

Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



ESCOLA NACIONAL DE SAÚDE PÚBLICA
SERGIO AROUCA
ENSP

“Câncer de mama em mulheres jovens: incidência, mortalidade e associação com os polimorfismos dos genes NQ01, CYP17 e CYP19”

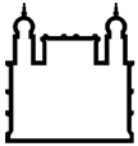
por

Sabrina da Silva Santos

Tese apresentada com vistas à obtenção do título de Doutor em Ciências na área de Saúde Pública e Meio Ambiente.

Orientador: Prof. Dr. Sergio Koifman

Rio de Janeiro, junho de 2013.



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



Esta tese, intitulada

“Câncer de mama em mulheres jovens: incidência, mortalidade e associação com os polimorfismos dos genes NQ01, CYP17 e CYP19”

apresentada por

Sabrina da Silva Santos

foi avaliada pela Banca Examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Dr. Afrânio Coelho de Oliveira

Prof.^a Dr.^a Cláudia Vitória de Moura Gallo

Prof.^a Dr.^a Rosane Vianna-Jorge

Prof. Dr. Reinaldo Souza dos Santos

Prof. Dr. Sergio Koifman – Orientador

Tese defendida e aprovada em 10 de junho de 2013.

Catálogo na fonte
Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica
Biblioteca de Saúde Pública

S237 Santos, Sabrina da Silva
Câncer de mama em mulheres jovens: incidência,
mortalidade e associação com os polimorfismos dos genes
NQO1, CYP17 e CYP19. / Sabrina da Silva Santos. -- 2013.
xiv,132 f. : tab. ; graf. ; mapas

Orientador: Koifman, Sergio
Tese (Doutorado) – Escola Nacional de Saúde Pública
Sergio Arouca, Rio de Janeiro, 2013.

1. Neoplasias da Mama - epidemiologia. 2. Neoplasias da
Mama - mortalidade. 3. Incidência. 4. Polimorfismo Genético.
5. Mulheres. 6. Adulto Jovem. I. Título.

CDD – 22.ed. – 616.99449

*Seria mais fácil fazer como todo mundo faz.
O caminho mais curto, produto que rende mais.
Seria mais fácil fazer como todo mundo faz.
Um tiro certo, modelo que vende mais.*

*Mas nós vibramos em outra frequência,
sabemos que não é bem assim.
Se fosse fácil achar o caminho das pedras,
tantas pedras no caminho não seria ruim*

(Engenheiros do Hawaii - Outras Frequências)

AGRADECIMENTOS

- A **Deus**.
- Aos **meus pais**, pelo amor, amizade e incentivo em todos os momentos da minha vida.
- A todos os **meus familiares** e amigos pelo carinho e por sempre torcerem por mim.
- Ao Dr. **Sergio Koifman**, pela orientação deste trabalho e pelo exemplo de profissional. Agradeço a oportunidade de ter realizado este projeto e todo o aprendizado adquirido nestes seis anos de convívio.
- Às companheiras e amigas do laboratório: **Vanessa** (pela amizade e por tornar as horas no laboratório mais divertidas), **Lilian, Rafaela, Lara, Ilce, Camila, Leticia** (por toda contribuição a este projeto) e **Michele** (pela dedicação as entrevistas).
- A todos os professores e amigos do departamento: **Rosalina, Inês, Gina, Gelcio, Arnaldo e Jeniffer** (companheira de “aventuras”).
- Ao **Guillermo** por toda dedicação a este estudo de caso-cotrole.
- À **CAPES** pelo financiamento deste projeto através da bolsa de Doutorado.
- Aos profissionais dos Hospitais participantes e a todas as mulheres entrevistadas neste estudo.
- A todos que, direta ou indiretamente, colaboraram para a realização deste trabalho.

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

		<i>Página</i>
Figura 1	Distribuição dos tipos de câncer mais incidentes no mundo, em mulheres, para o ano de 2008, exceto pele não melanoma.	2
Figura 2	Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes em mulheres brasileiras estimados para 2013, exceto pele não melanoma.	2
Figura 3	Representação espacial das taxas brutas de incidência de câncer de mama por 100 mil mulheres, estimadas para o ano de 2013.	3
Figura 4	Reações catalisadas pelas enzimas CYP17 e CYP19.	22
ARTIGO I	Cancer incidence, hospital morbidity, and mortality in young adults in Brazil	34
Table 1	Cancer incidence in main anatomical sites in selected cities, males, 20-24 years, Brazil, 2000-2002.	55
Table 2	Cancer incidence and number of cases in main anatomical sites in selected cities, females, 20-24 years, Brazil, 2000-2002.	56
Table 3	Cancer mortality in main anatomical sites in selected cities, males, 20-24 years, Brazil, 2000-2002.	57
Table 4	Cancer mortality and number of cases in main anatomical sites in selected cities, females, 20-24 years, Brazil, 2000-2002.	58
Table 5	Average annual percent change (AAPC) in cancer mortality rate by gender, 20-24 years, Brazil, 1980-2008.	59

ARTIGO II	Incidência e mortalidade por câncer de mama em mulheres menores de 50 anos no Brasil	60
Figura 1	Incidência de câncer de mama, mulheres de 15 a 49 anos, Brasil (cidades selecionadas, 2002-2004) e outros países (2008).	86
Figura 2	Proporção de hospitalizações por câncer de mama no SUS segundo faixa etária, Brasil e cidades selecionadas, 1995-2009.	87
Figura 3	Mortalidade por câncer de mama, mulheres de 15 a 49 anos, Brasil (cidades selecionadas, 2002-2004) e outros países (2008).	88
Tabela 1	Percentual médio de alteração anual (AAPC) da taxa de incidência por câncer de mama, segundo faixa etária, cidades brasileiras selecionadas, 1988-2008.	89
ARTIGO III	<i>CYP17, CYP19 and NQO1</i> genetic polymorphisms and breast cancer susceptibility in young women in Brazil	90
Table 1	Distribution of breast cancer cases and controls according to selected variables, Rio de Janeiro, Brazil, 1999-2012.	96
Table 2	Distribution of breast cancer cases and controls according to <i>CYP17, CYP19 and NQO1</i> genotypes, Rio de Janeiro, Brazil, 1999-2012.	98

LISTA DE ABREVIATURAS

A	– adenina
APC	– variação percentual anual (“annual percentual change”)
<i>ATM</i>	– gene codificador da proteína relacionada com a ataxia-talangiectasia
bp	– pares de bases
BPA	– bisfenol-A
<i>BRCA1</i>	– gene “breast cancer 1”
<i>BRCA2</i>	– gene “breast cancer 2”
C	– citosina
<i>CHEK2</i>	– gene codificador da quinase CHEK2
<i>COMT</i>	– gene codificador da catecol-o-metiltransferase
CPNPC	– carcinoma de pulmão de não pequenas células
CYP	– citocromo P450
<i>CYP17</i>	– citocromo P450c17 α
<i>CYP17</i>	– gene codificador do citocromo P450c17 α
<i>CYP19</i>	– citocromo P450 aromatase
<i>CYP19</i>	– gene codificador da citocromo P450 aromatase
DDD	– dicloro-difenil-dicloreoetano
DDE	– dicloro-difenil-dicloretileno
DDT	– dicloro-difenil-tricloroetano
DNA	– ácido desoxirribonucléico
ENSP	– Escola Nacional de Saúde Pública
EPIC	– “European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition”
ER	– receptor de estrogênio
FAD	– flavina-adenina-dinucleotídeo

FIOCRUZ	– Fundação Oswaldo Cruz
G	– guanina
GST	– glutathione S-transferases
HER2	– receptor do fator de crescimento epidérmico humano tipo 2
HR	– “hazard ratio”
IC	– intervalo de confiança
IGF	– fator de crescimento semelhante à insulina
IMC	– índice de massa corporal
Kb	– kilobase
KIP1	– inibidor de quinases ciclinas dependentes
<i>LKB1</i>	– gene codificador da serina treonina quinase
LLA	– leucemia linfóide aguda
LMA	– leucemia mielóide aguda
MDM2	– ubiquitina ligase E3
<i>MLH1</i>	– gene codificador da proteína de reparo de erros de pareamento MLH1
MnSOD	– enzima manganês superóxido dismutase
<i>MnSOD</i>	– gene codificador da manganês superóxido dismutase
mRNA	– RNA mensageiro
<i>MSH2</i>	– gene codificador da proteína de reparo de erros de pareamento MSH2
<i>MspAII</i>	– enzima de restrição derivada do gene <i>MspAII</i> de <i>Moraxella</i> species
NADH	– nicotinamida adenina dinucleótido
NADPH	– nicotinamida adenina dinucleotide fosfato reduzida
NQO1	– NAD(P)H:quinona oxidoreductase 1
<i>NQO1</i>	– gene codificador da NAD(P)H:quinona oxidoreductase
OR	– “odds ratio”
<i>p</i>	– probabilidade

PCBs	– bifenilas policloradas
PR	– receptor de progesterona
<i>PTEN</i>	– gene codificador da Fosfatase homóloga a tensina
RNA	– ácido ribonucléico
ROS	– espécies reativas de oxigênio
RR	– risco relativo
SHBG	– globulina de ligação a hormônios sexuais
SNP	– polimorfismo de base única (do inglês “Single Nucleotide Polymorphism”)
<i>SULT1A1</i>	– gene codificador da sulfotransferase 1A1
T	– timina
<i>TP53</i>	– gene codificador do fator de transcrição p53
<i>TWIST1</i>	– gene codificador do fator de transcrição hélice-alça-hélice básico 1
UTR	– região não traduzida
VDR	– receptores da vitamina D
10q24.3	– braço longo do cromossomo 10, região 24.3
15q21.2	– braço longo do cromossomo 15, região 21.2
16q22	– braço longo do cromossomo 16, região 22
25(OH)D	– 25-hidroxivitamina D

SUMÁRIO

	<i>Página</i>
RESUMO	xiii
ABSTRACT	xiv
I. INTRODUÇÃO	1
1. FATORES DE RISCO PARA O CÂNCER DE MAMA	6
1.1. Fatores Ambientais	6
1.1.1. Variáveis reprodutivas e exposição hormonal	6
1.1.2. Disruptores endócrinos	8
1.1.3. Dieta e obesidade	9
1.1.4. Outros fatores de risco	13
1.2. Fatores Genéticos	16
1.2.1. Câncer de mama hereditário	16
1.2.2. Polimorfismos genéticos	18
2. CITOCROMO P450c17 α (CYP17) E CITOCROMO P450 AROMATASE (CYP19)	21
2.1. Polimorfismos genéticos da <i>CYP17</i>	22
2.2. Polimorfismos genéticos da <i>CYP19</i>	24
3. NAD(P)H:QUINONA OXIDOREDUTASE 1 (NQO1)	26
3.1. Polimorfismos genéticos da <i>NQO1</i>	28
II. JUSTIFICATIVA	30
III. OBJETIVOS	32
1. OBJETIVO GERAL	32
2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	32
IV. METODOLOGIA	33

V. ARTIGO I - Cancer incidence, hospital morbidity, and mortality in young adults in Brazil	34
VI. ARTIGO II - Incidência e mortalidade por câncer de mama em mulheres menores de 50 anos no Brasil	60
VII. ARTIGO III - <i>CYP17</i> , <i>CYP19</i> and <i>NQO1</i> genetic polymorphisms and breast cancer susceptibility in young women in Brazil	90
VIII. CONSIDERAÇÕES FINAIS	110
IX. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	112

RESUMO

Introdução: Ainda são relativamente poucos os estudos realizados mundialmente para caracterizar a distribuição das taxas de incidência e mortalidade por câncer em jovens, bem como para a exploração dos aspectos biológicos desses tumores. Adicionalmente, em relação ao câncer de mama, têm sido publicados relatos sugerindo um aumento na incidência e na mortalidade em mulheres jovens em diferentes populações, sendo os polimorfismos genéticos associados ao câncer de mama nestas mulheres, ainda pouco estudados. **Objetivo:** caracterizar a distribuição epidemiológica do câncer em adultos jovens no Brasil com ênfase no câncer de mama feminino e determinar a magnitude de associação de polimorfismos nos genes *CYP17*, *CYP19* e *NQO1* e a ocorrência de câncer de mama em mulheres jovens. **Métodos:** Foram realizados dois estudos descritivos da incidência, da morbidade hospitalar e da mortalidade por câncer no Brasil. O primeiro analisou a distribuição epidemiológica do câncer em jovens de 20-24 anos e o segundo analisando o câncer de mama em mulheres menores de 50 anos. Adicionalmente, foi realizado um estudo epidemiológico-molecular explorando a associação dos polimorfismos dos genes *CYP17*, *CYP19* e *NQO1* com câncer de mama em mulheres jovens. Este estudo consiste em um braço de uma investigação caso-controle de base hospitalar realizada na cidade do Rio de Janeiro, com 270 casos de câncer de mama e 270 controles ambos entre 18-35 anos. **Resultados:** Nos jovens entre 20-24 anos, o câncer de testículo foi a principal localização anatômica em homens, as neoplasias da glândula tireoide, do colo de útero e a doença de Hodgkin nas mulheres e o câncer de encéfalo a principal causa de morte por câncer em ambos os sexos. Em mulheres menores de 50 anos, os resultados sugerem um aumento das taxas de incidência de câncer de mama na maior parte das capitais brasileiras analisadas. Nosso estudo caso-controle não observou a presença de associação entre o polimorfismo *MspAI* do gene *CYP17* e Arg²⁶⁴Cys do gene *CYP19* e a ocorrência de câncer de mama em mulheres menores de 36 anos. Entretanto, um aumento estatisticamente significativo do risco estimado de câncer de mama foi identificado em mulheres que possuíam pelo menos um alelo polimórfico do gene *NQO1* (OR 1,96; IC 95% 1,13-3,40), quando ajustado por variáveis de confundimento selecionadas. **Conclusão:** Nossos resultados retratam o padrão epidemiológico do câncer em adultos jovens no Brasil e sugerem que o polimorfismo ⁶⁰⁹T da *NQO1* possa ser um fator de risco para o câncer de mama em mulheres jovens.

