίκες της Κρήτης (ή και το αντίστροφο). Η σύγκριση των γυναικών ανάλογα με το τόπο διαμονής έδειξε ότι υπάρχει αυξημένη συχνότητα κάποιων παραγόντων κινδύνου στις γυναίκες της πόλης σε σχέση με την ύπαιθρο που προς το παρόν δεν συνδέεται με αυξημένη επίπτωση της νόσου στις πόλεις. Άρα προκύπτει το ενδιαφέρον ερώτημα αν οι διαφαινόμενες αλλαγές στο τρόπο ζωής και διατροφής των Κρητικών γυναικών (όπως είναι η παχυσαρκία) θα συμβάλλουν σε αύξηση της συχνότητας του καρκίνου του μαστού στο νησί στα χρόνια που έρχονται

Για πρώτη πάντως φορά στη διεθνή βιβλιογραφία βρέθηκε εδώ ότι η παχυσαρκία σχετίζεται με την ανάπτυξη μίας από τις πιο επιθετικές μορφές του καρκίνου του μαστού, αυτού δηλαδή που εμφανίζει υπερέκφραση του ογκογονιδίου HER-2/neu. Σημαντικό μάλιστα εύρημα από τη έρευνα αυτή ήταν το γεγονός ότι η παχυσαρκία αυξάνει το κίνδυνο και στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες της Κρήτης κάτι που φαίνεται ότι εμφανίζεται μετά τα 45 έτη και ίσως έχει να κάνει με την σταδιακή πρόσληψη βάρους στη πορεία του χρόνου και την επίδραση της ηλικίας.

Αυτά τα αποτελέσματα δεν έχουν αναφερθεί σε άλλη μελέτη και γι αυτό το λόγο είναι σημαντικά. Απαιτούνται περαιτέρω επιδημιολογικές μελέτες, με πειραματικό σχεδιασμό και με μεγαλύτερο δείγμα για να διερευνηθούν την σχέση της παχυσαρκίας με την ανάπτυξη κακοήθων όγκων δυσμενούς πρόγνωσης που εκφράζουν τη HER-2/neu ογκοπρωτεΐνη.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Arkin EB. Cancer risk communication-What we know. J Natl Cancer Inst. Monograph 1999; No 25:182-185.
2. Andermann AA, Watson EK, Lucassen AM, Austoker J. The Opinions, Expectations and Experiences of Women with a Family History of Breast Cancer Who Consult Their GP and Are Referred to Secondary Care. Community Genet. 2001;4:239-243
3. Watson E, Clements A, Yudkin P, Rose P. Evaluation of the impact of two educational interventions on GP management of familial breast/ovarian cancer cases: a cluster randomised controlled trial. Br J Gen Pract.2001 ;51:817-821
4. Smith RA, Saslow D, Sawyer KA. American Cancer Society Guidelines for Breast Cancer Screening: Update 2003; CA Cancer J Clin 2003;53:141-169
5. Greenlee RT, Hill-Harmon MB, Murray T, Thun M. Cancer statistics, 2001.CA Cancer J. Clin.2001 51:15–36
6. Bray F, Sankila R, Ferlay J, Parkin DM. Estimates of cancer incidence and mortality in Europe in 1995. Eur J Cancer 2002 ;38:99-166
7. Yu-Tang Gao , Xiao-Ou Shu, Qi Dai, Potter DL. Brinton A. Association of menstrual and reproductive factors with breast cancer risk: results from the Shanghai breast cancer study Int. J. Cancer 2000; 87:295–300
8. Ziegler RG, Hoover RN, Pike MC, et al. Migration pattern and breast cancer risk in Asian-American women.J Natl Cancer Inst 1993; 85:1819-1827.
9. Vlachonikolis IG, Aletra TJ, Georgoulis V. Incidence of breast cancer on Crete, 1994-1995. Eur J Cancer 2002;38:574-577.
10. Clemons M, Goss P Mechanisms of disease - Estrogen and the risk of breast cancer. N Engl J Med 2001;344:276-285
11. Lupulescu A. Estrogen use and cancer incidence: a review. Cancer Invest 1995; 13: 287-295.

12. Pike MC, Spicer DV, Dahmouch L, Press MF. Estrogens, progestogens, normal breast cell proliferation, and breast cancer risk. *Epidemiol Rev* 1993;15:17-35.
13. Brinton L, Schaiere C, Hoover R. Menstrual factors and risk of breast cancer. *Cancer Invest* 1988;6:145-154.
14. Brinton L, Hoover R, Fraumeni J. Reproductive factors in the aetiology of breast cancer. *Br J Cancer* 1983;47:757-762.
15. Trichopoulos D, MacMahon B, Cole P. Menopause and breast cancer risk. *J Natl Cancer Inst* 1972;48:605-613.
16. Leon DA, Carpenter LM, Broeders MJ, Gunnarskog J, Murphy MF. Breast cancer in Swedish women before age 50: evidence of a dual effect of completed pregnancy. *Cancer Causes Control* 1995; 6:283-291.
17. Holmes MD, Hunter DJ, Colditz GA et al. Association of dietary intake of fat and fatty acids with risk of breast cancer. *JAMA* 1999 ;281: 914-920.
18. Henderson BE, Ross RK, Judd HL, Krailo MD, Pike MC. Do regular ovulatory cycles increase breast cancer risk? *Cancer* 1985; 56: 1206-1208
19. Huang CS, Chern HD, Chang KJ, et al. Breast cancer risk associated with genotype polymorphism of the estrogen-metabolizing genes CYP17, CYP1A1, and COMT: A multigenic study on cancer susceptibility. *Cancer Res* 1999;59:4870-4875.
20. Shoker BS, Jarvis C, Sibson DR, et al. Oestrogen receptor expression in the normal and pre-cancerous breast. *J Pathol* 1999; 188:237-244
21. Leyge E, Dotzlaw H, Watson PH, et al. Altered estrogen alpha and beta messenger RNA expression during human breast tumorigenesis. *Cancer Res* 1998;58 :3197-3201.
22. Ford D, Easton DF, Stratton M, et al. Genetic heterogeneity and penetrance analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes in breast cancer families. *Am J Hum Genet* 1998; 62: 676-689.
23. Easton DF, Steele L, Field P, et al. Cancer risks in two large breast cancer families linked to BRCA2 on chromosome 13q12-13. *Am J Hum Genet* 1998; 61: 120-128.

24. Begg C On the use of familial aggregation in population-based case probands for calculating penetrance *J Natl Cancer Inst* 2002;94:1221-1226
25. Singletary E. Rating the risk factors for breast cancer. *Ann surg* 2003; 257: 474-482.
26. Fracheboud J, de Koning HJ, Beemsterboer PMM et al. Nationwide breast cancer screening in the Netherlands: results of initial and subsequent screening 1990–1995. *Int J Cancer* 1998; 75: 694–698.
27. Mc Credie MR , Dite GS, Giles GG. Breast cancer in Australian women under the age of 40. *Cancer Causes Control* 1998; 9: 189-198
28. Cardenas K, Frisch, K, Comprehensive breast cancer screening. *Postgrad Med* 2003, Feb 1, Vol. 113, Issue 2.
29. Madigan MP, Ziegler RG, Benichou J, et al. Propotion of breast cancer cases in the United States explained by well –established risk factors. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87:1681-1685
30. Tretli S Height and weight in relation to breast cancer morbidity and mortality. A prospective study of 570,000 women in Norway *Int J Cancer* 1989;44:23-30
31. Key TA, Pike MC. The dose–effect relationship between “unopposed” oestrogens and endometrial mitotic rate: Its central role in explaining and predicting endometrial cancer risk. *Br. J. Cancer* 1988a 57:205–212.
32. Hulka BS. Epidemiologic analysis of breast and gynecologic cancers. *Prog Clin Biol Res* 1997;396:17-29.
33. Petrelli JM, Calle EE, Rodriguez C, Thun MJ. Body mass index, height, and postmenopausal breast cancer mortality in a prospective cohort of US women. *Cancer Causes Control* 2002;13:325-332
34. Lahmann PH, Lissner L, Gullberg B, Olsson H, Berglund G. A prospective study of adiposity and postmenopausal breast cancer risk: the Malmo Diet and Cancer Study *Int J Cancer* 2003;103:246-252
35. Morimoto LM White E Chen Z. Obesity,body size,and risk of postmenopausal breast cancer:the Women’s Health Initiative (United States) *Cancer Causes Control* 2002;13 :741-751