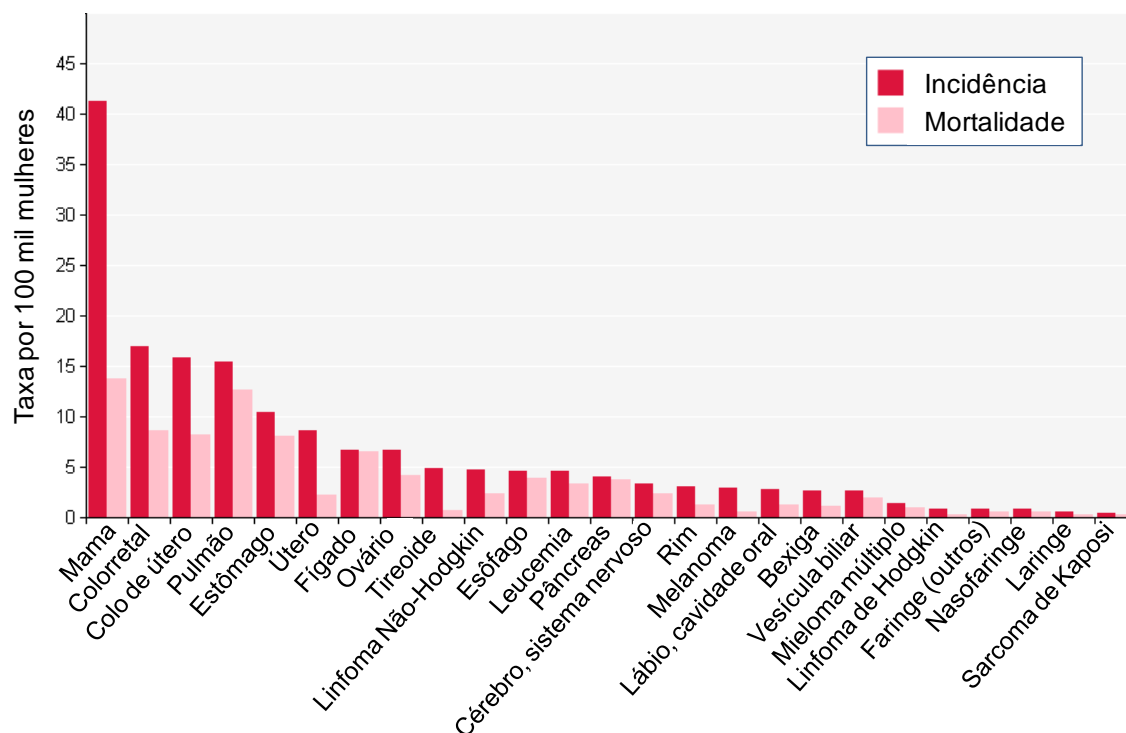
ABSTRACT

Introduction: Worldwide, there are still relatively few studies to characterize the distribution of cancer incidence and mortality rates in young adults or which explore the biological characteristics of these tumors. Additionally, in relation to breast cancer, reports have been published suggesting an increase in the incidence and mortality in young women, in different populations, being genetic polymorphisms associated with breast cancer in these women little studied. **Objective:** To characterize the epidemiological distribution of cancer in young adults in Brazil with emphasis on female breast cancer and to determine the magnitude of association of *CYP17*, *CYP19* and *NQO1* polymorphisms and occurrence of breast cancer in young women. **Methods:** Two studies were conducted describing the incidence, morbidity and mortality from cancer in Brazil. The first examined the epidemiological distribution of cancer in young people (20-24 yr.) and the second examines breast cancer in women younger than 50 years. Additionally, we performed an epidemiological-molecular study exploring the association between *CYP17*, *CYP19* and *NQO1* polymorphisms and breast cancer in young women. This study consists of an arm of a hospital case-control study in Rio de Janeiro city, with 270 breast cancer cases and 270 controls both between 18-35 years. **Results:** In young people between 20-24 years old, testicular cancer was the principal anatomical site in men, thyroid neoplasm, cervical cancers and Hodgkin's disease in women and brain cancer the leading cause of cancer death in both sexes. In women younger than 50 years old, the results suggest an increase in breast cancer incidence rates in most Brazilian cities analyzed. Our case-control study found no association between the presence of *CYP17* *MspA1* and *CYP19* Arg²⁶⁴Cys polymorphism and the occurrence of breast cancer in women under 36 years old. However, a statistically significant increase in the estimated risk of breast cancer was found in women who had at least one *NQO1* polymorphic allele (T); (OR 1.96, 95% CI 1.13-3.40), following adjustment for selected confounders. **Conclusion:** Our results show an epidemiological pattern of cancer in young adults in Brazil and suggest that the *NQO1* ⁶⁰⁹T polymorphism may be a risk factor for breast cancer in young women.

I. INTRODUÇÃO

O câncer de mama é a neoplasia mundialmente mais incidente entre as mulheres, com cerca de 1,38 milhões de casos novos anuais (Ferlay *et al.*, 2010). Além disso, embora seja considerado um câncer com bom prognóstico se detectado precocemente, o câncer de mama continua sendo a principal causa de morte por câncer entre as mulheres (Boyle e Levin 2008; Ferlay *et al.*, 2010); (Figura 1). No Brasil, de acordo com a Estimativa de Incidência de Câncer para 2013 (INCA, 2011), o câncer de mama feminina será o tipo de câncer mais frequente entre as mulheres, excluindo-se os tumores da pele não melanoma. O número esperado de novos casos, para 2013, é de 52.680, com uma taxa estimada de 52 casos a cada 100 mil mulheres (Figura 2). Esse panorama se repete nas regiões Sudeste (69/100 mil), Sul (65/100 mil), Centro-Oeste (48/100 mil) e Nordeste (32/100 mil), do Brasil. Já na região Norte o câncer de mama é o segundo tumor mais incidente (excluindo-se o câncer de pele não melanoma; 19/100 mil), sendo o câncer do colo do útero o mais incidente (24/100 mil); (INCA, 2011); (Figura 3).

Figura 1: Distribuição dos tipos de câncer mais incidentes no mundo, em mulheres, para o ano de 2008, exceto pele não melanoma.



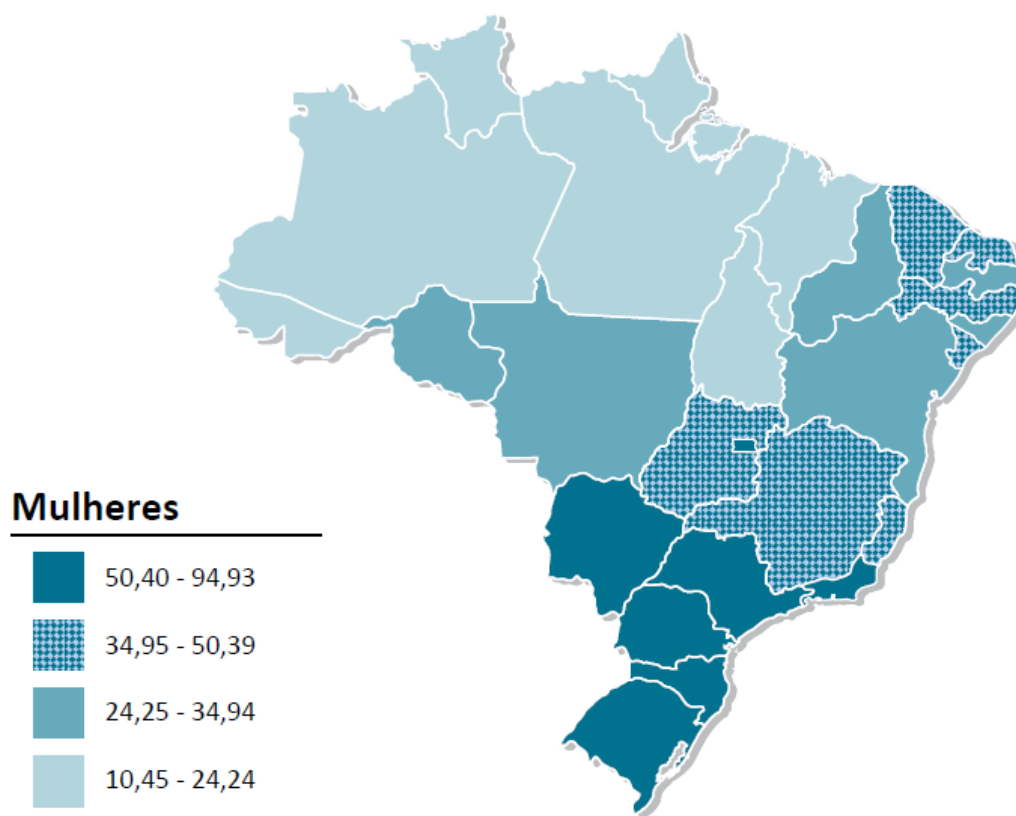
Adaptado de GLOBOCAN, 2008 (Ferlay *et al.*, 2010)

Figura 2: Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes em mulheres brasileiras, estimados para 2013, exceto pele não melanoma.

	Localização primária	casos novos	percentual
Mulheres 	Mama Feminina	52.680	27,9%
	Colo do Útero	17.540	9,3%
	Cólon e Reto	15.960	8,4%
	Glândula Tireoide	10.590	5,6%
	Traqueia, Brônquio e Pulmão	10.110	5,3%
	Estômago	7.420	3,9%
	Ovário	6.190	3,3%
	Corpo do Útero	4.520	2,4%
	Linfoma não Hodgkin	4.450	2,4%
	Sistema Nervoso Central	4.450	2,4%

Fonte: INCA, 2011

Figura 3: Representação espacial das taxas brutas de incidência de câncer de mama por 100 mil mulheres, estimadas para o ano de 2013.



Fonte: INCA, 2011

Apesar da maior incidência do câncer de mama ocorrer em mulheres a partir dos 50 anos de idade, têm sido publicados relatos sugerindo um aumento na incidência e na mortalidade por câncer de mama em mulheres jovens em diferentes populações de várias partes do mundo.

Cardona e Agudelo (2007) verificaram uma tendência de aumento das taxas de mortalidade por câncer de mama em mulheres de 20 a 44 anos entre 1994-2003 em Medellín, Colômbia, embora as taxas de mortalidade por câncer de mama em mulheres de 45-64 anos se mantivessem constantes naquele país, durante o mesmo período. Um aumento das taxas de mortalidade por câncer de mama também foi verificado no Irã entre 1995-2004, sendo este

maior em mulheres de 15-49 anos, comparado com as mulheres de 50 anos ou mais (Taghavi *et al.*, 2012).

Recentemente, Wu e colaboradores (2012) verificaram um aumento estatisticamente significativo na incidência de câncer de mama em mulheres de 15-49 anos entre 1973-2005 em Xangai, China, observando uma variação percentual anual (APC) de 2,9 (IC 95% 2,5-3,4). Nos Estados Unidos, Johnson e colaboradores (2013) verificaram, em mulheres de 25-35 anos, um aumento, estatisticamente significativo, na incidência do câncer de mama com metástase em outros órgãos (ossos, cérebro, pulmão, etc., excluindo metástase em regiões mais próximas como linfonodos e parede torácica) no momento do diagnóstico, de 1,53 (IC 95% 1,01-2,21) por 100.000 em 1976 a 2,90 (IC 95% 2,31-3,59) por 100.000 em 2009 (APC 2,07; IC 95% 1,57-2,58), sem um aumento correspondente em mulheres de maior idade. Adicionalmente, um aumento da incidência de câncer de mama foi verificado na França (entre 1991-2003) em mulheres menores de 50 anos (Fontenoy *et al.*, 2010) e na Espanha (entre 1980-2004) em mulheres de 25-45 anos (Pollán *et al.*, 2009).

Já no Brasil, Gonçalves e Barbosa (2006) verificaram um aumento significativo no percentual de internações por câncer de mama em mulheres < 30 anos nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais e Espírito Santo no período de 1998-2003. No Rio de Janeiro também se observou um aumento no número de óbitos por câncer de mama feminino nas faixas etárias mais jovens (30-49 anos; 1998-2003), sendo as taxas de mortalidade do Rio de Janeiro nessa idade as mais elevadas comparativamente àquelas observadas nos demais estados da região Sudeste (Gonçalves e Barbosa, 2006). Adicionalmente, em Goiânia, Freitas-Junior e colaboradores (2008) verificaram um aumento significativo na taxa de incidência de câncer de mama, em mulheres de 30-49 anos, entre 1988-2003.

Acredita-se que este aumento na incidência de câncer de mama em mulheres jovens não possa, entretanto, ser atribuído a uma elevação no diagnóstico da doença, tendo em vista que as mulheres jovens não estão incluídas nas políticas públicas de rastreamento do câncer

de mama. No Brasil, o Ministério da Saúde recomenda como principais estratégias de rastreamento populacional um exame mamográfico, pelo menos a cada dois anos, para mulheres de 50-69 anos de idade, e o exame clínico anual das mamas, para mulheres de 40-49 anos de idade. O exame clínico da mama deve ser realizado em todas as mulheres que procuram o serviço de saúde, independentemente da faixa etária, como parte do atendimento à saúde da mulher. Para mulheres de grupos populacionais considerados de risco elevado para o câncer de mama (com história familiar de câncer de mama em parentes de primeiro grau), recomenda-se o exame clínico da mama e a mamografia, anualmente, a partir de 35 anos de idade (Brasil / Ministério da Saúde / INCA, 2004).

Considerando a literatura sobre a história natural do câncer de mama, uma tendência de aumento em mulheres menores de 39 anos não seria esperada. Esta faixa etária é descrita como sendo de baixa incidência desta neoplasia, uma vez que nela a ocorrência de casos esporádicos de câncer de mama não seria usual, e sim aqueles com antecedentes de agregação familiar, os quais representam cerca de 5% de todos os casos de câncer de mama (Stewart e Kleihues, 2003). Assim, um possível aumento da incidência de câncer de mama nestas mulheres poderia estar refletindo uma elevação de neoplasias esporádicas decorrentes de novas exposições ambientais.

Um estudo exploratório realizado no Rio de Janeiro, em mulheres com 35 anos ou menos diagnosticadas com câncer de mama durante o período 1999-2002, observou que diversos fatores de risco poderiam influenciar o aparecimento precoce deste câncer neste grupo. Entre estes podem ser citados idade da primeira gestação superior a 25 anos, ciclos menstruais irregulares, antecedentes de uso de anticoncepcionais orais, alto consumo de carne vermelha na adolescência, diagnóstico prévio de enfermidade benigna da mama (Ortega-Jácome 2003) e exposição a pesticidas (Ortega-Jácome *et al.*, 2010).

Alguns trabalhos na literatura relatam que o câncer de mama em mulheres jovens apresentaria um comportamento mais agressivo do tumor e um pior prognóstico que aquele

diagnosticado em idades mais avançadas (Anders *et al.*, 2009; Fredholm *et al.*, 2009). Estas características podem ser parcialmente explicadas pelo fato de mulheres com até 35 anos de idade geralmente possuírem um estado mais avançado de câncer de mama no momento do diagnóstico, uma maior prevalência de comprometimento linfonodal axilar, tumores menos diferenciados e com uma maior taxa de proliferação, e uma maior taxa de reincidência do câncer (Marie Swanson *et al.*, 2003; Gajdos *et al.*, 2000). Adicionalmente, o câncer de mama molecularmente caracterizado como sendo de subtipo triplo-negativo, assim definido por não expressar os receptores de estrogênio (ER), de progesterona (PR) e do fator de crescimento epidérmico humano (HER2), é frequentemente observado nas pacientes mais jovens. Este subtipo é usualmente mais agressivo do que os tumores pertencentes a outros subgrupos moleculares, sendo a quimioterapia o único tratamento atualmente disponível para os pacientes com este subtipo de tumor (Reis-Filho e Tutt, 2008).

1. FATORES DE RISCO PARA O CÂNCER DE MAMA

1.1. Fatores Ambientais

1.1.1. Variáveis reprodutivas e exposição hormonal

Os fatores de risco para o câncer de mama estão relacionados principalmente à vida reprodutiva da mulher. Vários estudos epidemiológicos vêm apontando um risco elevado de câncer de mama como associado à menarca precoce (Msolly *et al.*, 2013; Beji e Reis, 2007; Gao *et al.*, 2000), nuliparidade ou idade avançada no nascimento do primeiro filho (Lee *et al.*, 2003 a; Gao *et al.*, 2000), nunca ter amamentado (Lodha *et al.*, 2011; Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer, 2002 a; Gao *et al.*, 2000), menopausa tardia (Shamsi *et al.*, 2013; Naieni *et al.*, 2007; Gao *et al.*, 2000), reposição hormonal durante a menopausa (Rozenberg *et al.*, 2013) e possivelmente o uso de contraceptivos orais (Urban *et al.*, 2012;

Parkin, 2011; Zhu *et al.*, 2012). Um ponto em comum entre estes fatores de risco é a exposição excessiva ao hormônio estrogênio durante a vida da mulher, sugerindo que esta exposição tenha um papel importante na causa do câncer de mama (Yager, 2000).

O estrogênio afeta a taxa de divisão celular através da estimulação dos receptores de estrogênio (ER) presentes na mama. As células em divisão estão mais suscetíveis a erros genéticos durante a replicação do DNA, e as mutações assim produzidas, podem futuramente conduzir ao desenvolvimento de um tumor (Feigelson e Henderson, 1996). Embora este processo tenha um importante papel na carcinogênese induzida pelo estrogênio, existem, outros mecanismos pelos quais o estrogênio pode afetar o risco de desenvolvimento do câncer de mama.

O estrogênio, assim como outros carcinógenos químicos em seu processo de biotransformação e eliminação, é metabolizado pelas enzimas da família citocromo P450 (CYP1A1/1A2, CYP1B1 e CYP3A4, principalmente), formando metabólitos hidroxilados. Alguns destes metabólitos podem sofrer duas novas oxidações catalisadas pelas enzimas do citocromo P450 ou por várias peroxidases, gerando semiquinonas e posteriormente quinonas (Cavalieri *et al.*, 2000, Yager, 2000).

As quinonas e as semiquinonas são moléculas reativas que podem formar adutos diretamente com as macromoléculas celulares, incluindo o DNA, sendo assim provavelmente associadas às etapas precoces da carcinogênese. Adicionalmente, as semiquinonas podem reduzir outras moléculas formando quinonas e espécies reativas de oxigênio (ROS), tal como o ânion superóxido, oxigênio *singlet* e radical hidroxila (Nioi e Hayes, 2004). Estas ROS são extremamente tóxicas à célula devido a sua capacidade de causar peroxidação lipídica, inativação de enzimas e modificação do DNA (Cavalieri *et al.*, 2000; Evans e Halliwell, 1999).

1.1.2. Disruptores endócrinos

Muitos produtos químicos podem interferir no sistema endócrino e por isso são chamados de disruptores endócrinos. Entre estas substâncias estão alguns pesticidas como os organoclorados; bifenilas policloradas (PCBs); bisfenol-A (BPA); ftalatos; hidrocarbonetos policíclicos aromáticos; solventes; tinturas de cabelo; cosméticos; alguns metais; etc. (De Coster *et al.*, 2012). A exposição a estas substâncias pode alterar ou mimetizar a exposição ao estrogênio, e por isso acredita-se que esta possa estar associada ao câncer de mama (Jenkins *et al.*, 2012). Entretanto, ainda existem lacunas na literatura que limitam o entendimento da interferência dos disruptores endócrinos na saúde humana (Crain *et al.*, 2008).

Cohn e colaboradores (2007) realizaram um estudo de caso-controle aninhado e observaram um risco 5 vezes maior de desenvolver um câncer de mama em mulheres expostas ao DDT (dicloro-difenil-tricloroetano) antes dos 14 anos de idade. Recentemente, Boada e colaboradores (2012) encontraram uma associação de pequena magnitude entre os níveis séricos de DDD (dicloro-difenil-dicloroetano) e o câncer de mama (OR 1,01; IC 95% 1,00-1,01; p 0,024), enquanto o DDE (dicloro-difenil-dicloroetileno) não foi associado a um maior risco desta doença, na mesma população. Para muitos outros estudos a associação entre a exposição a pesticidas organoclorados e câncer de mama não foi constatada (Lopez-Carrillo *et al.*, 2002; Gammon *et al.*, 2002; Laden *et al.*, 2001; Ward *et al.*, 2000; Mendonça *et al.*, 1999).

Um maior risco de desenvolvimento de câncer de mama também foi observado em mulheres que auto-referiram a utilização de diferentes pesticidas em suas residências, em um estudo de caso-controle de base populacional (Teitelbaum *et al.*, 2007). Entretanto, um estudo recente relatou que a exposição a fungicidas não estava significativamente associada com um maior risco de câncer de mama (OR 0,74; IC 95% 0,46-1,17); (Ashley-Martin *et al.*, 2012).

PCBs são compostos orgânicos persistentes empregados em vários segmentos industriais, como fluidos dielétricos em capacitores e transformadores, turbinas de

transmissão de gás, fluidos hidráulicos, resinas plastificantes, adesivos, sistemas de transferência de calor, aditivo antichamas, óleos de corte e lubrificantes. Recio-Vega e colaboradores (2011), em um estudo caso-controle, com mulheres mexicanas, encontraram uma associação estatisticamente significativa entre os níveis séricos de algumas classes de PCBs e o risco de câncer de mama (OR 1,90; IC 95% 1,25-2,88; para o grupo 2b; OR 1,81; IC 95% 1,08-3,04; grupo 3; e OR 1,57; IC 95% 1,20-2,07; grupo 4).

A associação entre a exposição ao BPA (principal ingrediente na produção de plástico policarbonato e usado na preparação de resina epóxi) e o câncer de mama foi avaliada por Yang e colaboradores (2009), em um estudo caso-controle. Este estudo não encontrou uma diferença estatisticamente significativa nos níveis séricos de BPA entre casos e controles ($p = 0,42$).

López-Carrillo e colaboradores (2010) mediram a concentração de ftalatos (compostos químicos utilizados como aditivo em plásticos) na urina de 223 casos de câncer de mama e 221 controles. Assim, a concentração urinária de monoetil ftalato (metabólito do dietil ftalato) foi positivamente associada ao câncer de mama (OR 2,20; IC 95% 1,33-3,63; p de tendência $< 0,01$), entretanto, as concentrações urinária dos metabólitos de outros ftalatos (monobenzil ftalato e mono-3-carboxipropil ftalato) foram inversamente associadas ao câncer de mama (OR 0,46; IC 95% 0,27-0,79 e OR 0,44; IC 95% 0,24-0,80; respectivamente).

1.1.3. Dieta e obesidade

A dieta caracterizada por um elevado consumo de gorduras totais e gordura saturada de origem animal, ou pobre em frutas e verduras, e rica em carne e álcool, assim como, a obesidade caracterizada por um alto consumo calórico, não contrabalançado pela prática de atividade física, têm sido consideradas como fatores de risco para o desenvolvimento do câncer de mama. Entretanto, os dados dos estudos epidemiológicos que investigam a associação entre dieta e o câncer de mama são controversos. Isso se deve, provavelmente, às

diferenças na mensuração do consumo dos alimentos, às diferentes idades em que as mensurações são realizadas, e à dificuldade de se recordar dietas passadas de forma acurada (Willet, 2001).

Um estudo de coorte com mulheres do *European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition* (EPIC) evidenciou que uma dieta baseada em alimentos ricos em gorduras está associada com um risco duas vezes maior de desenvolvimento de câncer de mama, quando ajustado por outros fatores (HR 2,00; IC 95% 1,30-3,09); (Schulz *et al.*, 2008). A associação entre o consumo total de gorduras e o câncer de mama também foi avaliada em uma metanálise que incluiu 14 estudos de coorte e 31 estudos de caso-controle. Nesta análise, a comparação do grupo de maior com o grupo de menor consumo encontrou um risco relativo para gorduras totais de 1,13 (IC 95% 1,03-1,25), e de 1,19 (IC 95% 1,06-1,35) para as gorduras saturadas. Adicionalmente, foi descrito um aumento do risco para o consumo de carnes (RR 1,17; IC 95% 1,06-1,29); (Boyd *et al.*, 2003).

A associação entre o alto consumo de frutas e vegetais e o desenvolvimento de diversos tipos de câncer foi investigada em outra metanálise realizada por Riboli e Norat (2003). Em relação ao câncer de mama foi observado um efeito protetor estatisticamente significativo do consumo de vegetais quando os estudos de caso-controle e de coorte foram analisados conjuntamente (RR 0,96; IC 95% 0,94-0,98). Já a associação entre o consumo de frutas e o risco de câncer de mama não foi estatisticamente significativa, neste estudo (RR 0,99, IC 95% 0,98-1,00). Entretanto, a metanálise conduzida por Song e Bae (2013) encontrou uma redução de 10% no risco de câncer de mama, associada ao alto consumo de frutas cítricas (OR 0,90; IC 95% 0,85-0,96).

Vários estudos epidemiológicos relataram uma associação positiva entre o consumo de álcool e o risco de câncer de mama (Islam *et al.*, 2012; Thygesen *et al.*, 2008; Morch *et al.*, 2007). Embora, o mecanismo pelo qual o álcool afeta o risco de câncer de mama ainda não tenha sido totalmente estabelecido, acredita-se que o consumo de álcool leve a um aumento

dos níveis de estrogênio plasmático (Feigelson e Henderson, 1996). Esta hipótese foi reforçada por um estudo transversal realizado dentro da coorte EPIC que analisou 790 mulheres na pré-menopausa e 1.291 mulheres na pós-menopausa. As mulheres que consumiam mais de 25 gramas de álcool por dia apresentaram maiores concentrações séricas de estrona e andrógenos, sendo que este aumento foi de 20% a 40% nas mulheres na pré-menopausa e de 10% a 20% nas mulheres na pós-menopausa (Rinaldi *et al.*, 2006).

O índice de massa corporal (IMC), a relação cintura-quadril e o ganho de peso foram associados ao risco de câncer de mama em um estudo caso-controle de base populacional, sendo que esta associação foi mais forte em mulheres na pós-menopausa, do que em mulheres na pré-menopausa. A comparação do mais alto com o mais baixo quartil de IMC encontrou uma OR de 1,3 (IC 95% 1,1-1,5) na pré-menopausa e 1,8 (IC 95% 1,4-2,2) na pós-menopausa. Para o ganho de peso (≥ 15 kg a partir dos 20 anos de idade) a OR foi de 1,4 (IC 95% 1,1-1,7) na pré-menopausa e 1,8 (IC 95% 1,4-2,4) na pós-menopausa. Já a relação cintura-quadril foi o fator mais fortemente associado tanto na pré-menopausa (OR 2,3; IC 95% 1,9-2,8) quanto na pós-menopausa (OR 2,2; IC 95% 1,7-2,8), (Shin *et al.*, 2009). Entretanto, alguns estudos em mulheres na pré-menopausa encontraram uma associação inversa entre obesidade e o risco de câncer de mama (Michels *et al.*, 2006; van den Brandt *et al.*, 2000).