36. Ellison R, Zhang Y, McLennan C, Rothman K Exploring the relation of alcohol consumption to risk of breast cancer *Am J Epidemiol* 2001;154:740-747
37. Royo-Bordonada M, Martin-Moreno J, Guallar E Alcohol intake and risk of breast cancer *Neoplasma* 1997;44:150-156
38. Newcomb PA, Longnecker MP, Storer BE. Long-term hormone replacement therapy and risk of breast cancer in postmenopausal women. *Am J Epidemiol.* 1995;142:788-795
39. Colditz GA, Hankinson SE, Hunter DJ The use of estrogens and progestins and the risk of breast cancer in postmenopausal women *N Engl J Med.* 1995 Jun 15;332(24):1589-1593
40. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer Breast cancer and hormone replacement therapy collaborative reanalysis of data from 51 epidemiological studies: of 52 705 women with breast cancer and 108 411 women without breast cancer *Lancet* 1997;350:1047-1059
41. Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators. Risks and Benefits of Estrogen Plus Progestin in Healthy Postmenopausal Women Principal Results From the Women's Health Initiative Randomized Controlled Trial *JAMA.* 2002;288:321-333
42. Ross RK, Paganini-Hill A, Wan PC, et al. Effect of hormone replacement therapy on breast cancer risk: estrogen versus estrogen plus progestin. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 328-332
43. Lemay A The relevance of the Women's Health Initiative results on combined hormone replacement therapy in clinical practice. *J Obstet Gynaecol Can* 2002 ;24:711-715.
44. Nelson H, Humphrey L, Nygren P, Teutsch S, Allan J Postmenopausal hormone replacement therapy - Scientific review *JAMA* 2002;288:872-881.
45. Beral V; Million Women Study Collaborators. Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. *Lancet.* 2003 ;362:419-427.
46. Bernstein L Epidemiology of Endocrine-Related Risk Factors for Breast Cancer *J Mammary Gland Biol Neop* 2002; 7, No. 1, 3-15.
47. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Breast cancer and hormonal contraceptives. *Lancet* 1996a;347:1713–1727.

48. Althuis MD, Brogan DR, Coates RJ, et al. Hormonal content and potency of oral contraceptives and breast cancer risk among young women. *Br J Cancer* 2003; 88: 50-57
49. Ursin G, Henderson Be, Haile RW, et al. Does oral contraceptive use increase the risk of breast cancer in women with BRCA1/BRCA2 mutations more than in other women? *Cancer Res* 1997;57:3678-3681.
50. Manjer J, Berglund G, Bondesson L, Garne JP, Janzon L, Malina J. Breast cancer incidence in relation to smoking cessation. *Breast Cancer Res Treat.* 2000;61:121-129
51. Salih AK, Fentiman IS. Breast cancer prevention: present and future. *CA Treat Rev* 2001; 27: 261-273
52. Gammon MD, Schoenberg JB, Teitelbaum SL, Brinton LA, Cigarette smoking and breast cancer risk among young women (United States). *Cancer Causes Control.* 1998 ;9:583-590
53. Manjer J, Janzon M et al. Covariance of breast cancer incidence with smoking-, oestrogen- and diet-related cancers in pre- and postmenopausal women in Sweden. *Med Hypotheses.* 1999 ;52:561-568
54. Mc Tiernan A. Association between energy balance and bodymass index and risk of breast carcinoma in women from inverse racial and ethnic background in the US *Cancer* 2000;88: 1248-1255.
55. Gammon MD, Schoenberg JB, Britton JA Recreational physical activity and breast cancer risk among women under age 45 years. *Am J Epidemiol.* 1998 ;147:273-280.
56. Bernstein L, Ross RK, et al. Effects of moderate physical activity on menstrual cycle patterns in adolescence implications for breast cancer prevention. *Br J Cancer* 1987; 55:681-685.
57. Rockhill B, Willett WC, Hunter DJ A prospective study of recreational physical activity and breast cancer risk. *Arch Intern Med.* 1999 Oct 25;159(19):2290-6
58. Clemons M, Loijens L, Goss P: Breast cancer risk following irradiation for Hodgkin's disease *Cancer Treat Rev* 2000;26:291-302
59. Rockhill B, Moorman PG, Newman B. Age at menarche, time to regular cycling, and breast cancer (North Carolina, United States). *Cancer Causes Control,* 1998, 9 447-453.

60. MacMahon B, Cole P, Lin T.H et al. Age at first birth and breast cancer risk. Bull WHO 1970a; 43:209-221.
61. Ewertz M, Duffy SW, Adami HO, Kvale G, Lund E, et al . Age at first birth, parity and risk of breast cancer: a meta-analysis of 8 studies from the Nordic countries. Int J Cancer. 1990;46:597-603.
62. Wingo PA., Newsome K, Marks JS, Calle EE, Parker SL. The risk of breast cancer following spontaneous and induced abortion. Cancer Causes Control 1997;8:93–108.
63. MacMahon B, Trichopoulos D, Lowe CR, et al. Lactation and cancer of the breast : a summary of the international study. Bull WHO 1970b; 42:185-94.
64. Newcomb PA, Storer MP, Longnecker R, et al. Lactation and a reduced risk of premenopausal breast cancer. New Engl. J. Med. 1994;330:81–86.
65. Enger SM, Ross RK,. Paganini-Hill A, Bernstein L. Breastfeeding experience and breast cancer risk among postmenopausal women. Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.1998;7:365–369.
66. Yuan JM, Yu MC, Ross RK,et al. Risk factors for breast cancer in Chinese women in Shanghai. Cancer Res1988;48:1949–1953
67. Pharoah PD, Day NE, Duffy S, Easton DF, Ponder BA Family history and the risk of breast cancer:a systematic review and meta-analysis. Int J Cancer 1997;71:800-809
68. Howe GR, Hirohata T, Hislop TG. Dietary factors and risk of breast cancer: combined analysis of 12 case-control studies.J Natl Cancer Inst 1990; 82: 561-569.
69. Dupont WD, Parl FF, Hartmann WH, Breast cancer risk associated with proliferative breast disease and atypical hyperplasia. Cancer 1993;71:1258-1265.
70. Wrensch MR, Petrakis NL, et al. Breast cancer risk in women with abnormal cytology in nipple aspirates of breast fluid. J Natl Cancer Inst. 2001;93:1791-1798
71. Fabian CJ, Kimler BF, Zalles CM, Klemp JR, Kamel S. Short-term breast cancer prediction by random periareolar fine needle aspiration cytology and the Gail risk model J Natl Cancer Inst 2000;92:1217-1227

72. Bellamy COC, McDonald C, Salter DM, Chetty U, Non-invasive ductal carcinoma of the breast. The relevance of histologic categorization. *Hum Pathol* 1993;24:16-23.
73. Hankey BF, Curtis RE, Naughton DN, et al. A retrospective cohort analysis of second breast cancer risk for primary breast cancer patients with an assessment of the effect of radiation therapy. *J Natl Cancer Inst* 1983;70:797-804.

ΔΕΥΤΕΡΟ ΜΕΡΟΣ

74. Rampaul RS, Pinder SE, Elston CW, Ellis IO; Nottingham Breast Team. Prognostic and predictive factors in primary breast cancer and their role in patient management: The Nottingham Breast Team. *Eur J Surg Oncol*. 2001 Apr;27(3):229-38.
75. Bundred NJ. Prognostic and predictive factors in breast cancer. *Ca Res Treat Reviews* 2001q 137-142.
76. McGuire WL, Breast Cancer Prognostic Factors Evaluation Guidelinew. *J Natl CancerInst* 1991;83:154-155
77. Yamauchi H, Stearns V, Hayes DF When is a tumor marker ready for prime time? A case study of c-erbB-2 as a predictive factor in breast cancer. *J Clin Oncol*. 2001 Apr 15;19(8):2334-56.
78. MH Galea, RW Blamey and CW Elston, The Nottingham Prognostic Index in primary breast cancer. *Br Cancer Res Treat* **22** (1992), pp. 207–219.
79. GL Carter, C Allen and DE Henson, Relation of tumour size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases. *Cancer* **63** (1989), pp. 181–187.
80. ER Fisher, R Sass and B Fisher, Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Project for breast cancer (protocol no 4). Discrimination for tenth year treatment failure. *Cancer* **53** (1984), pp. 712–723
81. AM Neville, R Bettelheim and RD Gelber, Predicting treatment responsiveness and prognosis in node-negative breast cancer. *J Clin Oncol* **10** (1992), pp. 696–705

82. L Tabar, SW Duffy and UB Krusemo, Detection method, tumour size and node metastases in breast cancers diagnosed during a trial of breast cancer screening. *Eur J Cancer Clin Oncol* **23** (1987), pp. 959–962
83. Mirza AN, Mirza NQ, Vlastos G, Singletary SE. Prognostic factors in node-negative breast cancer: a review of studies with sample size more than 200 and follow-up more than 5 years. *Ann Surg.* 2002 Jan;235(1):10-26.
84. HJG Bloom and WW Richardson, Histological grading and prognosis in breast cancer. A study of 1409 cases of which 359 have been followed for 15 years. *Br J Cancer* **11** (1957), pp. 359–377.
85. HF Frierson, RA Wolber and KW Berean, Interobserver reproducibility of the Nottingham modification of the Bloom and Richardson histological grading scheme for infiltrating ductal carcinoma. *Am J Clin Pathol* **105** (1995), pp. 195–198
86. CW Elston and IO Ellis, Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathol* **19** (1991), pp. 403–410
87. R Bettelheim, HG Penman and H Thornton-Jones, Prognostic significance of peritumoral vascular invasion in breast cancer. *Br J Cancer* **50** (1984a), pp. 771–777k
88. BW Davis, R Gelber and A Goldhirsh, Prognostic significance of peritumoral vessel invasion in clinical trials of adjuvant therapy for breast cancer with axillary node metastases. *Hum Pathol* **16** (1985), pp. 1212–1218l
89. Harris, JR, Lippman, ME, Morrow, M, Hellman, S, Diseases of the Breast. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1996
90. Hilsenbeck SG, Ravdin PM, de Moor CA Time-dependence of hazard ratios for prognostic factors in primary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 1998;52(1-3):227-37.
91. Silvestrini R, Daidone MG, Luisi A et al. Biologic and clinicopathologic factors as indicators of specific relapse factors in node negative breast cancer. *J Clin Oncol* 1995; 13:697-704