O mecanismo de ação pelo qual a obesidade influencia o risco de câncer de mama ainda não está totalmente estabelecido, mas várias hipóteses vêm sendo levantadas (Calle e Kaaks, 2004). Primeiramente, o tecido adiposo expressa enzimas que promovem a formação de estrogênio a partir de precursores androgênicos, sendo este processo uma das principais fontes de estrogênio endógeno após a menopausa (Pischon *et al.*, 2008). Além disso, a hiperinsulinemia associada à obesidade é capaz de inibir a secreção hepática de globulina de ligação a hormônios sexuais (SHBG) (Kaaks e Lukanova, 2001). Estes dois processos resultam em um aumento dos níveis de estrógenos circulantes, o que pode aumentar a

proliferação das células mamárias. Adicionalmente, a hiperinsulinemia está relacionada a um aumento da biodisponibilidade do fator de crescimento similar a insulina tipo 1 (IGF-1), que pode atuar sinergicamente com os estrógenos estimulando o crescimento de células mamárias cancerígenas (Kaaks e Lukanova, 2001). Entre as mulheres na pré-menopausa, a obesidade está associada a uma maior frequência de ciclos anovulatórios e menor nível de esteroides sexuais circulantes (Potischman *et al.*, 1996). Esta pode ser uma das razões pela qual alguns estudos encontram uma associação inversa entre obesidade e câncer de mama, nestas mulheres.

A atividade física está inversamente associada com o desenvolvimento de câncer de mama na pré e na pós-menopausa (Awatef *et al.*, 2011; Shin *et al.*, 2009). Entretanto, os papéis de diferentes tipos de atividades, da duração da atividade e do efeito modificador de outros fatores ainda não foram completamente estabelecidos. Um estudo de coorte com enfermeiras na pré-menopausa revelou que a atividade física equivalente a 3,25 h/semana de corrida ou 13 h/semana de caminhada durante a vida diminui em 23% o risco de câncer de mama na pré-menopausa (RR 0,77; IC 95% 0,64-0,93). O estudo aponta ainda que a atividade física intensa realizada entre 12-22 anos de idade contribui mais fortemente para esta associação inversa (Maruti *et al.*, 2008).

Existem vários mecanismos através do qual a atividade física poderia afetar o risco de câncer de mama. Primeiramente, de forma indireta, ou seja, a diminuição do risco encontrado nos estudos epidemiológicos que investigam a associação entre atividade física e câncer de mama poderia ser o resultado apenas de outros fatores de confundimento como, por exemplo, a manutenção do IMC (McTiernan *et al.*, 1998). Entretanto, acredita-se que a atividade física também possa ter efeitos biológicos reais no risco de câncer de mama (Okasha *et al.*, 2003). Esses efeitos seriam a diminuição da produção e secreção de estrogênio e progesterona, e alterações das características menstruais como atraso na menarca, amenorreia secundária (ausência de menstruação por mais de 3 meses em mulher que já apresentavam ciclos

menstruais), anovulação e insuficiência lútea, levando a uma redução da exposição ao estrogênio ao longo da vida (Gammon *et al.*, 1998). Outro mecanismo seria através da modulação do sistema imune, acredita-se que o exercício leve a moderado melhore a habilidade deste sistema de retardar a taxa de crescimento, bem como destruir as células tumorais, através do aumento do número de macrófagos, monócitos, granulócitos e linfócitos circulantes. Contudo, existem algumas evidências de que a prática de exercícios extenuantes poderia debilitar o sistema imunológico (Hoffman-Goetz *et al.*, 1998).

1.1.4. Outros fatores de risco

A história prévia de enfermidade benigna da mama é um importante fator de risco para o câncer de mama, particularmente em mulheres com hiperplasia atípica ductal ou lobular, como observado por Hartmann e colaboradores (2005) em um estudo de coorte com 9.087 mulheres com diagnóstico de enfermidade benigna da mama. Este estudo observou um aumento de 56% no risco de câncer de mama em relação ao número de casos esperados com base na incidência da doença na população (RR 1,56; IC 95% 1,45-1,68), sendo que a presença de hiperplasia atípica como característica histológica aumentou o risco em cerca de quatro vezes (RR 4,24; IC 95% 3,26-5,41). O risco foi inversamente associado com a idade na biópsia, com as mulheres mais novas apresentando um risco maior do que aquelas de maior idade. Adicionalmente, a densidade mamográfica também parece estar associada a um maior risco de câncer de mama, como sugerido, por exemplo, por um estudo de caso-controle conduzido na Espanha por Pollán e colaboradores (2013).

A exposição à radiação ionizante possui uma relação dose-resposta em relação ao risco de câncer de mama, sendo a magnitude do risco por unidade de dose dependente da idade de ocorrência da exposição. As exposições antes dos 20 anos de idade, quando a glândula mamária não está totalmente desenvolvida, poderiam estar associadas ao maior risco (Ronckers, 2005).

A exposição à luz durante a noite tem sido considerada como um fator de risco para o desenvolvimento de câncer de mama, devido à diminuição da secreção de melatonina, o que leva a um aumento dos níveis de estrogênio circulantes. Por outro lado, estudos *in vitro* revelam que a melatonina é capaz de inibir o crescimento de células mamárias humanas cancerígenas, mesmo em concentrações fisiológicas (Srinivasan *et al.*, 2008). Lie e colaboradores (2006) investigaram a associação entre trabalho noturno e o risco de câncer de mama em estudo de caso-controle aninhado em uma coorte de enfermeiras norueguesas. Neste estudo foi encontrado um maior risco de desenvolvimento de câncer de mama entre as enfermeiras que trabalharam a noite por 30 anos ou mais, quando comparado com aquelas que não trabalharam a noite após se formarem como enfermeiras (OR 2,21; IC 95% 1,10-4,45). Este resultado está de acordo com os achados do estudo de caso-controle de Menegaux e colaboradores (2013): OR 1,40 (IC 95% 1,01-1,92) em mulheres que trabalharam a noite por pelo menos 4,5 anos.

A exposição ocupacional e residencial a campos magnéticos, como fator de risco para o câncer de mama entre as mulheres, foi investigada em um estudo de caso-controle aninhado em uma coorte realizado na Noruega. Observou-se um aumento do risco de câncer de mama nas mulheres com exposição residencial a estes campos (OR 1,58; IC 95% 1,30-1,92). Entretanto, este excesso de risco não foi igualmente observado em relação à exposição ocupacional (Kliukiene *et al.*, 2004). Em outro estudo caso-controle de base populacional realizado na Suécia, também, não se observou um aumento do risco de câncer de mama entre mulheres ocupacionalmente expostas a campos magnéticos (Forssén *et al.*, 2005). Um estudo retrospectivo com uma coorte de trabalhadores dinamarqueses expostos a campos eletromagnéticos de baixa frequência (50-Hz) também não relatou um aumento no risco relativo de câncer de mama entre as mulheres na categoria de mais alta exposição versus as de mais baixa exposição (Johansen, 2004).

O fumo parece não ser um fator de risco para o desenvolvimento de câncer de mama, de acordo com a maioria dos estudos epidemiológicos (Lin *et al.*, 2008; Pirie *et al.*, 2008; Prescott *et al.*, 2007; Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer 2002 b). Alguns estudos, entretanto, apontam o risco de câncer de mama como sendo maior em mulheres que começaram a fumar na adolescência e continuaram por vários anos, quando comparado com as não fumantes (Cui *et al.*, 2006, Gram *et al.*, 2005).

Algumas investigações epidemiológicas vêm indicando que fatores relacionados ao crescimento intrauterino podem influenciar o risco de desenvolver câncer de mama no futuro, devido principalmente a desequilíbrios hormonais que levam a uma maior exposição a estrógenos durante o desenvolvimento fetal (Park *et al.*, 2008). Uma metanálise com 57 publicações investigou a exposição intrauterina e o risco de câncer de mama. Um aumento do risco de câncer de mama foi verificado com o aumento do peso ao nascer (RR 1,15 IC 95% 1,09-1,21) ou da altura ao nascimento (RR 1,28 IC 95% 1,11-1,48), idade materna avançada (RR 1,13 IC 95% 1,02-1,25), e idade paterna (RR 1,12 IC 95% 1,05-1,19). Uma diminuição do risco foi verificada para pré-eclâmpsia e eclâmpsia materna (RR 0,48 IC 95% 0,30-0,78) e gestações gemelares (RR 0,93 IC 95% 0,87-1,00); (Xue e Michels, 2007).

Muitos estudos têm investigado as evidências de que a vitamina D possa reduzir o risco do câncer de mama, e nos últimos anos algumas metanálises foram conduzidas, entretanto, seus resultados ainda não são completamente conclusivos. Gissel e colaboradores (2008) encontraram uma associação inversa entre o consumo de vitamina D e o risco de câncer de mama ao comparar indivíduos com o maior consumo com indivíduos com o menor consumo (RR 0,92; IC 95% 0,87-0,97). Chen e colaboradores (2010) encontraram uma OR = 0,55 (IC 95% 0,38-0,80) ao comparar o maior quartil de níveis séricos de 25(OH)D com o menor. Entretanto, Bauer e colaboradores (2013) encontraram uma associação inversa entre os níveis séricos de 25(OH)D e o câncer de mama apenas em mulheres na pós-menopausa

(RR 0,88 por 5 ng/mL; IC 95% 0,79-0,97), enquanto nenhuma associação foi encontrada em mulheres na pré-menopausa.

1.2. Fatores Genéticos

1.2.1. Câncer de mama hereditário

Em uma revisão de 52 estudos epidemiológicos em câncer de mama, verificou-se que oito em cada nove mulheres que sofriam desta neoplasia não apresentavam antecedentes familiares com parentes de primeiro grau afetados (*Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer*, 2001). No estudo exploratório realizado com uma série de 110 casos de câncer de mama diagnosticados em mulheres com idade compreendida entre 20 a 35 anos no Rio de Janeiro, cerca de 71% dos casos foram classificados como casos esporádicos, por não relatarem antecedentes familiares de câncer de mama, ovário ou próstata (Ortega-Jácome *et al.*, 2010).

Apesar dos cânceres hereditários serem responsáveis por uma pequena parcela de todos os casos de câncer de mama, os membros de famílias afetadas podem ter um risco de desenvolver um câncer de mama de 40 a 80%, como é o caso dos indivíduos que possuem mutações nos genes *BRCA1* ou *BRCA2*, fazendo com que as mutações destes genes sejam os fatores de risco de maior magnitude para o câncer de mama atualmente conhecidos (Fackenthal e Olopade, 2007).

Os genes *BRCA1* e *BRCA2* são classificados como genes supressores de tumor, e desempenham um importante papel no controle do ciclo celular e no reparo de danos à molécula de DNA (Teng *et al.*, 2008). As mutações nestes genes são responsáveis por 30 a 50% dos cânceres de mama hereditários, constituindo a chamada Síndrome de câncer de mama e ovário hereditários (Ferla *et al.*, 2007).

Existem outros genes supressores de tumor de alta penetrância que são responsáveis

por uma parcela bem menor dos casos de câncer de mama hereditário. Um deles é o gene *TP53* que codifica um fator de transcrição (p53) que é ativado em resposta a várias formas de estresse celular e desempenha múltiplas funções que inibem a proliferação celular nestas condições. As mutações germinativas neste gene estão associadas às síndromes de Li-Fraumeni e Li-Fraumeni-like que causam um risco elevado para uma série de cânceres, sendo o câncer de mama uma das neoplasias mais frequentemente associadas a esta síndrome (Petitjean *et al.*, 2007).

As mutações no gene *PTEN* são extremamente raras, mas são associadas com uma síndrome denominada doença de Cowden. Os indivíduos com esta síndrome têm um risco elevado de desenvolver câncer de mama assim como outras neoplasias. O *PTEN* é um gene supressor do tumor que inibe o crescimento da célula durante a fase G1 do ciclo celular ao ativar o inibidor de quinases ciclinas dependentes (p27 ou KIP1), (Rosman *et al.*, 2007).

Outros genes supressores de tumor de alta penetrância que são importantes na susceptibilidade ao câncer de mama hereditário, além de outros tipos de câncer, são *LKB1* e *MSH2* ou *MLH1*. As mutações germinativas nestes genes causam as síndromes de Pez-Jeghers e Muir-Torre, respectivamente. Estas mutações são raras e apesar de causarem um alto risco de câncer de mama, elas são responsáveis por uma fração muito pequena dos casos de câncer de mama familiar (Szpirer e Szpirer, 2007).

Alguns genes supressores de tumor que estão associados com o câncer de mama hereditários apresentam uma menor penetrância do que os genes citados acima. O primeiro gene que pertence a esta categoria é o gene *ATM*, o qual codifica uma proteína quinase importante no processo de reparo de DNA. As mutações germinativas neste gene causam a ataxia-talangiectasia, uma desordem recessiva associada com instabilidade genômica e um risco aumentado para diversas neoplasias, incluindo o câncer de mama. Os portadores de um alelo mutado do gene *ATM* possuem um risco relativo aproximadamente igual a 2,0 para o desenvolvimento de câncer de mama (Szpirer e Szpirer, 2007). O outro gene é o *CHEK2*, que

codifica uma proteína quinase que atua como um supressor de tumor no núcleo, onde bloqueia a proliferação celular e inicia o reparo do DNA em resposta às quebras de dupla fita. A mutação *CHEK2**1100delC gera uma proteína não funcional, permitindo a multiplicação celular mesmo em presença de danos na molécula de DNA. As mulheres portadoras desta mutação têm um risco 2,7 vezes maior de desenvolver câncer de mama quando comparado com a população geral (Weischer *et al.*, 2008).

Outra classe de genes que pode causar cânceres hereditários é a classe dos proto-oncogenes. Uma alta frequência de câncer de mama foi encontrada em mulheres com a síndrome de Saethre-Chotzen, indicando que as mutações do gene *TWIST1*, que causam esta doença dominante, podem ser responsáveis pela susceptibilidade ao câncer de mama. O gene *TWIST1* codifica um fator de transcrição que tem sua expressão aumentada em alguns tipos de câncer, incluindo o câncer de mama, e promove a proliferação contínua e a imortalidade celular (Sahlin *et al.*, 2007).

1.2.2. Polimorfismos genéticos

Enquanto mutações raras nos genes supressores de tumor ou nos proto-oncogenes provocam um grande aumento no risco de câncer de mama, as inúmeras variantes dos genes de baixa penetrância podem ser responsáveis por um pequeno, mas frequente, aumento do risco de câncer na população, sem necessariamente caracterizarem uma agregação familiar evidente. A maioria das variações genéticas que contribuem para o câncer de mama esporádico é desconhecida, e muitas delas provavelmente interagem com fatores de risco ambientais. Quando esta interação genótipo-ambiente é levada em consideração, esses genes podem ser muito mais importantes, na ótica da saúde pública (em função de um possível maior risco atribuível), do que as raras mutações encontradas nas síndromes de câncer de mama hereditário (Balmain *et al.*, 2003).

A maioria dos polimorfismos genéticos investigados em estudos epidemiológicos para se determinar a sua associação com o risco de câncer de mama são os de genes associados ao metabolismo de estrogênio (*CYP17*, *CYP19* e *COMT*), metabolismo de xenobióticos (*GSTM1*, *GSTT1*, *MnSOD*, *SULT1A1* e *NQO1*, por exemplo), controle do ciclo celular ou reparo de DNA (*TP53*) e outros (por exemplo, o receptor da vitamina D). Entretanto, os achados para a maioria destes polimorfismos ainda são inconclusivos (Low *et al.*, 2006).

Os polimorfismos das glutathione S-transferases (GSTs), que são enzimas de fase II do metabolismo de xenobióticos, foram associados ao risco de câncer de mama em vários estudos. Um estudo de caso-controle de base populacional realizado na Índia com 413 pacientes e 410 controles explorou a associação entre os polimorfismos dos genes *GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1* e o risco de câncer de mama. Neste estudo foi identificado um aumento da estimativa de risco para o genótipo *GSTM1* nulo (OR 2,28; IC 95% 1,65-2,97) e *GSTP1* 105 Val/Val (OR 2,59; IC 95% 1,67-4,39). Embora, não tenha sido encontrada associação entre o genótipo *GSTT1* nulo e o risco de câncer de mama (OR 1,04; IC 95% 0,76-1,59), a combinação dos três genótipos *GSTP1* Ile/Val ou Val/Val, *GSTM1* e *GSTT1* nulos resultou em um aumento de quatro vezes na estimativa de risco de câncer de mama (OR 4,02; IC 95% 1,99-8,51), (Saxena *et al.*, 2009). Em outro estudo de caso-controle de base hospitalar, realizado na Coreia, observou-se um efeito estatisticamente significativo do genótipo *GSTM1* nulo no câncer de mama, entre as mulheres na pré-menopausa (OR 2,0; IC 95% 1,1-3,7), e um efeito não estatisticamente significativo do genótipo *GSTT1* nulo em toda a população estudada (OR 1,6; IC 95% 1,0-2,5), e nas mulheres na pré-menopausa (OR 1,7; IC 95% 0,9-3,2). O efeito conjunto dos dois genótipos obteve uma OR = 2,2 (IC 95% 1,1-4,5). Este mesmo estudo analisou o polimorfismo Val¹⁵⁸Met da catecol O-metiltransferase (*COMT*) e encontrou uma estimativa de risco de câncer de mama 1,7 vezes maior entre os indivíduos que possuíam pelo menos um alelo ¹⁵⁸Met (*COMT-L* que apresenta baixa atividade) quando comparado com indivíduos com o genótipo Val/Val (*COMT-HH* que apresenta alta atividade;

OR 1,7; IC 95% 1,04-2,78); (Kang, 2003). Entretanto, um estudo caso-controle recente não encontrou associação entre o polimorfismo Val¹⁵⁸Met e o risco de câncer de mama em mulheres sírias (Lajin *et al.*, 2013).

A associação entre o polimorfismo da enzima manganês superóxido dismutase (MnSOD) e o risco de câncer de mama foi avaliada em um estudo caso-controle, incluindo 118 pacientes com câncer de mama, com 36 anos ou menos, e 174 controles de idade comparável. Os indivíduos com o genótipo Val/Val e Val/Ala da *MnSOD* mostraram uma estimativa de risco aumentada de câncer de mama (OR 2,7; IC 95% 2,2-5,5; OR 3,0; IC 95% 1,4-6,5), sugerindo que a *MnSOD* possa ter um papel na carcinogênese da mama em mulheres jovens (Bergman *et al.*, 2005).

Lee e colaboradores (2012) estudaram a associação entre o polimorfismo Arg²¹³His do gene *SULT1A1* e o câncer de mama em estudo caso-controle e em uma metanálise. O estudo de caso-controle não encontrou associação estatisticamente significativa, entretanto na metanálise o genótipo His/His gerou um pequeno aumento do risco de câncer de mama (OR 1,12; IC 95% 1,02-1,24), principalmente nas mulheres na pós-menopausa (OR 1,17; IC 95% 1,03-1,32).

Os polimorfismos do gene *TP53* foram avaliados em uma metanálise para se determinar a sua associação com o câncer de mama. Nesse trabalho o polimorfismo do códon 72 foi associado com um menor risco de câncer de mama, somente na população indiana (OR 0,62; IC 95% 0,46-0,82; CC versus GG). Já o polimorfismo IVS3 16 bp foi estatisticamente associado ao risco de câncer de mama na análise conjunta de 15 estudos (OR 1,66; IC 95% 1,24-2,21; ausência versus presença do polimorfismo); (He *et al.*, 2011).

A hipótese de que os polimorfismos da região 3' do gene do receptor da vitamina D (VDR) possam influenciar o risco de câncer de mama foi testada em um estudo caso-controle de base hospitalar, com 1.631 casos de câncer de mama caucasianos e afro-americanos e 1.435 controles. Um aumento estatisticamente significativo na estimativa de risco de câncer

de mama foi encontrado entre as mulheres caucasianas na pós-menopausa com o genótipo *BsmI* bb (OR 1,53; IC 95% 1,04-2,27). Entretanto, não foi observada associação entre este polimorfismo e o risco de câncer de mama em mulheres afro-americanas. Estes resultados sugerem possíveis diferenças no efeito do polimorfismo *BsmI* no risco de câncer de mama de acordo com variáveis como menopausa e grupo étnico (Trabert *et al.*, 2007).

Os polimorfismos dos genes *CYP17*, *CYP19* e *NQO1* e suas implicações no risco de desenvolvimento de um câncer, especialmente o câncer de mama, serão abordados a seguir.

2. CITOCROMO P450c17 α (CYP17) E CITOCROMO P450 AROMATASE (CYP19)

A *CYP17* (P450c17 α) e a *CYP19* (aromatase) são importantes enzimas da biossíntese de estrogênio que fazem parte da família dos citocromo P450 (CYPs), composta por muitas enzimas que contém um grupo prostético heme (Ferro-protoporfirina IX), (Bruno e Njar, 2007).

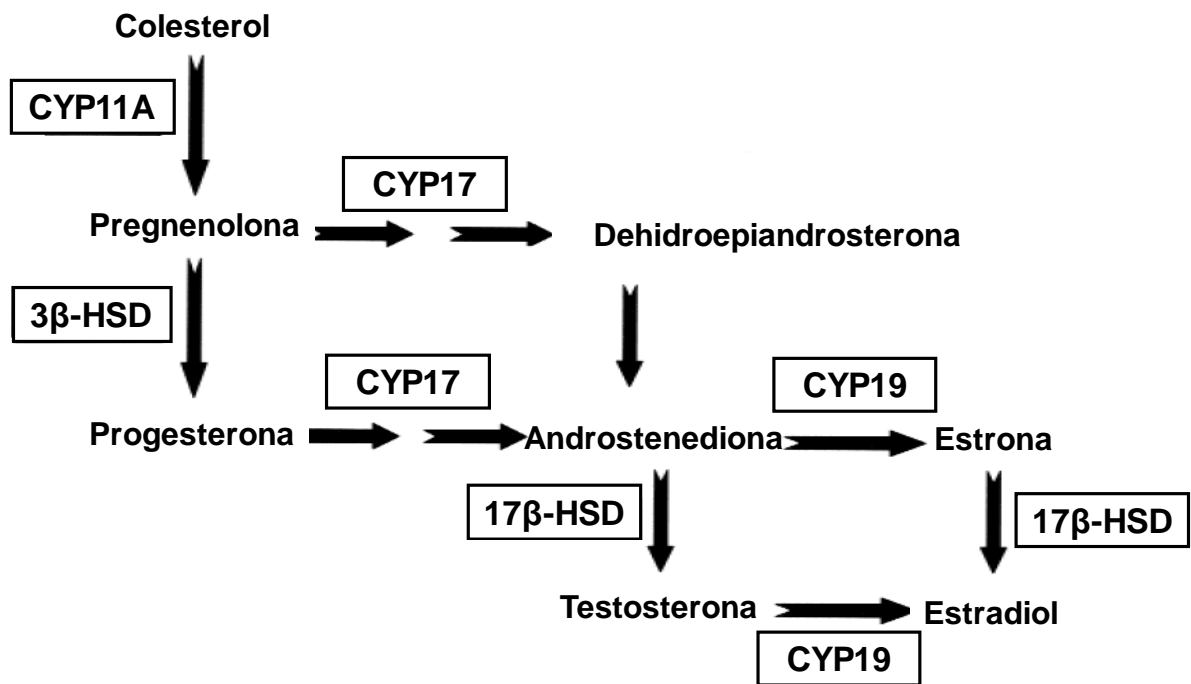
A *CYP17* age duplamente catalisando a 17 α -hidroxilação de pregnenolona e progesterona em 17-hidroxipregnenolona e 17 α -hidroxiprogesterona, respectivamente; e catalisando a atividade da 17,20 liase, que promove a conversão da 17-hidroxipregnenolona em dehidroepiandrosterona e da 17 α -hidroxiprogesterona em androstenediona (Figura 4); (Pinheiro e Clapauch, 2001; Kristensen e Borresen-Dale, 2000).

Já a *CYP19* converte os androgênios em estrogênios (androstenediona em estrona e testosterona em estradiol); (Figura 4). A maior parte das reações catalisada pela *CYP19* ocorre no ovário nas mulheres na pré-menopausa, na pós-menopausa, entretanto, a principal fonte de estrogênio decorre da atividade desta enzima no tecido adiposo periférico (Miyoshi e Noguchi, 2003).

Tanto a *CYP17* como a *CYP19* são expressas na mama e atuam na biossíntese de estrogênio local a partir de precursores circulantes (Salhab *et al.*, 2006). Além disso, em

pacientes com câncer de mama, a atividade da CYP19 no tecido adiposo da mama parece ser uma importante fonte de estrogênio para o tumor (Mitrunen e Hirvonen, 2003).

Figura 4: Reações catalisadas pelas enzimas CYP17 e CYP19.



Adaptado de Thompson e Ambrosone 2000

2.1. Polimorfismos genéticos da *CYP17*

O gene da *CYP17* está localizado no cromossomo 10q24.3 e contém três polimorfismos descritos, sendo que apenas o polimorfismo de base única (SNP) na região 5' não traduzida (5'-UTR) vem sendo estudado (Sharp *et al.*, 2004). Este polimorfismo envolve uma transição de T para C, na região promotora do gene, situada 34 bases antes (*upstream*) da região de início de tradução (T⁻³⁴C ou polimorfismo *MspAII*), que cria um sítio adicional de

ligação Sp-1 (CCACC *box*) no promotor (Carey *et al.*, 1994). Acredita-se que a presença deste sítio adicional resulte em um aumento da expressão da CYP17 e conseqüentemente um aumento das concentrações plasmáticas de estrogênio. Esta hipótese foi reforçada por Feigelson e colaboradores (1998) ao examinarem as concentrações de hormônios plasmáticos em 83 mulheres jovens nulíparas e os polimorfismos *MspAII* da *CYP17*. Os autores verificaram que no 11º dia do ciclo menstrual, as concentrações plasmáticas de estradiol em heterozigotas e homozigotas para o polimorfismo eram, respectivamente, 11 e 57% maiores ($p=0,04$), quando comparado às mulheres com o genótipo selvagem (Feigelson *et al.*, 1998).

Alguns estudos associaram o polimorfismo *MspAII* do gene *CYP17* com um maior risco de desenvolvimento de câncer de próstata (Wang *et al.*, 2011; Kittles *et al.*, 2001), câncer de ovário (Garner *et al.*, 2002), câncer de fígado (Rossi *et al.*, 2003), linfomas não-Hodgkin (Skibola *et al.*, 2005 a; Skibola *et al.*, 2005 b) câncer da vesícula biliar (Hou *et al.*, 2006), e com um menor risco de desenvolvimento de câncer de endométrio (Haiman *et al.*, 2001). Muitos destes achados são, todavia, controversos, necessitando serem melhor investigados por não terem sido encontrada associação em outros estudos (Cai *et al.*, 2012; Ntais *et al.*, 2003 – câncer de próstata; Goodman *et al.*, 2001 – câncer de ovário; Yu *et al.*, 2001 – câncer de fígado; Olson *et al.*, 2008; Gaudet *et al.*, 2008 – câncer de endométrio), ou por representarem resultados de um único estudo como no caso do câncer da vesícula biliar.