92. Ravdin PM, Green S, Melink-Dorr T et al. Prognostic significance of progesterone receptor levels in oestrogen receptor positive patients with metastatic breast cancer treated with tamoxifen. Results of a prospective Southwest Oncology Group Study. *J Clin Oncol* 1992; 10:1284-1291.
93. Androulis IL, Bull SB, Blackstein ME et al. Neu/erbB-2 amplification identifies a poor-prognosis group of women with node-negative breast cancer. Toronto Breast Cancer Study Group. *J Clin Oncol* 1998 ;16(4):1340-49.
94. Anan K, Morisaki T, Katano M. Assessment of c-erbB2 and vascular endothelial growth factor mRNA expression in fine-needle aspirates from early breast carcinomas: pre-operative determination of malignant potential. *Eur J Surg Oncol* 1998;24(1):28-33.
95. Falette N, Paperin MP, Treilleux I. Prognostic value of P53 gene mutations in a large series of node-negative breast cancer patients. *Cancer Res* 1998 1;58(7):1451-55.
96. Swenson KK, Decher L, Haselow R. Prognostic factors after conservative surgery and radiation therapy for early stage breast cancer. *Am J Clin Oncol* 1998;21(2):111-16.
97. Knoop A, Andreasen PA, Andersen JA. Prognostic significance of urokinase-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 in primary breast cancer. *Br J Cancer* 1998;77(6):932- 40.
98. Kute TE, Grondahl-Hansen J, Shao SM. Low cathepsin D and low plasminogen activator type 1 inhibitor in tumor cytosols defines a group of node negative breast cancer patients with low risk of recurrence. *Breast Cancer Res Treat* 1998;47(1):9-16.
99. Clahsen PC, van de Velde CJ, Duval C. p53 protein accumulation and response to adjuvant chemotherapy in premenopausal women with node-negative early breast cancer. *J Clin Oncol* 1998;16(2):470-79.
100. Gohring UJ, Ahr A, Scharl A, Weisner V. Immunohistochemical detection of epidermal growth factor receptor lacks prognostic significance for breast carcinoma. *J Soc Gynecol Investig* 1995; 2(4):653-59.

101. Kim R, Tanabe K, Uchida Y, Osaki A, Toge T. The role of HER-2 oncoprotein in drug-sensitivity in breast cancer (review). *Oncol Rep.* 2002 Jan-Feb;9(1):3-9
102. Δημητρακάκης Κ, Κεραμόπουλος Α. Καρκίνος του μαστού και μοριακή βιολογία . εκδόσεις Γρ Παρισιάνος, Αθήνα 2000.
103. Rosen PP, Lesser ML, Arroyo, C. D., Cranor, M., Borgen, P Norton, L. Immunohistochemical detection of HER2/*neu* in patients with axillary lymph node negative breast carcinoma. *Cancer (Phila.)*, 75: 1320–1326, 1995.
104. 40-27 Ross JH, Fletcher JA. The HER-2/*neu* oncogene in breast cancer: prognostic factor, predictive factor, and target for therapy. *Stem Cells* 1998;16 :413-426
105. Schnitt SJ. Breast cancer in the 21st century: *neu* opportunities and *neu* challenges. *Mod Pathol.* 2001 Mar;14(3):213-8
106. Cooke T, Reeves J, Lannigan A, Stanton P The value of the human epidermal growth factor receptor-2 (HER2) as a prognostic marker. *Eur J Cancer.* 2001 Jan;37 Suppl 1:3-10
107. Hamilton A, Piccart M The contribution of molecular markers to the prediction of response in the treatment of breast cancer: a review of the literature on HER-2, p53 and BCL-2. *Ann Oncol.* 2000 Jun;11(6):647-63.
108. Jukkola A, Bloigu R, Soini Y, Savolainen ER, Holli K, Blanco G. c-erbB-2 positivity is a factor for poor prognosis in breast cancer and poor response to hormonal or chemotherapy treatment in advanced disease. *Eur J Cancer.* 2001 Feb;37(3):347-54
109. Hung M-C, Lau Y-K. Basic science of HER-2/*neu*: a review. *Semin Oncol* 1999; 26 (Suppl. 12): 51–9.
110. Slikowski MX, Lofgren JA, Lewis GD, Hotaling TE, Fendly BM, Fox JA. Non-clinical studies addressing the mechanism of action of trastuzumab (Herceptin). *Semin Oncol* 1999; 26 (Suppl. 12): 60–70. [j
111. Ross JS, Fletcher JA. HER-2/*neu* (c-erbB-2) gene and protein in breast cancer. *Am J Clin Pathol* 1999; 112 (Suppl. 1): S53–67.j

112. Reese DM, Slamon DJ. HER-2/neu signal transduction in human breast and ovarian cancer. *Stem Cells* 1997; 15: 1–8h
113. Shak S, for the Herceptin Multinational Investigator Study Group. Overview of the trastuzumab (Herceptin) anti-HER2 monoclonal antibody clinical program in HER2-overexpressing metastatic breast cancer. *Semin Oncol* 1999; 26 (Suppl. 12): 71–77.
114. Cobleigh MA, Vogel CL, Tripathy D, *et al.* Efficacy and safety of Herceptin (humanized anti-HER2 antibody) as a single agent in 222 women with HER2 overexpression who relapsed following chemotherapy for metastatic breast cancer [Abstract]. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1998; 17: 97a.
115. Wen-Yi Huang,² Beth Newman, Robert C. Millikan, Kathleen Conway, Barbara S. Hulka, Michael J. Schell, and Edison T. Liu Risk of Breast Cancer According to the Status of HER-2/neu Oncogene Amplification 1 *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 2000 65 Vol. 9, 65–71.

MEAETH 1

116. Botha JL, Bray F and Sankila R, *et al*: Breast cancer incidence and mortality trends in 16 European countries. *Eur J Cancer* 39:1718–1729, 2003.
117. Yu-Tang Gao, Xiao-Ou Shu and Qi Dai, *et al* : Association of menstrual and reproductive factors with breast cancer risk: results from the Shanghai breast cancer study. *Int J Cancer* 87:295–300,2000.
118. Vlachonikolis IG†, Aletra TJ and Georgoulis V: Incidence of breast cancer on Crete, 1994-1995. *Eur J Cancer* 38:574-577, 2002.
119. Vlachonikolis IG†, Philalithis AE and Brittan Y, *et al.* Mortality from malignant neoplasms in Crete. *J Epidemiol Community Health* 52:126-127,1998.
120. Serra-Majem L, La Vecchia C and Ribas-Barba L, *et al*: Changes in diet and mortality from selected cancers in southern Mediterranean countries, 1960-1989. *Eur J Clin Nutr* 47, *Suppl 1*:S25-34,1993

121. Kelsey JL, Horn-Ross PL: Breast cancer magnitude of the problem and descriptive epidemiology. *Epidemiol Rev* 15: 7-16,1993.
122. Lumachi F, Ermani M and Brandes A, *et al* : Breast complaints and risk of breast cancer. Population based study of 2.879 self-selected women and long term follow-up. *Biomed Pharmacother* 56:88-92, 2002.
123. Lumachi F, Ermani M and Brandes A *et al* : Breast cancer risk in healthy and symptomatic women: results of a multivariate analysis. A case-control study. *Biomed Pharmacother* 56:416-420,2002.
124. Lipworth L, Katsouyanni K and Ekblom A, *et al*: Abortion and the risk of breast cancer: a case-control study in Greece. *Int J Cancer* 61:181-184, 1995.
125. Erlandsson G, Montgomery SM and Cnattingius S, *et al*: Abortions and breast cancer: record-based case-control study. *Int J Cancer* 103:676-679, 2003.
126. MacMahon B, Cole P and Lin MT, *et al* :Age at first birth and cancer of the breast. A summary of an international study. *Bull. W.H.O* 43:209–221,1970.
127. Tryggvadottir L, Tulinius H and Eyfjord JE *et al*: Breastfeeding and reduced risk of breast cancer in an Icelandic cohort study.*Am J Epidemiol* 154:37-42,2001.
128. Michels KB, Trichopoulos D and Rosner BA,*et al*: Being breastfed in infancy and breast cancer incidence in adult life: results from the two nurses' health studies. *Am J Epidemiol*,153:275-283, 2001.
129. Tavani A, Gallus S and La Vecchia C, *et al*: Risk factors for breast cancer in women under 40 years. *Eur J Cancer* 35:1361-1367,1999.
130. Huang Z, Willett WC and Colditz GA, *et al*: Waist circumference, waist :hip ratio, and risk of breast cancer in the Nurses' Health Study. *Am J Epidemiol* 150:1316-1324, 1999.
131. Friedenreich C: Review of anthropometric factors and breast cancer risk. *Eur J Cancer Prev* 10:15 –32, 2001.
132. Huang Z, Hankinson SE and Colditz GA, *et al*: Dual effects of weight and weight gain on breast cancer risk. *JAMA* 278:1407–1411,1997.