O câncer de mama é sem dúvida o câncer mais estudado em relação à susceptibilidade gerada pelo polimorfismo *MspAII* do gene *CYP17*. Neste contexto, alguns estudos sugerem que a presença do polimorfismo *MspAII* seja um fator de risco para o câncer de mama (Sangrajrang *et al.*, 2009; Verla-Tebit *et al.*, 2005; Bergman-Jungeström *et al.*, 1999), entretanto, outros estudos não encontraram associação (Samson *et al.*, 2009), principalmente quando mulheres na pré e nas pós-menopausa foram analisadas em conjunto (Chen *et al.*, 2010; Mao *et al.*, 2010; Antognelli *et al.*, 2009; Sakoda *et al.*, 2008; Chang *et al.*, 2005; Hefler *et al.*, 2004, Ye *et al.*, 2002).

Um estudo com 109 casos de câncer de mama e 117 controles, todas com menos de 37 anos encontrou uma estimativa de risco aumentada desta neoplasia em mulheres com pelo menos um alelo com o polimorfismo *MspAII* da *CYP17* (OR 2,0; IC 95% 1,1-3,5), sugerindo uma influência da *CYP17* na carcinogênese da mama em mulheres jovens (Bergman-Jungeström *et al.*, 1999). Um estudo caso-controle com mulheres na pré-menopausa encontrou uma associação estatisticamente significativa somente em mulheres nulíparas homocigotas para o polimorfismo da *CYP17* (OR 2,12; IC 95% 1,04-4,32), (Verla-Tebit *et al.*, 2005). Já o caso-controle, com mulheres na pré-menopausa, de Sangrajang e colaboradores (2009) verificou um aumento do risco de câncer de mama somente em mulheres heterocigotas (OR 1,62; IC 95% 1,02-2,58). Outro estudo caso-controle com mulheres na pré-menopausa encontrou uma associação positiva entre câncer de mama e uso de contraceptivos orais ou idade avançada ao término da primeira gravidez e uma associação negativa entre esta neoplasia e a menarca em idade avançada apenas em mulheres que não possuíam o polimorfismo *MspAII* da *CYP17*. A não associação entre o câncer de mama e fatores que influenciam a exposição a hormônios em mulheres com pelo menos um alelo polimórfico sugere que o efeito destes fatores possa ser menos importante em mulheres expostas a maiores concentrações de estrogênio endógeno devido a uma maior expressão de *CYP17* (portadoras do polimorfismo *MspAII*); (Ambrosone *et al.*, 2003). Em mulheres na pós-menopausa verificou-se um maior risco de desenvolvimento de câncer de mama quando o efeito do alelo com o polimorfismo *MspAII* do gene *CYP17* foi analisado em conjunto com o efeito do índice de massa corporal (IMC), (OR 1,60; IC 95% 1,15-2,22), (Chen *et al.*, 2008).

2.2. Polimorfismos genéticos da *CYP19*

O gene *CYP19* está localizado no cromossomo 15q21.2 e é composto por 30 kb de região codificante (éxons 2 a 10) e 93 kb de sequências regulatórias que contém 10

promotores específicos para regular a transcrição em diferentes tecidos (Bulun *et al.*, 2003). Este gene é altamente polimórfico, sendo que entre os muitos polimorfismos identificados, apenas três polimorfismos aparentemente podem alterar o *splicing* ou os níveis de RNA mensageiro (mRNA) (Mitrunen e Hirvonen, 2003), e quatro são polimorfismos de base única (SNP) não sinônimos (Ma *et al.*, 2005).

Os polimorfismos que aparentemente podem alterar o *splicing* ou os níveis de mRNA são: a repetição de um tetranucleotídeo [TTTA]*n*, uma deleção de três bases ($\Delta 3$ TCT) e uma substituição C para T no éxon 10. A repetição do tetranucleotídeo [TTTA]*n* está localizada no íntron 4 e pode alterar o sítio de *splicing* do mRNA. Primeiramente foram descritos sete diferentes alelos contendo de 7 (selvagem) a 13 repetições, mas um estudo caso-controle realizado com mulheres brasileiras demonstrou que na nossa população também existe uma variante com 6 repetições. Além disso, este estudo verificou um maior risco de câncer de mama nas mulheres portadoras do alelo [TTTA]10 (Ribeiro *et al.*, 2006). O alelo [TTTA]10 também foi considerado um fator de risco para o câncer de mama em outro estudo caso-controle (Baxter *et al.*, 2001), em um estudo de coorte (Haiman *et al.*, 2000) e em uma metanálise (Dunning *et al.*, 1999). Outros estudos demonstraram ainda um maior risco de câncer de mama em portadoras dos alelos [TTTA]8 (Baxter *et al.*, 2001), [TTTA]7 somente para o câncer de mama receptor de estrogênio positivo (Miyoshi *et al.*, 2003) e [TTTA]11 em mulheres com história familiar de câncer (Ahsan *et al.*, 2005). Entretanto, também existem estudos que não encontram associação entre o câncer de mama e nenhum dos alelos [TTTA]*n* (Suspitsin *et al.*, 2002).

A deleção de três bases ($\Delta 3$ TCT) está localizada a aproximadamente 50 pares de bases (bp) antes (*upstream*) do polimorfismo [TTTA]*n* e está em desequilíbrio de ligação com o alelo [TTTA]7. Um estudo caso-controle com mulheres na pós-menopausa demonstrou uma redução nos níveis de estrona entre os controles com a deleção TCT, mas não encontrou associação entre este polimorfismo e o risco de câncer de mama (Dunning *et al.*, 2004).

A substituição C para T está localizada em uma porção não traduzida (3'-UTR) do éxon 10, e foi associada com um aumento dos níveis de mRNA em tumores de mama e um aumento do risco de câncer de mama (Kristensen *et al.*, 2000). Entretanto, um risco mais elevado, de desenvolvimento de câncer de mama não foi verificado em outro estudo caso-controle (Haiman *et al.*, 2002).

Os polimorfismos de base única (SNPs) não sinônimos são: Met³⁶⁴Thr, que gera uma enzima com menor atividade e possui menores níveis proteicos; Trp³⁹Arg, que possui menores níveis proteicos; Thr²⁰¹Met, o qual aparentemente não provoca mudanças na atividade da enzima; e Arg²⁶⁴Cys, cujo efeito permanece contraditório. Entre estes, o polimorfismo Arg²⁶⁴Cys é o mais prevalente, com frequências maiores que 2,5% em todas as populações analisadas (Ma *et al.*, 2005).

A presença de pelo menos um alelo com o polimorfismo Arg²⁶⁴Cys foi associada a um maior risco de câncer de mama (OR 1,5; IC 95% 1,1-2,2), especialmente em associação com o consumo de álcool (OR 3,3; IC 95% 1,7-6,5; *p* de interação=0,04); (Lee *et al.*, 2003 b). Entretanto, a ocorrência deste aumento no risco de câncer de mama decorrente da presença do polimorfismo Arg²⁶⁴Cys precisa ser confirmada, já que não foi verificada em outros estudos de caso-controle (Ma *et al.*, 2010; Hu *et al.*, 2007; Hefler *et al.*, 2004).

3. NAD(P)H:QUINONA OXIDOREDUTASE 1 (NQO1)

A NAD(P)H:quinona oxidoreductase 1 (NQO1) é uma enzima chave envolvida na defesa contra espécies reativas de oxigênio (ROS) e na inibição da formação de neoplasias (Nioi e Hayes, 2004). Ela é uma proteína dimérica, sendo cada uma das subunidades idênticas composta por 273 aminoácidos e uma molécula de FAD não covalentemente ligada que é essencial para a atividade catalítica (Faig *et al.*, 2000).

A função mais conhecida da NQO1 é a redução de quinonas endógenas (incluindo metabólitos do estrogênio) e exógenas e de seus derivados a hidroquinonas, que são geralmente menos tóxicas. Esta redução utiliza o NADH ou o NADPH como cofatores e envolve a adição de dois elétrons a estes compostos, em uma reação de um único passo, evitando assim, a formação de semiquinonas, que são geradas na reação de redução com apenas um elétron, que é catalisada pelo citocromo P450 redutase. As semiquinonas são, geralmente, mais tóxicas do que as quinonas devido a sua habilidade de reagir com o oxigênio gerando ROS (Ross *et al.*, 2000).

Um papel importante da NQO1 na inibição da formação de neoplasias é a estabilização da proteína supressora de tumor p53, evitando a sua degradação. O modo mais conhecido de degradação da p53 é através da sua interação com a proteína MDM2 que resulta na ubiquitinação (ligação de ubiquitina a uma proteína, marcando-a para a destruição proteolítica) e posterior degradação pelo proteassoma 26S. Entretanto, existem evidências que sugerem que o modo mais comum de degradação da p53 é através do proteassoma 20S de uma forma independente de ubiquitinação. A NQO1 é capaz de interagir com a p53 e proteger a sua degradação pelo proteassoma 20S (Tsvetkov *et al.*, 2010). Aparentemente, a exposição à radiação ou a compostos químicos leva a indução da NQO1 que estabiliza a p53, podendo levar a apoptose das células danificadas por estes fatores (Gong *et al.*, 2007).

Outra função proposta para a NQO1 é a manutenção de alguns antioxidantes endógenos em sua forma reduzida, que é a forma ativa destas moléculas. Os estudos *in vitro* demonstraram que as ubiquinonas coenzimas Q (Bello *et al.*, 2003; Landi *et al.*, 1997) e o alfa-tocoferol (Bello *et al.*, 2003), que são importantes antioxidantes, são substratos da NQO1.

Verificou-se que a enzima NQO1 reduz o Fe(III) a Fe(II) por uma reação de redução de um elétron de um Fe(III) ou reduzindo dois Fe(III) simultaneamente, isto é, uma reação de dois elétrons. As reações de oxidação e redução do ferro são importantes mediadores do dano

oxidativo, não estando ainda estabelecidas, entretanto, as implicações biológicas da redução do ferro pela NQO1 (Onyenwoke e Wiegel, 2007).

Através do emprego da técnica de imunohistoquímica em tecidos humanos, verificou-se a expressão da NQO1 nos adipócitos, no nervo ótico, nos gânglios parassimpáticos, no endotélio vascular e nos epitélios do sistema respiratório, dos ductos mamários, do cólon, do folículo tireoideano, da córnea e do cristalino. Apesar da importância da NQO1 no metabolismo de xenobióticos, não foi verificada uma elevada expressão desta enzima no fígado humano. A expressão da NQO1 também foi encontrada em tumores sólidos humanos de mama, de tireoide, de ovário, de cólon, da córnea, da glândula suprarrenal e de pulmão (CPNPC); (Siegel e Ross, 2000). Essa expressão de NQO1 em tumores suporta a validade do desenvolvimento de drogas anticancerígenas dependentes da NQO1, que precisam ser reduzidas para a sua ativação (Beall e Winski, 2000). Entre essas drogas estão a mitomicina C, a β -lapachona e a tanespimicina (Siegel *et al.*, 2012).

3.1. Polimorfismos genéticos da *NQO1*

O gene da *NQO1* está localizado no cromossomo 16q22 e contém muitos polimorfismos de base única (SNP), entretanto apenas dois deles são polimorfismos não sinônimos, C⁶⁰⁹T e C⁴⁶⁵T (Chao *et al.*, 2006).

O polimorfismo C⁴⁶⁵T, que codifica um triptofano no lugar de uma arginina da proteína selvagem, leva a uma diminuição da atividade da NQO1 que pode variar de acordo com o substrato analisado. A frequência deste polimorfismo na população é muito baixa, variando de ausente até 5% de acordo com o grupo étnico estudado (Ross *et al.*, 2000). Mesmo assim, um estudo caso-controle realizado no Japão investigou a associação deste polimorfismo com o risco de leucemia linfóide (LLA) e leucemia mielóide (LMA) agudas na

infância, em 103 casos e 185 controles. O polimorfismo C⁴⁶⁵T foi fortemente associado ao risco de LLA nesta população (OR 3,55; IC 95% 1,13-11,10), (Eguchi-Ishimae *et al.*, 2005).

O polimorfismo C⁶⁰⁹T resulta na substituição do aminoácido prolina por uma serina no códon 187 da proteína NQO1 (Pro¹⁸⁷Ser); (Traver *et al.*, 1992). Esta variante resulta em uma atividade da enzima extremamente baixa a indetectável nas células de indivíduos homozigotos (TT), e em uma atividade duas vezes menor nos heterozigotos (CT) quando comparado com a forma selvagem (CC), de acordo com testes *in vitro* (Misra *et al.*, 2000). Além disso, estudos indicam que a variante polimórfica é incapaz de estabilizar a proteína p53 (Asher *et al.*, 2002). Essas diferenças de atividade entre a NQO1 polimórfica e a selvagem podem ser, em parte, devido a uma menor expressão da proteína polimórfica, sugerindo uma instabilidade proteica gerada por este polimorfismo (Misra *et al.*, 2000).

O alelo ⁶⁰⁹T da *NQO1* já foi associado ao risco de leucemia aguda em adultos (Smith *et al.*, 2001), LLA em crianças (Krajinovic *et al.*, 2002), câncer de esôfago (Yanling *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2003), câncer gástrico (Yang *et al.*, 2012), câncer de cólon (Zhao *et al.*, 2012; Mitrou *et al.*, 2007; Begleiter *et al.*, 2006; van der Logt *et al.*, 2006), câncer de bexiga (Guo *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2008; Chao *et al.*, 2006), e câncer de fígado (Liu *et al.*, 2013).

Em relação ao câncer de mama, dois estudos caso-controle em caucasianos encontraram uma associação entre o homozigoto para o polimorfismo ⁶⁰⁹T e o risco de câncer de mama. Um destes estudos encontrou uma OR = 3,68 (IC 95% 1,41-9,62), (Sarmanová *et al.*, 2004) e o outro estudo encontrou uma OR = 3,80 (IC 95% 1,73-8,34), (Menzel *et al.*, 2004). Entretanto, um estudo caso-controle aninhado da *American Cancer Society Prevention II Nutrition*, nos Estados Unidos, com mulheres na pós-menopausa (Hong *et al.*, 2007) e dois estudos caso-controle realizados na China não encontraram associação estatisticamente significativa entre o polimorfismo ⁶⁰⁹T da *NQO1* e o risco de câncer de mama (Fowke *et al.*, 2004; Fowke *et al.*, 2003).

II. JUSTIFICATIVA

Apesar da crescente atenção no plano internacional para o estudo do câncer em adolescentes e adultos jovens, ainda são relativamente poucos os estudos voltados para uma caracterização detalhada da distribuição das taxas de incidência e mortalidade por câncer em jovens, bem como para a exploração dos aspectos biológicos desses tumores (Croucher *et al.*, 2009). Além disso, em relação ao câncer de mama, têm sido publicados relatos sugerindo um aumento na incidência e na mortalidade por câncer de mama em mulheres jovens em diferentes populações de várias partes do mundo, inclusive na região sudeste do Brasil, sendo pouco estudados os diversos fatores de risco ambientais e genéticos que poderiam estar influenciando o aparecimento precoce deste câncer neste grupo etário.

Enquanto raras mutações nos genes supressores de tumor ou nos proto-oncogenes são responsáveis por menos de 5% de todos os casos de câncer de mama (Stewart e Kleihues, 2003), as inúmeras variantes dos genes de baixa penetrância atuando em conjunto com fatores de risco ambientais são, provavelmente, responsáveis por uma parcela muito mais elevada do número de casos deste tipo de tumor.

A exposição aos estrógenos representa um dos fatores de risco mais importantes para o câncer de mama. A biossíntese e metabolização dos estrógenos envolvem uma série de passos enzimáticos regulados por diferentes genes, para os quais foram descritos alguns polimorfismos que podem estar associados a um aumento do risco para o câncer de mama. Entre estes encontram-se a *CYP17* e a *CYP19*, que estão envolvidas na síntese de estrogênio, e a *NQO1* envolvida na metabolização de quinonas exógenas ou geradas a partir da metabolização do estrogênio e em outros mecanismos de proteção à formação de neoplasias.

Em vista da ausência de dados sobre a distribuição do câncer em adultos jovens brasileiros, do possível aumento das taxas de incidência de câncer de mama em mulheres brasileiras jovens e das informações limitadas disponíveis sobre os polimorfismos genéticos

associados ao desenvolvimento de câncer de mama nestas mulheres, este trabalho tem como objetivo caracterizar a distribuição epidemiológica do câncer em adultos jovens no Brasil, com ênfase no câncer de mama feminino, e determinar a magnitude de associação entre polimorfismos genéticos nos genes *CYP17*, *CYP19* e *NQO1* e a ocorrência de câncer de mama em mulheres jovens.

III. OBJETIVOS

1. OBJETIVO GERAL

Caracterizar a distribuição epidemiológica do câncer em adultos jovens no Brasil com ênfase no câncer de mama feminino e determinar a magnitude de associação entre polimorfismos genéticos nos genes *CYP17*, *CYP19* e *NQO1* e a ocorrência de câncer de mama em mulheres jovens.

2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Realizar uma análise exploratória sobre a distribuição da incidência, da morbidade hospitalar e da mortalidade por câncer em adultos jovens (20-24 anos) no Brasil.
2. Realizar uma análise exploratória sobre a distribuição da incidência e da mortalidade por câncer de mama em mulheres menores de 50 anos durante as últimas décadas no Brasil.
3. Determinar a magnitude de associação entre os polimorfismos genéticos *MspAII* do gene *CYP17*, Arg²⁶⁴Cys do gene *CYP19* e C⁶⁰⁹T do gene *NQO1* e a ocorrência de câncer de mama em mulheres menores de 36 anos, em um estudo de caso-controle na cidade do Rio de Janeiro.

IV. METODOLOGIA

Para se alcançar os objetivos propostos, esta tese foi composta por três artigos científicos, cada um dos quais sendo desenvolvidos com metodologia própria, a saber:

- Cancer incidence, hospital morbidity, and mortality in young adults in Brazil.
- Incidência e mortalidade por câncer de mama em mulheres menores de 50 anos no Brasil.
- *CYP17*, *CYP19*, and *NQO1* genetic polymorphisms and breast cancer susceptibility in young women in Brazil.

V. ARTIGO I

Cancer incidence, hospital morbidity, and mortality in young adults in Brazil

Incidência, morbidade hospitalar e mortalidade por câncer em adultos jovens no
Brasil

Sabrina S Santos¹

Leticia Rodrigues Melo¹

Rosalina Koifman¹

Sergio Koifman¹

¹ *Escola Nacional de Saúde
Pública Sergio Arouca,
Fundação Oswaldo Cruz,
Rio de Janeiro, Brasil.*

Correspondence

S. S. Santos

Escola Nacional de Saúde

Pública Sergio Arouca,

Fundação Oswaldo Cruz.

Rua Leopoldo Bulhões 1480,

Rio de Janeiro, RJ

21041-210, Brasil.

sabrina_ssantos@hotmail.com

Abstract

There are still relatively few studies in the world on cancer incidence and mortality in young adults. The current study aimed to explore cancer distribution in young adults in Brazil. A descriptive study was conducted on cancer incidence (selected State capitals), hospital morbidity, and mortality (Brazil and selected capitals) in the 20-24-year age strata in 2000-2002, and trends in cancer mortality rates in Brazil in 1980-2008 in the same population. Testicular cancer was the principal anatomical site in young adult males; in young adult women, the main sites were thyroid, uterine cervix, and Hodgkin disease. Brain cancer was the principal cause of death from cancer in both sexes, and time trends in mortality showed an increase in mortality from brain cancer in men and from lymphocytic leukemia in both sexes. As a whole, the results show an epidemiological pattern of cancer in young adults with regional distribution characteristics.

Keywords: Neoplasms; Young Adult; Morbidity; Mortality

Resumo

No mundo, ainda são relativamente poucos os estudos sobre a incidência e mortalidade por câncer em adultos jovens. O objetivo foi explorar a distribuição de câncer em adultos jovens no Brasil. Foi realizado um estudo descritivo da incidência (capitais selecionadas), da morbidade hospitalar e da mortalidade (Brasil e capitais selecionadas) por câncer aos 20-24 anos, no período de 2000-2002, e da evolução das taxas de mortalidade por câncer no Brasil no período de 1980-2008, na mesma população. O câncer de testículo foi a principal localização anatômica em homens; e as neoplasias da glândula tireoide, do colo de útero e a doença de Hodgkin nas mulheres. O câncer de encéfalo foi a principal causa de óbito por câncer em ambos os sexos, e a tendência temporal da mortalidade mostra um aumento da mortalidade por câncer de encéfalo em homens e pela leucemia linfóide em ambos os sexos. Em conjunto, os resultados apresentados retratam um padrão epidemiológico de câncer em adultos jovens no Brasil com características regionais de distribuição.

Palavras chaves: Neoplasias; Adulto Jovem; Morbidade; Mortalidade

Introduction

After years of studies on the distribution of neoplasms in children and adults, increasing international research has focused on cancer in adolescents and young adults ¹. However, there are still relatively few studies with a detailed characterization of the distribution of cancer incidence and mortality rates in young people or which explore the biological characteristics of these tumors ².

The current interest in cancer in young adults is due partly to the limited progress in oncologic treatment in this age group as compared to children or older adults. Some cancers frequently show worse survival in adolescents (15-19 years) and young adults (20-24 years) as compared to other age strata. These include breast cancer, colorectal cancer, soft tissue sarcoma, non-Hodgkin lymphoma, and leukemia ³. One possible explanation for this heterogeneity is that most therapies administered to adolescents and young adults were derived from therapies originally designed for other age brackets, besides the relative lack of clinical trials and studies with tumor samples from these patients. This scenario may have led to a lack of opportunities for exploring and discovering potential biological differences between tumors in adolescents and young adults and those in other age groups ⁴. In addition, cancer in young people is associated with a particularly significant emotional burden, and it is often difficult for young people to accept treatments that jeopardize their independence or that may have lasting effects on their body image and fertility ^{5,6}.

Most neoplasms currently diagnosed in young adults lack known genetic or environmental risk factors. Most of these neoplasms are known to consist of sporadic tumors, that is, they affect individuals without a family history of cancer clusters. This age stratum rarely involves inherited cancer syndromes, i.e., those in which individuals have a high lifetime risk of developing a neoplasm ⁷.

The objective of this study was to conduct an exploratory analysis of the distribution of cancer incidence, hospital morbidity, and mortality in young adults in Brazil.

Material and methods

Study design

A descriptive study was conducted on the distribution of cancer incidence rates (in selected cities), hospital morbidity, and mortality (in Brazil as a whole and in selected cities) in young adults (20-24 years) in Brazil according to gender from 2000 to 2002. A descriptive study was also performed on cancer mortality rates by gender in young Brazilians in the same age bracket from 1980 to 2008.

Analysis of incidence

Incidence data on cancer were obtained from population-based cancer registries (Instituto Nacional de Câncer. <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/estatisticas/site/home/rcbp/>, accessed on 01/Jan/2011) for Brazilian State capitals that maintained such registries and that met the following data quality criteria: microscopic verification (histological, cytological, or hematological examination) in more than 75% of cases; fewer than 20% of cases only reported by death certificate; fewer than 5% of malignant neoplasms without specification of site (C80); and fewer than 15% of cases with the patient's age missing⁸. The study thus included and analyzed cancer incidence for the populations of São Paulo, Porto Alegre (Rio Grande do Sul State), João Pessoa (Paraíba), Goiânia (Goiás), Fortaleza (Ceará), Cuiabá (Mato Grosso), Belo Horizonte (Minas Gerais), and Aracaju (Sergipe).

Cancer incidence rates were calculated for 2000-2002. This period was chosen because it was the only one in which all the data were available from the population-based

cancer registries. Cancer incidence rates were calculated for all sites except non-melanoma skin cancer and for the principal sites in the State capitals, for both males and females.

Analysis of hospital morbidity

To estimate the impact of cancer as the cause of illness, the study calculated the proportions of hospital admissions for cancer in patients 20 to 24 years of age according to gender for the period 2000-2002, in the same cities wherein incidence rates were analyzed and for Brazil as a whole. Hospital morbidity data were obtained from the database of the Unified National Health System's Information Technology Department, (DATASUS. <http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=02>, accessed on 01/Jan/2011). The proportions of hospital admissions due to cancer were calculated using as the denominator all admissions in the National Health System (excluding childbirth and postpartum) in the same age bracket and according to gender.

Analysis of mortality

Mortality data (1980-2008) were obtained from the database of the Unified National Health System's Information Technology Department (DATASUS. <http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=02>, accessed on 01/Jan/2011) in the same cities wherein incidence rates were analyzed and for Brazil as a whole. Mortality rates were calculated according to gender for 2000-2002. This period was chosen because it was the same used to analyze incidence, thus allowing comparison of the two indicators (mortality and incidence). Mortality rates were presented for all tumor sites, in addition to the mortality rates for the sites with the highest rates in Brazil as a whole and in the selected cities. Cancer was also ranked in comparison to other causes of death (chapters in the International Classification of Diseases, 10th Revision – ICD-10).

Distributions of mortality rates from cancer for all sites and for the sites with the highest mortality rates in Brazil, by gender, were explored for the period 1980-2008. Poisson (log) regression was used for this purpose, with mortality rate (per 100,000) as the dependent variable, centralized calendar year as the independent variable, and assuming continuous variance throughout the target period. The study used Joinpoint 3.5.2 (<http://www.cancer.org>) to calculate the average annual percent change (AAPC) in the respective distributions.

Population data

The populations of men and women living in Brazil and in each selected city were obtained from DATASUS based on the population censuses from 1980, 1991, and 2000, the 1996 count, and inter-census projections (1981-2009). These populations were used in calculating the incidence and mortality rates for each gender.

Results

Incidence

Table 1 shows the absolute distribution and incidence rates for cancer for 2000-2002 in men 20-24 years of age in the selected Brazilian State capitals. The highest incidence rate for all sites except non-melanoma skin cancer was observed in Porto Alegre (42.0 cases/100,000), followed by São Paulo (32.1/100,000) and Cuiabá (31.2/100,000). Aracaju (21.0/100,000), Goiânia (20.7/100,000), Belo Horizonte (20.3/100,000), and Fortaleza (20.3/100,000) showed intermediate rates, while João Pessoa presented the lowest rate (13.7/100,000).

The main cancer site in young men during this period was testicular cancer, the tumor site with the highest incidence rate in the cities of Porto Alegre (10.9 cases/100,000), São Paulo (4.3/100,000), Belo Horizonte (4.1/100,000), and Goiânia (2.8/100,000). In Cuiabá

(2.6/100,000) and Aracaju (2.8/100,000), testicular cancer was the second leading site for cancer incidence among 20-24-year-old males.