133. Cold S, Hansen K and Overvad K, *et al*: Woman's build and the risk of breast cancer. *Eur J Cancer* 34:1163–1174, 1998.
134. Katsouyanni K, Trichopoulos D and Boyle P, *et al*: Diet and breast cancer: a case-control study in Greece. *Int J Cancer* 38: 815-20,1986.
135. Sieri S, Krogh V and Muti P, *et al*: Fat and protein intake and subsequent breast cancer risk in postmenopausal women. *Nutr Cancer* 42:10-17, 2002.
136. Serra-Majem L, La Vecchia C and Ribas-Barba L, *et al*: Changes in diet and mortality from selected cancers in southern Mediterranean countries, 1960-1989. *Eur J Clin Nutr* 47 *Suppl 1*:S25-34,1993.
137. Moschandreas J, Kafatos A: Food and nutrient intakes of Greek (Cretan) adults. Recent data for food-based dietary guidelines in Greece. *Br J Nutr* 81 *Suppl 2*:S71-76,1999.
- ¹³⁸ Wynder EL, Stellman SD: The 'over-exposed' control group. *Am J Epidemiol*,135: 459-461,1992.

MEATH 2

139. Callahan R. Genetic alterations in primary breast cancer. *Breast Cancer Res.Treat*, 1989.13: 191–203.
140. Ciocca DR, Fujimura FK, Tandon AK, Clark GM, Mark C, Lee-Chen GJ., Pouns GW, Vendely P, Owens MA, Pandian MR. Correlation of HER-2/*neu* amplification with expression and with other prognostic factors in 1103 breast cancers. *J Natl. Cancer Inst.*1992, 84: 1279–1282.
141. Treurniet HF, Rookus MA, Peterse HL, Hart AA, van Leeuwen FE. Differences in breast cancer risk factors to *neu* (c-erbB2) protein overexpression of the breast tumor. *Cancer Res.*1992, 52: 2344–2345.
142. Isola JL, Chu S, DeVries K, Matsumura K, Chew B, MLjung FM. Waldman. Genetic Alterations in ERBB2-amplified Breast Carcinomas. *Clin Ca Res* 1999, Vol. 5, 4140–4145.

143. Rosen PP, Lesser ML, Arroyo CD, Cranor M, Borgen P, Norton L. Immunohistochemical detection of HER2/*neu* in patients with axillary lymph node negative breast carcinoma. *Cancer (Phila.)*, 1995, 75: 1320–1326.
144. De Potter CR. The neu-oncogene: more than a prognostic indicator? *Hum Pathol* 1994;25: 1264–1268.
145. Olsson H, Borg A, Ferno M, Ranstam J, Sirgurdsson H. Her-2/*neu* and INT2 proto-oncogene amplification in malignant breast tumors in relation to reproductive factors and exposure to exogenous hormones. *J Natl Cancer Inst* 1991; 83:1483–1487.
146. Gammon MD, Hibshoosh H, Terry MB, Bose S, Schoenberg JB, Brinton LA, et al. Oral contraceptive use and other risk factors in relation to HER-2/*neu* overexpression in breast cancer among young women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999; 8:413–419.
147. Huang WY, Newman B, Millikan RC, Conway K, Hulka BS, Schell MJ, et al. Risk of breast cancer according to the status of HER-2/*neu* oncogene amplification. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000; 9: 65–71.
148. Jukkola A, Bloigu R, Soini Y, et al. c-erbB-2 Positivity is a factor for poor prognosis in breast cancer and poor response to hormonal or chemotherapy treatment in advanced disease. *Eur J Cancer*. 2001; 37 : 347-354.
149. Murphy LC, Watson P. Steroid receptors in human breast tumorigenesis and breast cancer progression. *Biomed Pharmacother* 2002 ; 56 : 65-77
150. Liu ET, Thor A, He M, Barcos M, Ljung BM, Benz C. The HER2 (c-erbB- 2) oncogene is frequently amplified in *in situ* carcinomas of the breast. *Oncogene*. 1992,5:1027-1032.
151. Liu ET. Oncogenes, breast cancer, and chemoprevention. *J. Cell. Biochem.*, 1993 17G: 161–166.
152. DAKO A/S, Glostrup DK-2600 Denmark, code # K 5204, 2nd edition.
153. Begg, CB, Zhang, Z. F. Statistical analysis of molecular epidemiology studies employing case-series. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev*, 1994,3: 173–175.

154. Couturier J, Vincent-Salomon A, Nicolas A, et al. Strong correlation between results of fluorescent in situ hybridization and immunochemistry for the assessment of ERBB2 (HER-2/neu) gene status in breast carcinoma. *Mod Pathol* 2000, 13, 1238-1243.
155. Matsuda S., Kadowaki Y, Ichino M, Akiyama T, Toyoshima K, Yamamoto T. 17 β -Estradiol mimics ligand activity of the *c-erbB2* proto-oncogene product. *Proc. Natl. Acad. Sci* 1993, 90: 10803–10807,
156. de Bortoli M, Maggiora P, Capello D, Antoniotti S, Saviozzi S., Sapei ML, Dati C. Hormonal control of growth factor receptor expression. *Ann.N. Y. Acad. Sci.*, 1996,784: 336–348
157. Cauley JA, Gutai JP, Kuller LH, LeDonne D, Powell JG. The epidemiology of serum sex hormones in postmenopausal women *Am J Epidemiol* 129, 6, 1120-1131.
158. Bernstein L. Epidemiology of Endocrine-Related Risk Factors for Breast Cancer *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 2002, 1: 3-15.
159. Lippman, ME, Dickson RB. Mitogenic regulation of normal and malignant breast epithelium. *Yale J. Biol. Med* 1989, 62: 459–480.
160. Konecny G, Pauletti G, Pegram M, Untch M, et al. Quantitative Association Between HER-2/neu and Steroid Hormone Receptors in Hormone Receptor-Positive Primary Breast Cancer. *J Natl Ca Inst* 2003, 95, 2:142-153.
161. Kumar R, Yarmand-Bagheri R. The role of HER2 in angiogenesis. *Semin Oncol* 2001 Oct;28(5 Suppl 16):27-32.
162. Kumar-Sinha C, Woods Ignatoski K, Marc E. Lippman, et al. Transcriptome Analysis of HER2 Reveals a Molecular Connection to Fatty Acid Synthesis. *Cancer Res* 2003,63, 132–139.
163. Bouras T, Southey MC, Venter DJ. Overexpression of the Steroid Receptor Coactivator AIB1 in Breast Cancer Correlates with the Absence of Estrogen and Progesterone Receptors and Positivity for p53 and HER2/*neu*. *Cancer Research* 2001,61, 903-907.

164. Crosier M, Scott D, Wilson RG, Griffiths CD, May FE, Westley BR. Differences in Ki67 and c-erbB2 expression between screen-detected and true interval breast cancers. *Clin Cancer Res* 1999, 10 :2682-2688.2002 ; 56 : 65-77.

Research article

Open Access

Correlation of breast cancer risk factors with HER-2/neu protein overexpression according to menopausal and estrogen receptor status

Nikos Tsakountakis*¹, Elias Sanidas², Efstathios Stathopoulos³, Maria Kafousi³, Nektaria Anogiannaki⁴, Vasilis Georgoulas⁵ and Dimitris D Tsiftsis²

Address: ¹Dept of Family and Social Medicine, Heraklion Medical School, University of Crete, Greece, ²Dept of Surgical Oncology, Heraklion Medical School, University of Crete, Greece, ³Dept of Pathology, Heraklion Medical School, University of Crete, Greece, ⁴Dept of Biostatistics, Heraklion Medical School, University of Crete, Greece and ⁵Dept of Medical Oncology, Heraklion Medical School, University of Crete, Greece

Email: Nikos Tsakountakis* - drtsakou@yahoo.gr; Elias Sanidas - esanidas@med.uoc.gr; Efstathios Stathopoulos - stath@med.uoc.gr; Maria Kafousi - christom@uoc.gr; Nektaria Anogiannaki - nanog@mail.gr; Vasilis Georgoulas - georgoul@med.uoc.gr; Dimitris D Tsiftsis - tsiftsis@med.uoc.gr

* Corresponding author

Published: 04 February 2005

Received: 16 October 2004

BMC Women's Health 2005, 5:1 doi:10.1186/1472-6874-5-1

Accepted: 04 February 2005

This article is available from: <http://www.biomedcentral.com/1472-6874/5/1>

© 2005 Tsakountakis et al; licensee BioMed Central Ltd.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/2.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Abstract

Background: Several researchers have claimed that classification of tumours on the basis of HER-2/neu overexpression or amplification may define a subset of breast cancer in which the net effect of a risk factor could be rather more obvious and its impact on breast cancer development more clear. We decided to investigate, in a group of patients from a geographical area with a low incidence of breast cancer, whether HER-2/neu positive tumours are correlated with established or suspected risk factors for breast cancer and thus to identify distinct subgroups of high risk women.

Methods: This study analysed data from patients who attended the Breast Unit at the University Hospital of Heraklion, Crete, Greece between 1996 and 2002. 384 women with primary invasive breast cancer were compared with 566 screened women who were referred to the Unit and had not developed breast neoplasm by the time the data were analysed. Risk factor data were obtained from each subject by personal interviews using a structured questionnaire. The detection and scoring of the HER-2/neu protein, estrogen and progesterone receptor expression were performed using immunochemistry. Odds ratios and 95% confidence intervals were determined by chi-square test and logistic regression analysis. Case-case odds ratios were calculated in order to measure the risk heterogeneity between HER-2/neu+ and HER-2/neu-tumours. Separate analyses were performed for premenopausal and postmenopausal women and according to estrogen receptor status.

Results: In multivariate analysis without HER-2/neu stratification, an increased breast cancer risk was associated with only four of the factors examined: use of oral contraceptives (OR = 4.40, 95%CI: 1.46–13.28), use of HRT (OR = 7.34, 95%CI: 2.03–26.53), an age at first full pregnancy more than 23 years (OR = 1.91, 95%CI: 1.29–2.83) and body mass index more than 29 kg/m² (OR = 3.13, 95%CI: 2.02–4.84). Additionally, a history of abortion or miscarriage (OR = 0.56, 95%CI:

0.38–0.82) was correlated with a decreased risk of breast cancer. In the case to case comparison only BMI >29 kg/m² revealed a relative connection that was stronger with positive than with negative HER-2/*neu* tumours (ratio of OR's = 2.23, 95%CI: 1.20–4.15, p = 0.011). This may indicate evidence of heterogeneity of a rather significant degree for this factor. In the ER negative group an age at first full pregnancy >23 years and a BMI >29 kg/m² were associated with an increased risk in both HER-2/*neu* groups, but the association was significantly stronger for the latter factor in the positive HER-2/*neu* tumours (ratio of OR's = 2.46, 95%CI: 0.97–6.21).

Conclusions: Our study did not confirm that the established or putative hormonal breast cancer risk factors differ regarding their relations with HER-2/*neu*+ versus HER-2/*neu*-breast tumours, with the exception of increased BMI. Further innovative studies with larger sample sizes are needed to examine how the status of these potentially modifiable breast cancer risk factors interacts with biological markers such as HER-2/*neu* oncoprotein.

Background

The HER-2/*neu* oncogene, also known as *c-erb-B2*, *c-neu* or ERBB2, is located in chromosome 17q11.2-12, encoding an EGFR-family like glycoprotein [1]. Its amplification, which is strongly correlated with protein overexpression, occurs in about 15–43% of breast tumours [1-10].

The observation that morphologically similar neoplastic lesions of the breast can exhibit different biology has necessitated the identification of biological parameters that might improve risk assessment; the evaluation of HER-2/*neu* expression is a typical example [11]. Indeed, several studies have demonstrated that HER-2/*neu* amplification represents a prognostic and predictive marker; its expression is associated with early disease recurrence, relative resistance to chemo- and/or hormone therapy and short survival [2,10]. In addition it has been shown that genetic alterations of the HER-2/*neu* oncogene represent early events involved in breast carcinogenesis and tumour initiation, while their presence is observed in all stages of malignant development from *in situ* carcinomas to metastatic lesions [12]. As a result, some researchers have maintained that HER-2/*neu* amplification and/or protein overexpression may also represent not only an important marker of prognosis but also a key indicator of the aetiological heterogeneity of breast carcinogenesis. [3,7-9].

On the other hand, the contribution of even well established breast cancer risk factors to the aetiology of carcinogenesis in the breast remains obscure, ill-defined and tenuous, mostly because of the existence of different pathways for the initiation and the evolution of a breast tumour [13]. In order to explain this incompatibility, several researchers have claimed that classification of tumours on the basis of HER-2/*neu* overexpression or amplification may define a subset of breast cancer in which the net effect of a risk factor could be rather more obvious and its impact on breast cancer development more clear [3,7,8].

Thus, a close correlation of a risk factor with HER-2/*neu* overexpression could indicate either that a HER-2/*neu* alteration is the way that this risk factor evolves into the carcinogenesis or that there is a parallel interaction between them that leads to breast tumour initiation and development. Since the data in the literature supporting the above hypothesis are few and conflicting, we decided to investigate, in a group of patients from a geographical area with a low incidence of breast cancer, whether HER-2/*neu* positive tumours are correlated with established or suspected risk factors for breast cancer and thus to identify distinct subgroups of high risk women.

Methods

This study analysed data derived from the database of the Breast Unit of the Department of Surgical Oncology at the University General Hospital of Heraklion on the island of Crete, Greece. The study considered all women who were consecutively diagnosed with primary, invasive breast cancer in our unit from 1996 to 2002. Subjects of other races, ethnicity, with residence outside Crete or diagnosed with DCIS or LCIS were excluded. Finally, 384 women, all originating from the island of Crete, were eligible for analysis.

An age-stratified random sample of 566 women was used as a control group, derived from the Breast Unit's database of screened patients who had not developed breast cancer after a median follow up period of 40 months (range 12–92 months). Personal interviews were conducted with each woman during her first visit (both patients and controls) by a consultant or a senior resident. The interview followed a structured questionnaire, which did not change during the study period. Anthropometric measures were also made during the first visit.

Women were classified as postmenopausal if their menstrual cycles had ended naturally at least 12 months before the interview or from surgery or radiation therapy at any age. Those who reported not having menstrual

cycles for the last 10 months were considered as perimenopausal and were combined with premenopausal women for the purpose of our analysis.

The following variables were analysed for all patients and controls: residence (rural/urban), age at interview (≤ 50 and >50 years), age at menarche (≤ 12 and >12 years old), age at first full birth (<23 vs. ≥ 23 years old), parity (nulliparous, 1 or 2, and >3), lactation (yes/no), use of medications to suppress lactation (yes/no), abortions and miscarriages (yes/no), age at menopause for postmenopausal women (≤ 50 and >50 years old), use of HRT for more than 2 months (yes/no), use of oral contraceptives for more than 2 months (yes/no), family history of breast cancer in a first degree relative (yes/no), history of benign breast disease (yes/no), obesity on the day of the interview ($\text{BMI} \leq 29 \text{ kg/m}^2$ vs. $\text{BMI} > 29 \text{ kg/m}^2$, median value for the study population) and radiation history of the chest (yes/no).

Immunohistochemical study

For this study, tumour blocks were successfully retrieved in 378 (98.4%) and in 377 (98.17%) of the 384 interviewed cases for the immunohistochemical detection of HER-2/*neu* protein and hormone-receptor expression, respectively.

Immunohistochemical detection and scoring of the HER-2/*neu* protein expression

Immunohistochemistry with the monoclonal antibody CB11 (NCLCB11, Novocastra Laboratories, UK 12 8EW), at a dilution of 1/50 with incubation period of 60 min, was performed using the OPTIMAX automated system with the Super Sensitive Link-Label Detection System RTU Multilink AP/Fast Red, QA200OXE (purchased from Biogenex Laboratories, San Ramon CA 94583 USA), following antigen retrieval by microwave pre-treatment at 500 Watts for 3×5 min in citrate buffer (0.01 M, pH 6). Sections from breast cancer of known positivity were used as positive controls. Negative controls were processed by omitting the primary antibody and substituting non-immune serum. Scoring was based on the criteria recommended by DAKO A/S for the HercepTest [14]. Only membrane staining pattern and intensity were scored using the 0–3+ scale: scores of 0–1+ were considered negative, score 2+ was considered weak positive-need for FISH, and score 3+ was considered (strongly) positive.

Immunohistochemical detection and scoring of estrogen and progesterone receptors

Three (3) μm -thick sections taken on negatively-charged (SuperFrostPlus) slides were dewaxed in xylene, and rehydrated through graded alcohols. Following antigen retrieval by microwave pre-treatment at 500 W for 3×5 min in citrate buffer (0.01 M, pH 6), estrogen receptor

(ER α) and progesterone receptor (PR) expression was detected by immunohistochemistry using the same automated system and detection kit as above, and primary monoclonal antibodies to ER α (DAKO M7047) and PR (Biogenex code # MU 328-UC) at dilutions of 1/50 and 1/20, respectively, with incubation time 60', at room temperature. Positive and negative controls were processed as above. Positive nuclei counting was performed at a final magnification of 400 \times (Teaching double-headed NICON, ECLIPSE E400 microscope, equipped with CFI 10X/22 oculars). After scanning at a final magnification of 100 \times for locating the areas with highest density of ER+ or PR+ carcinoma cell nuclei (hot spots), a 40X/¥0.17 WD 0.65 objective lens was used for cell counting. All carcinoma cells in three hot spots per immunostained slide were evaluated by two pathologists working simultaneously, though independently, and the mean of the two independent counts was considered the final counting value for each field and hot spot. The ratio of the ER+ or PR+ carcinoma cell nuclei was recorded separately for each of the hot spots. The final immunoreactivity index (score) was calculated as the mean percentage of ER+ or PR+ carcinoma cell nuclei in the three hot spots. Specimens were interpreted as positive for ER or PR if at least 10% of the cells demonstrated nuclear staining of any intensity of reactivity, from 1+ to 3+. Staining intensity was graded as negative (0), weak (1+), intermediate (2+) or strong (3+), and reported separately. A mean value of intensity was assigned for specimens in which the staining intensity varied from field to field, and/or from hot spot to hot spot.

Statistical analysis

Odds ratios (OR) and 95% CI (confidence intervals), as approximators of relative risk, were calculated to measure the association of the groups of breast cancer and the risk factors, using the chi-square (χ^2) test. A *p* value <0.05 was defined as significant. The potential association between breast cancers stratified by HER-2/*neu* status and well known predisposing factors was further investigated by using a stepwise logistic regression analysis (backward LR), testing the independent effect of breast cancer risk factors (independent variables) on breast cancer (dependent variable) for all women and also separately for premenopausal and postmenopausal females. In addition, we undertook further stratification with estrogen receptor status by using the same multivariate logistic regression model. These patient-controls odds ratios helped us to detect the pattern of heterogeneity and to explore plausible aetiological correlations between patient subgroups. Additionally, case-case odds ratios were calculated in order to measure the risk heterogeneity between HER-2/*neu*+ and HER-2/*neu*-tumours. It seems that the departure of the OR from unity can reveal the degree of heterogeneity between these subgroups [15].

Table 1: Characteristics of the participants

Factors	Cases N = 384 n(%)	Controls N = 566 n(%)	OR ¹ (95% CI)	OR ² (95% CI)
Age at interview				
≤ 50 years	138(36)	178(31)	1.00	
>50 years	246(64)	388(69)	0.82(0.62–1.08)	NS
Area of residence				
rural	189(49)	292(52)	1.00	
urban	195(51)	274(48)	0.91(0.70–1.18)	NS
Menopausal status				
Pre/perimenopausal	134(35)	170(30)	1.00	
Postmenopausal	250(65)	396(70)	0.80(0.60–1.06)	NS
Age at menopause³				
≤ 50 years	144(59)	252(64)	1.00	
>50 years	102(41)	140(36)	1.28(0.92–1.77)	NS
Age of menarche				
≤ 12 years	155(40)	150(27)	1.86(1.41–2.45)	
>12 years	229(60)	412(73)	1.00	NS
Use of oral contraceptives				
no	341(89)	548(97)	1.00	1.00
yes	43(11)	18(3)	3.84(2.18–6.77)	4.40(1.46–13.28)
Use of HRT³				
no	231(92)	393(99)	1.00	1.00
yes	19(8)	3(1)	10.78(3.15–36.81)	7.34(2.03–26.53)
First degree family history				
no	341(89)	522(92)	1.00	
yes	43(11)	44(8)	1.5(0.96–2.33)	NS
Age at first full pregnancy				
<23 years	106(35)	239(50)	1.00	1.00
≥ 23 years	197(65)	242(50)	1.84(1.37–2.47)	1.91(1.29–2.83)
Parity				
nulliparous	79(20)	78(14)	1.00	
1–2	175(46)	255(45)	0.68(0.47–0.98)	NS
3 plus	130(34)	233(41)	0.55(0.38–0.80)	NS
Abortion or miscarriage				
no	183(57)	247(50)	1.00	1.00
yes	138(43)	248(50)	0.75(0.57–0.99)	0.56(0.38–0.82)
Lactation				
no	67(22)	84(17)	1.00	
yes	238(78)	404(82)	0.74(0.52–1.06)	NS
Medication to suppress lactation				
no	273(90)	438(90)	1.00	
yes	31(10)	50(10)	0.99(0.62–1.60)	NS
Radiation to the chest				
no	372(97)	550(97)	1.00	
yes	12(3)	16(3)	1.11(0.52–2.37)	NS
Body mass index				
≤ 29 kg/m ²	282(74)	498(88)	1.00	1.00
>29 kg/m ²	97(26)	68(12)	2.52(1.79–3.55)	3.13 (2.03–4.84)
Benign breast disease				
no	315(82)	472(83)	1.00	
yes	69(18)	94(17)	1.10(0.78–1.55)	NS

¹Adjusted for age. ²Adjusted for age, residence, menopausal status, menopausal age, menarche age, use of OC, use of HRT, first degree family history, age at first full pregnancy, parity, abortion, lactation, medication to suppress lactation, radiation to the chest, body mass index and benign breast disease. ³Postmenopausal women only.

NS: non significant multivariate OR. **Bold** types: statistically significant values.

Table 2: Characteristics of the tumours of breast cancer patients¹.

Tumour characteristics	HER-2/neu + n = 145 (%)	HER-2/neu- n = 233 (%)	p value
Age at interview			0.533
≤ 50 years	55 (40)	81 (60)	
>50 years	90 (37)	152 (63)	
Staging			0.106
I	30 (45)	36 (55)	
II	76 (35)	143 (65)	
III	20 (34)	39 (66)	
IV	2 (50)	2 (50)	
Unknown	17 (57)	13 (43)	
Tumour size			0.161
T1	55 (44)	71 (56)	
T2	65 (35)	121 (65)	
>T3	10 (29)	25 (71)	
Unknown	15 (48)	16 (52)	
Menopausal status			0.762
Pre/perimenopausal	52 (40)	80 (60)	
Postmenopausal	93 (38)	153 (62)	
Grading			0.577
I	7 (33)	14 (67)	
II	64 (36)	113 (64)	
III	60 (43)	80 (57)	
Unknown	14 (35)	26 (65)	
Node Status			0.119
Negative	55 (33)	112 (67)	
Positive	89 (43)	118 (57)	
Unknown	1 (25)	3 (75)	
Estrogen receptor status			0.108
Er+	60 (33)	120 (67)	
Er -	85 (43)	112 (57)	
Unknown		1	
Progesterone receptor status			0.038
Pr+	49 (49)	52 (51)	
Pr-	96 (35)	180 (65)	
Unknown		1	

¹Data for HER-2/neu status were missing for 6 of the 384 interviewed cases.

Results

Risk factor distributions in breast cancer patients and matched controls are presented in table 1. The mean age at interview was 56.30 years. When all patients were compared with matched controls, and after adjustment for confounding factors, an increased breast cancer risk was associated with only *four* of the factors examined: use of oral contraceptives (OR = 4.40, 95%CI: 1.46–13.28), use of HRT (OR = 7.34, 95%CI: 2.03–26.53), an age at first full pregnancy more than 23 years (OR = 1.91, 95%CI: 1.29–2.83) and body mass index more than 29 kg/m² (OR = 3.13, 95%CI: 2.02–4.84). Additionally, a history of abortion or miscarriage (OR = 0.56, 95%CI: 0.38–0.82) was correlated with a decreased risk of breast cancer. However, the number of oral contraceptive and HRT users was too small for reliable estimates of risk.

Tumour characteristics of breast cancer patients are shown in table 2. Thirty eight percent (145/378) of the tumours showed HER-2/neu protein overexpression. HER-2/neu positive tumours were not related with menopausal state, age at interview, tumour size, grade and stage, nodal and estrogen receptor status, but there was a modest positive association between HER-2/neu and progesterone negative tumours.

Menopausal status and estrogen receptor stratification

Subgroups of women stratified by menopausal status were further analysed by a multivariate stepwise logistic regression model adjusted for the remaining variables (table 3). In the *premenopausal* group of women, an increased risk for HER-2/neu-tumours was observed for those women who reported an age at first full pregnancy ≥ 23 years (OR = 3.56, 95%CI: 1.70–7.46), a BMI > 29 kg/m² (OR = 6.89,

Table 3: Multivariate analysis of risk factors and HER-2/neu overexpression according to menopausal status

Risk Factors	HER-2/neu+ Cases/controls OR (95% CI)	HER-2/neu-Cases/controls OR (95% CI)	Ratio of the OR's Cases+/cases-OR (95% CI)
PREMENOPAUSAL			
Age at first full pregnancy(≥ 23 years)	NS	3.56(1.70–7.46)	NS
Body mass index(>29 kg/m ²)	NS	6.89(2.23–21.25)	NS
Abortion or miscarriage(ever)	NS	0.49(0.23–1.05)	3.12 (1.18–8.24)
First degree family history(positive)	NS	3.30(1.10–9.96)	0.09 (0.01–0.85)
Use of oral contraceptives (ever)	NS	11.19(3.7–33.84)	0.16 (0.04–0.60)
Age of menarche (≤ 12 years)	2.09 (0.99–4.42)	NS	NS
POSTMENOPAUSAL			
Age at first full pregnancy(≥ 23 years)	2.19(1.23–3.91)	1.66(1.03–2.66)	NS
Body mass index(>29 kg/m ²)	4.83(2.75–8.49)	2.67(1.56–4.55)	2.23 (1.20–4.15)
Abortion or miscarriage(ever)	0.50(0.28–0.88)	0.62(0.39–0.97)	NS
First degree family history(positive)	NS	2.23(1.08–4.63)	NS
Use of estrogens (ever)	NS	10.70(2.71–42.31)	0.21 (0.04–1.08)
Use of oral contraceptives (ever)	NS	6.47(1.89–22.16)	NS
Age of menarche (≤ 12 years)	NS	1.72(1.07–2.75)	0.54 (0.28–1.04)
ALL WOMEN			
Age at first full pregnancy(≥ 23 years)	2.19(1.23–3.91)	1.66 (1.03–2.66)	NS
Body mass index(>29 kg/m ²)	4.83(2.75–8.49)	2.67(1.56–4.55)	2.23(1.20–4.15)
Abortion or miscarriage(ever)	0.50(0.28–0.88)	0.62(0.39–0.97)	NS
First degree family history(positive)	NS	2.23(1.08–4.63)	NS
Use of estrogens (ever)	NS	10.70(2.71–42.31)	0.21 (0.04–1.08)
Use of oral contraceptives (ever)	NS	6.47(1.88–22.16)	NS
Age of menarche (≤ 12 years)	NS	1.72(1.07–2.75)	0.54 (0.28–1.04)

Adjusted for age, residence, menopausal status, menopausal age, menarche age, use of OC, use of HRT, first degree family history, age at first full pregnancy, parity, abortion, lactation, medication to suppress lactation, radiation to the chest, body mass index and benign breast disease. NS: non significant.

95%CI: 2.23–21.25), first degree family history (OR = 3.30, 95%CI:1.10–9.96) or use of oral contraceptives (OR = 11.19, 95%CI 3.70–33.84), while an age at menarche less than 12 years was the only factor which slightly increased the risk in premenopausal HER-2/neu+ patients (OR = 2.09, 95%CI 0.99–4.42). Abortion played a less protective role ($p = 0.068$) for HER-2/neu-breast cancer in premenopausal than in postmenopausal women ($p = 0.038$). However, the *intercase* comparison in the premenopausal subgroup showed an evidence of heterogeneity only for the HER-2/neu+ women who had ever had an abortion (ratio of the OR's = 3.12, 95%CI:1.18–8.24), while use of oral contraceptives (OR = 0.16, 95%CI: 0.04–0.60, $p = 0.007$) and a positive first degree family history (OR = 0.09, 95%CI: 0.01–0.85, $p = 0.035$) showed a stronger association for HER-2/neu negative tumours.

The results of logistic regression were identical for *all women* and the *postmenopausal* groups of patients due to the large sample size. Patients with an age of menarche ≤ 12 years (OR = 1.72, 95%CI: 1.07–2.75), first degree family history (OR = 2.23, 95%CI:1.08–4.63), use of HRT (OR = 10.70, 95%CI: 2.71–42.31) or OC (OR = 6.47,

95%CI:1.89–22.16) were at increased risk of developing HER-2/neu-breast cancer only, although the significance of the latter two factors was of little value due to the limited sample size. On the other hand, an age at first full pregnancy ≥ 23 years and a BMI greater than 29 kg/m² increased breast cancer risk independently of HER-2/neu status, while a history of abortion decreased risk in the same way. In the *case to case* comparison only BMI >29 kg/m² revealed a relative stronger connection with positive than with negative HER-2/neu tumours (ratio of OR's = 2.23, 95%CI: 1.20–4.15, $p = 0.011$) and this may indicate an evidence of heterogeneity of a rather significant degree for this factor. The stronger association between an age at menarche ≤ 12 years, use of HRT and negative as opposed to positive HER-2/neu status did not reach statistical significance ($p = 0.067$ and $p = 0.062$, respectively).

A different stratification pattern of our study's population is presented in table 4. This multivariate model, further stratified by estrogen receptor status, confirmed the observed tight connections between HER-2/neu positivity and obesity already shown in the analysis so far. In more detail, although BMI >29 kg/m² elevated risk for both ER

Table 4: Multivariate analysis of risk factors and HER-2/neu overexpression according to ER¹ status.

Risk Factors	HER-2/neu+ Cases/controls OR ² (95% CI) ³	HER-2/neu-Cases/controls OR (95% CI)	Ratio of the OR's Cases+/cases-OR (95% CI)
ER + cases			
Body mass index(>29 kg/m ²)	5.59 (2.58–12.13)	2.84 (1.52–5.32)	NS
Age at 1st pregnancy (≥ 23 years)	2.09 (0.97–4.53)	NS	NS
First degree family history (positive)	NS	2.18 (0.92–5.14)	NS
Abortion or miscarriage (ever)	0.44 (0.20–0.95)	0.56 (0.32–0.99)	NS
ER – cases			
Body mass index(>29 kg/m ²)	5.33 (2.59–10.94)	2.41 (1.15–5.04)	2.46 (0.97–6.21)
Age at 1st pregnancy (≥ 23 years)	2.37 (1.08–5.18)	1.78 (0.93–3.42)	NS
First degree family history (positive)	NS	2.72 (1.05–7.07)	NS
Age of menopause (>50 years)	NS	2.05 (1.10–3.79)	NS
Parity (1–2 children)	NS	2.38 (1.21–4.67)	NS

Adjusted for age, residence, menopausal status, menopausal age, menarche age, use of OC, use of HRT, first degree family history, age at first full pregnancy, parity, abortion, lactation, medication to suppress lactation, radiation to the chest, body mass index and benign breast disease.

¹ER: estrogen receptor. NS: non significant.

negative and positive tumours independently of HER-2/neu status, the association was significantly stronger for positive HER-2/neu tumours in the ER negative group (ratio of OR's = 2.46, 95%CI: 0.97–6.21). Additionally, in the same group an age at first full pregnancy >23 years revealed an increase of risk in both HER-2/neu groups, while first degree family history (OR = 2.72, 95%CI: 1.05–7.07, p = 0.040), age at menopause >50 years (OR = 2.05, 95%CI: 1.10–3.79, p = 0.023) and birth of 1–2 children (OR = 2.38, 95%CI: 1.21–4.67, p = 0.012) elevated risk for HER-2/neu negative tumours only. In the ER+ group of women the direct comparison between cases revealed no associations with any factor at all, while abortion showed a protective pattern against breast cancer which expressed estrogen receptors independently of HER-2/neu status.

Discussion

This epidemiological study, conducted in a low incidence Mediterranean population, [16] found that obesity was related with postmenopausal breast tumours that overexpress HER-2/neu oncoprotein. In fact, increased BMI elevated risk in both groups, but the comparison between HER-2/neu+ and HER-2/neu- tumours revealed a much stronger association with HER-2/neu+ breast cancers.

Very few studies have examined the possibility whether HER-2/neu status can help discriminate aetiologically distinct subgroups of breast cancer cases, and none of them has identified the effect of increased BMI with HER-2/neu positive tumours [3,5,7-9].

More specifically, in contrast with other investigators who have shown an elevated risk for HER-2/neu+ tumours with an early age at first full pregnancy, we found a strong

elevated risk with a late age regardless of HER-2/neu protein expression [3]. Previous findings suggested an inverse relationship between abortion and HER-2/neu+ breast cancers, while we also found this inverse association but independently of HER-2/neu status [7]. Interestingly enough, abortion increased risk for HER-2/neu+ tumours only in the premenopausal group of women. Early contraceptive use has been positively associated with HER-2/neu+ breast cancer in two studies [7,8], but our findings were different, revealing a positive association with HER-2/neu negative tumours. However, because the number of oral contraceptive (and HRT) users in this study was small, this subgroup analysis was hindered by decreased power to detect associations of any magnitude. The slightly protective effect of parity found in the age-adjusted analysis was diminished after logistic regression and did not reveal any association with HER-2/neu status, in contrast with previous findings [7]. Breastfeeding was associated with increased risks for breast cancer in women with HER-2/neu positive tumours in one study while other investigators reported opposite results [3,9]. Although our study population showed a remarkable lactation incidence (almost 80% of the participants) we found no associations at all.

Our findings have similarities and differences with respect to previous reports that examined the associations of breast risk factors with HER-2/neu status. This inconsistency may reflect differences in study design, populations, and laboratory methodology. In this study we used immunochemistry (CB11 monoclonal antibody) to assess the HER-2/neu protein overexpression, which is highly correlated with gene amplification according to previous reports [2,4]. Also, the percentage of women with breast cancer and HER-2/neu protein overexpression

found here was within the limits reported elsewhere [3,5-9].

This lack of relationship between HER-2/*neu* protein over-expression and most of the hormone-related breast cancer risk factors does not completely agree with several hypotheses which have maintained that combined estrogen and HER-2/*neu* activation is closely involved in the same pathway in breast cancer carcinogenesis [17,18].

The only hormone-related factor that was found to be related with HER-2/*neu* positive tumours in our study was high body mass index, which is an established risk factor that has an estrogen-mediated oncogenic effect on the mammary gland. More specifically, obesity is associated with higher breast cancer risk among postmenopausal women through greater lifetime exposure to higher levels of estrogens produced in adipose tissue and lower SHBG production [19,20]. Higher levels of circulating estrogens enhance the rate of cell division, and this hormone-induced cellular proliferation can result in somatic mutations and finally lead to a malignant change. These alterations involve many genes, including those concerned with hormone metabolism and transport, DNA repair, as well as tumour suppressor genes and oncogenes such as the HER-2/*neu* gene [18,21]. According to some investigators, circulating estrogens can stimulate breast cancer cell proliferation, not only through hormone receptors, but also through the HER-2/*neu* receptor, and so promote carcinogenesis through common means [4,17,18].

Numerous epidemiological and experimental studies have shown the strong relationship between HER-2/*neu*-positivity and lack of hormone receptor expression in breast tumours [2,10,18,22]. In our study, HER-2/*neu* positive tumours were weakly related with the absence of estrogen receptors, although this was not statistically significant (see table 2). Because different ER status can result in different correlations between risk factors and HER-2/*neu*+ breast cancer, it is always important to examine these interactions under ER stratification [8]. Since antiestrogens can lower HER-2/*neu* levels in ER negative tumours, it is possible that an excess of estrogens can stimulate HER-2/*neu* in these tumours [8,18]. This mechanism could explain the stronger association between obesity (a situation with an overload of estrogens as mentioned above) and HER-2/*neu*-positivity among ER negative patients that was found in the present study (see table 5).

The interview was conducted during the subjects' first visit to the unit and before clinical examination or any other intervention took place. This constitutes an advantage, because there was no chance that the subjects (both cases and controls) would be influenced by the diagnosis and might therefore falsely inflate the relative risk. Thus, the

likelihood of recall bias is not high, improving the comparability of several covariates in both groups, and the selection bias is lessened since all subjects had taken the same route through the Breast Unit's standard routine procedures.

Since each case group was compared with the same control group, any selection bias would be expected to have a similar effect on the estimates in the tumour subgroups. Thus, it is extremely unlikely that recall bias issues would apply only to those cases in a specific HER-2/*neu* status subgroup. Some caution regarding our findings is related to the size of the study group. In the analyses stratified by HER-2/*neu* and menopausal or ER status numbers are quite small and for some risk estimates the confidence intervals are wide and the estimates of risk unstable.

Conclusions

In conclusion, our study did not confirm that the established or putative hormonal breast cancer risk factors differ regarding their relations with HER-2/*neu*+ versus HER-2/*neu*-breast tumours, with the exception of increased BMI. Further innovative studies with larger sample sizes are needed to examine how the status of these potentially modifiable breast cancer risk factors interacts with biological markers such as HER-2/*neu* oncoprotein. Their findings will provide us with greater insight into breast cancer aetiology and will help us identify any association that would help discriminate subgroups of women at higher risk.

Abbreviations

EGFR: epidermal growth factor receptor, HRT: hormone replacement therapy, BMI: body mass index, SHBG: sex hormone-binding protein, ER: estrogen receptor, PR: progesterone receptor, OC: oral contraceptives.

Competing interests

The author(s) declare that they have no competing interests.

Authors' contributions

NT conceived the study, participated in its design and drafted the manuscript.

ES participated in the design of the study, assisted in writing and reviewed the final article.

EfS and KM scheduled and performed the laboratory analysis.

NA performed the statistical analyses.

VG and DDT participated in the design and coordination of the study and reviewed the final article.

All authors have read, discussed and approved the manuscript.

Acknowledgements

None.

References

- Callahan R: **Genetic alterations in primary breast cancer.** *Breast Cancer Res Treat* 1989, **13**:191-203.
- Ciocca DR, Fujimura FK, Tandon AK, Clark GM, Mark C, Lee-Chen GJ, Pouns GW, Vendely P, Owens MA, Pandian MR: **Correlation of HER-2/neu amplification with expression and with other prognostic factors in 1103 breast cancers.** *J Natl Cancer Inst* 1992, **84**:1279-1282.
- Treurniet HF, Rookus MA, Peterse HL, Hart AA, van Leeuwen FE: **Differences in breast cancer risk factors to neu (c-erbB2) protein overexpression of the breast tumor.** *Cancer Res* 1992, **52**:2344-2345.
- Isola JL, Chu S, DeVries K, Matsumura K, Chew K, Ljung BM, Waldman FM: **Genetic Alterations in ERBB2-amplified Breast Carcinomas.** *Clin Cancer Res* 1999, **5**:4140-4145.
- Rosen PP, Lesser ML, Arroyo CD, Cranor M, Borgen P, Norton L: **Immunohistochemical detection of HER2/neu in patients with auxiliary lymph node negative breast carcinoma.** *Cancer* 1995, **75**:1320-1326.
- De Potter CR: **The neu-oncogene: more than a prognostic indicator?** *Hum Pathol* 1994, **25**:1264-1268.
- Olsson H, Borg A, Ferno M, Ranstam J, Sirgurdsson H: **Her-2/neu and INT2 proto-oncogene amplification in malignant breast tumors in relation to reproductive factors and exposure to exogenous hormones.** *J Natl Cancer Inst* 1991, **83**:1483-1487.
- Gammon MD, Hibshoosh H, Terry MB, Bose S, Schoenberg JB, Brinton LA, Bernstein JL, Thompson WD: **Oral contraceptive use and other risk factors in relation to HER-2/neu overexpression in breast cancer among young women.** *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999, **8**:413-419.
- Huang WY, Newman B, Millikan RC, Conway K, Hulka BS, Schell MJ, Liu ET: **Risk of breast cancer according to the status of HER-2/neu oncogene amplification.** *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000, **9**:65-71.
- Jukkola A, Bloigu R, Soini Y, Savolainen ER, Holli K, Blanco G: **c-erbB-2 Positivity is a factor for poor prognosis in breast cancer and poor response to hormonal or chemotherapy treatment in advanced disease.** *Eur J Cancer* 2001, **37**:347-354.
- Murphy LC, Watson P: **Steroid receptors in human breast tumorigenesis and breast cancer progression.** *Biomed Pharmacother* 2002, **56**:65-77.
- Liu ET, Thor A, He M, Barcos M, Ljung BM, Benz C: **The HER2 (c-erbB-2) oncogene is frequently amplified in situ carcinomas of the breast.** *Oncogene* 1992, **5**:1027-1032.
- Liu ET: **Oncogenes, breast cancer, and chemoprevention.** *J Cell Biochem* 1993, **17G**:161-166.
- DAKO A/S, Glostrup DK-2600 Denmark, code # K 5204 2.
- Begg CB, Zhang ZF: **Statistical analysis of molecular epidemiology studies employing case-series.** *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1994, **3**:173-175.
- Vlachonikolis IG†, Aletra TJ, Georgoulis V: **Incidence of breast cancer on Crete, 1994-1995.** *Eur J Cancer* 2002, **38**:574-577.
- Matsuda S, Kadowaki Y, Ichino M, Akiyama T, Toyoshima K, Yamamoto T: **17b-Estradiol mimics ligand activity of the c-erb B2 proto-oncogene product.** *Proc Natl Acad Sci* 1993, **90**:10803-10807.
- De Bortoli M, Maggiora P, Capello D, Antonioti S, Saviozzi S, Sapei ML, Dati C: **Hormonal control of growth factor receptor expression.** *Ann N Y Acad Sci* 1996, **784**:336-348.
- Cauley JA, Gutai JP, Kuller LH, LeDonne D, Powell JG: **The epidemiology of serum sex hormones in postmenopausal women.** *Am J Epidemiol* 1996, **129**(6):1120-1131.
- Bernstein L: **Epidemiology of endocrine-related risk factors for breast cancer.** *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2002, **1**:3-15.
- Lippman ME, Dickson RB: **Mitogenic regulation of normal and malignant breast epithelium.** *Yale J Biol Med* 1989, **62**:459-480.
- Konecny G, Pauletti G, Pegram M, Untch M, Dandekar S, Aguilar Z, Wilson C, Rong HM, Bauerfeind I, Felber M, Wang HJ, Beryt M, Seshadri R, Hepp H, Slamon DJ: **Quantitative association between her-2/neu and steroid hormone receptors in hormone receptor-positive primary breast cancer.** *J Natl Ca Inst* 2003, **95**(2):142-153.

Pre-publication history

The pre-publication history for this paper can be accessed here:

<http://www.biomedcentral.com/1472-6874/5/1/prepub>

Publish with **BioMed Central** and every scientist can read your work free of charge

"BioMed Central will be the most significant development for disseminating the results of biomedical research in our lifetime."

Sir Paul Nurse, Cancer Research UK

Your research papers will be:

- available free of charge to the entire biomedical community
- peer reviewed and published immediately upon acceptance
- cited in PubMed and archived on PubMed Central
- yours — you keep the copyright

Submit your manuscript here:
http://www.biomedcentral.com/info/publishing_adv.asp