For non-Hodgkin lymphoma, the highest incidence rate in this period was seen in João Pessoa (4.6 cases/100,000), where it was the leading cause of cancer in men, followed by Belo Horizonte (3.2/100,000), São Paulo (2.8/100,000), Fortaleza (2.6/100,000), and Porto Alegre (2.2/100,000).

In men, tumors of bones and articular cartilage comprised the main site in Cuiabá (6.5 cases/100,000) and Aracaju (5.6/100,000) and one of the principal sites in Goiânia (2.8/100,000). Meanwhile, brain cancer was the tumor site with the highest incidence rate in Fortaleza (3.6/100,000) and presenting similar rate in Porto Alegre (3.3/100,000).

For women 20 to 24 years of age, São Paulo showed the highest cancer incidence rate (for all sites except non-melanoma skin cancer) in the selected cities (36.1/100,000). In the other cities, the rates were as follows in decreasing order: 35.2/100,000 in Cuiabá, 32.8/100,000 in Aracaju, 30.9/100,000 in Porto Alegre, 25.2/100,000 in Goiânia, 23.9/100,000 in Fortaleza, and 22.6/100,000 in Belo Horizonte. João Pessoa showed the lowest incidence rate in females during the target period (15.2/100,000) (Table 2).

Cancer of the thyroid was the main site in women de 20 to 24 years of age in five of the eight selected cities: Aracaju (6.1/100,000), São Paulo (6.0/100,000), João Pessoa (4.1/100,000), Cuiabá (3.6/100,000), and Fortaleza (3.1/100,000).

For cancer of the uterine cervix, Aracaju showed the highest incidence rate (6.1 cases/100,000); together with thyroid cancer, it was the site with the highest incidence rate in women in this city. The next highest incidences rates for cervical cancer were observed in São Paulo (4.8/100,000), Porto Alegre (2.6/100,000), Cuiabá (2.4/100,000), Goiânia (2.1/100,000), João Pessoa (2.0/100,000), and Fortaleza (1.7/100,000).

Hodgkin disease was the most common site in young women in Porto Alegre (6.3 cases/100,000), Belo Horizonte (3.8/100,000), and Fortaleza (3.1/100,000), but also with high rates in the other cities, except Goiânia (1.5/100,000).

For brain cancer, Aracaju showed the highest incidence rate (4.9/100,000), followed by Porto Alegre (3.1/100,000). The other cities showed moderate or low rates.

Non-Hodgkin lymphoma was the most common site in young women in Goiânia, 3.1/100,000, the same rate as observed in Porto Alegre and similar to that in Belo Horizonte (2.8/100,000). Breast cancer showed the highest incidence rate in Cuiabá (3.6/100,000), where it was the leading tumor site in young women, followed by Goiânia (2.6/100,000) and Aracaju (2.4/100,000).

Hospital morbidity

Analysis of hospital admissions of young people (20-24 years) in the Brazilian National Health System in 2000-2002 showed that cancer (ICD-10 chapter II, excluding benign tumors and nonmelanoma skin cancer) was the 12th cause of hospitalization in men and the 8th cause in women.

In men, cancer accounted for 2% of all admissions, as compared to 24% for injuries, poisoning, and other consequences of external causes, which were the leading cause of hospitalization. The proportions of other causes of hospitalization in men were 13% for diseases of the digestive system, 12% for diseases of the respiratory system, 10% for mental and behavioral disorders, 9% for infectious and parasitic diseases, 6% for diseases of the genitourinary system, 5% for diseases of the musculoskeletal system and connective tissue, 3% for diseases of the circulatory system, 3% for diseases of the skin, 3% for diseases of the subcutaneous system, and 2% for diseases of the nervous system.

In women, excluding childbirth and postpartum, hospital admissions due to cancer accounted for 3% of all admissions, while the leading cause of admission was diseases of the

genitourinary system (24% of all admissions). The proportions of other causes of hospitalization were 15% for diseases of the digestive system, 13% for diseases of the respiratory system, 10% for infectious and parasitic diseases, 6% for diseases of the circulatory system, 6% for injuries, poisoning, and other consequences of external causes, and 4% for mental and behavior disorders.

Cancer was the 8th cause of hospitalization in men 20-24 years of age in Porto Alegre (3% of all admissions), the 10th cause in Cuiabá (3%), 11th in João Pessoa (2%), Aracaju (2%), Fortaleza (3%), and Goiânia (2%), 12th in São Paulo (2%), and 13th in Belo Horizonte (2%). In women of the same age bracket, cancer was the 7th cause of hospitalization in Cuiabá (4%), 8th in Porto Alegre (4%), 10th in Aracaju (3%), and 11th in Goiânia (2%), Fortaleza (3%), Belo Horizonte (3%), and São Paulo (4%), excluding hospital admissions for childbirth and postpartum.

Mortality

Among the ICD-10 chapters, cancer (chapter II, excluding benign tumors) was the 4th cause of death in men 20 to 24 years of age in Brazil in 2000-2002, with 7.2 deaths per 100,000 men, next only to external causes (213.5/100,000), abnormal symptoms, signs, and clinical and laboratory findings not otherwise specified (13.3/100,000), and infectious and parasitic diseases (9.0/100,000). In women 20-24 years of age, during the same period, cancer was the 5th cause of death (5.3/100,000 women), next to external causes (20.9/100,000), abnormal symptoms, signs, and clinical and laboratory findings not otherwise specified (6.2/100,000), infectious and parasitic diseases (5.9/100,000) and diseases of the circulatory system (5.4/100,000).

In relation to the selected cities, cancer was the 2nd cause of death among men 20-24 years of age in São Paulo (9.5/100,000), Goiânia (9.0/100,000), and Belo Horizonte (7.4/100,000, together with infectious and parasitic diseases, diseases of the circulatory

system, and diseases of respiratory system). Cancer was the 3rd cause of death in Porto Alegre (12.0/100,000) and 5th in Fortaleza (7.5/100,000), João Pessoa (6.8/100,000, together with diseases of the circulatory system), Cuiabá (5.2/100,000, together with diseases of the nervous system and of the circulatory system), and Aracaju (4.2/100,000, together with diseases of the blood and hematopoietic organs and certain immune disorders and diseases of the nervous system, respiratory system, and digestive system).

In women 20-24 years of age, cancer was the 2nd cause of death in São Paulo (6.0/100,000), Goiânia (6.7/100,000, together with diseases of the circulatory system), and Aracaju (9.7/100,000), the 3rd cause of death in Porto Alegre (8.9/100,000), Fortaleza (7.1/100,000), Cuiabá (9.7/100,000), and Belo Horizonte (4.1/100,000), and the 4th cause in João Pessoa (3.0/100,000, together with diseases of the respiratory system and digestive system).

Table 3 shows the mortality rates from cancer in 2000-2002 in men 20-24 years of age in Brazil and in the selected State capitals. Brain cancer showed the highest mortality rate from cancer (0.8 deaths/100,000), followed by neoplasms of the bones and articular cartilage (0.8/100,000), lymphocytic leukemia (0.7/100,000), myeloid leukemia (0.7/100,000), non-Hodgkin lymphoma (0.6/100,000), and testicular cancer (0.4/100,000).

In relation to brain cancer, Porto Alegre showed the highest mortality rate (2.2/100,000), followed by Fortaleza (2.0/100,000) and Aracaju (1.4/100,000). Porto Alegre also showed the highest mortality rate from tumors of the bones and articular cartilage (2.2/100,000), followed by Goiânia (1.7/100,000) and Belo Horizonte (1.2/100,000).

Lymphocytic leukemia showed the highest mortality rate in Belo Horizonte (1.2/100,000) and similar rates in São Paulo and João Pessoa (1.1/100,000). As for myeloid leukemia, João Pessoa showed the highest rate (3.4/100,000), more than double the rate in some other cities (São Paulo 1.5/100,000; Cuiabá 1.3/100,000). Goiânia showed the highest

mortality rate from non-Hodgkin lymphoma (1.1/100,000), while Aracaju showed the highest mortality rate from testicular cancer (1.4/100,000).

Table 4 shows the absolute distribution of deaths and mortality rates from cancer in women 20-24 years of age in Brazil and in the selected State capitals in 2000-2002. As with men, brain cancer showed the highest mortality rate from cancer in females (0.7 deaths/100,000). Mortality rates from cancer in other tumor sites, in decreasing order, were: myeloid leukemia (0.6/100,000), non-Hodgkin lymphoma (0.3/100,000), cancer of the bones and articular cartilage (0.3/100,000), and lymphocytic leukemia (0.3/100,000).

Brain cancer showed the highest mortality rate in Porto Alegre (2.6/100,000), followed by Aracaju (2.4/100,000) and Fortaleza (2.3/100,000). The highest mortality rates from myeloid leukemia were in Cuiabá and Aracaju (1.2/100,000), followed by Porto Alegre (1.0/100,000) and São Paulo (0.9/100,000).

Non-Hodgkin lymphoma showed the highest mortality rate in Porto Alegre (1.0/100,000), tumors of the bones and articular cartilage in João Pessoa (1.0/100,000), and lymphocytic leukemia in Aracaju (2.4/100,000).

Table 5 shows the analysis of trends in mortality rates for men and women 20 to 24 years of age in Brazil for the periods 1980-2008 and 1999- 2008.

In young men, there was a slight increase in the mortality rate from all forms of cancer in 1999-2008 (AAPC: 0.9; 95%CI: 0.4; 1.4), while in young women the mortality rates from all cancers remained stable. The same period also witnessed an increase in mortality rates from brain cancer in young men (AAPC: 6.9; 95%CI: 3.0; 11.0), and a stable rate trend in women.

As for mortality rates from lymphocytic leukemia, there was an increase during both periods in both genders, slightly higher in women (AAPC: 1.5; 95%CI: 0.2; 2.8) as compared to men (AAPC: 1.3; 95%CI: 0.3; 2.2). The mortality rates from cancer of the bones and

articular cartilage and from myeloid leukemia remained stable in both young men and women during both periods.

Discussion

To our knowledge, this study was the first attempt at an analysis of the epidemiological distribution (incidence, hospital morbidity, and mortality) of cancer in young adults (20-24 years of age) in Brazil. Characterization of incidence rates was based on data from eight population-based cancer registries from Brazilian State capitals, selected according to internationally recommended data quality criteria. This strategy was used due to the absence of nationwide data and to allow the characterization of regional patterns in the distribution of cancer incidence rates in the selected age stratum. Morbidity and mortality rates used data available in the Information Technology Department of the Brazilian Unified National Health System (DATASUS) for the entire country, as well as broken down for the selected State capitals according to incidence, thus allowing comparisons between these indicators (incidence, hospital morbidity, and mortality). In addition, the trends in the rates were only analyzed with national data, due to the limited number of years in which the population based cancer registries have been in operation and the large number of years with no deaths reported in the selected cities, making it impossible to conduct statistical analyses for the incidence and mortality data.

Testicular cancer was the principal anatomical site among Brazilian men 20 to 24 years of age. Among women in the same age stratum, neoplasms of the thyroid and uterine cervix and Hodgkin disease were the most frequent.

The study revealed distinct regional distribution patterns in the incidence rates for testicular and cervical cancer. While testicular cancer showed high rates in the State capitals in the South of Brazil, intermediate rates in the Southeast, and lower rates in the Central-West

and Northeast, the distribution was the opposite for cervical cancer, with the highest rates both in a State capital from the Northeast and from the Southeast.

A comparison of incidence rates for these tumors in populations of the same age stratum in other countries shows that for testicular cancer, Porto Alegre (10.9/100,000) presented an incidence rate similar to the highest reported international rates, as in the Southern Netherlands (9.7/100,000 in 1993-1999)⁹ and in white males in the United States (9.4/100,000 in 1995-1999)¹⁰. São Paulo showed an intermediate incidence rate (4.3/100,000 in 1999-2004), similar to the North of England (4.5/100,000 in 1968-1997)¹¹, while the other selected Brazilian cities displayed low incidence rates, relatively similar to black males in the United States (1.3/100,000 in 1995-1999)¹⁰.

Lacerda et al.¹² analyzed trends in the incidence rates of testicular cancer in two periods (1967-1976 and 1987-1996) in men 20-24 years of age in eight cities in Canada, Israel, Japan, Denmark, Finland, Norway, Sweden, and England and found an increase in incidence rates in all the selected populations. The populations in Finland, Israel, Norway, Sweden, and Canada showed an increase of more than 100% between the two periods, while those of Japan, Denmark, and England increased by around 50%, suggesting that exposure to environmental factors in recent decades may be associated with the change in the distribution pattern of the disease.

As for cancer of the uterine cervix, the incidence rates in some Brazilian State capitals such as Aracaju, São Paulo, and Porto Alegre were higher than in developed countries. The other selected Brazilian cities showed intermediate rates, similar to international rates. Thus, while the United States had a rate of 2.6/100,000 in 1992-1997¹³ and the North of England had 2.1/100,000 in 1968-1997¹¹, similar to Cuiabá (2.4/100,000) and Goiânia (2.1/100,000), the rates were higher in Aracaju (6.1/100,000) and São Paulo (4.8/100,000).

In summary, testicular cancer rates in developed countries tend to be similar to those in the State capitals in the South and Southeast of Brazil, while incidence rates for cervical

cancer in the developed countries tend to be lower than those observed in Brazil. However, these data should be analyzed with caution due to the differences between periods analyzed in each country.

Observational studies estimate that early detection of precursor lesions of cervical cancer by Pap smear screening combined with effective treatment of detected lesions can reduce cervical cancer incidence by as much as 90% in the general population (while this reduction is somewhat smaller in younger women). However, such results are only achieved with high screening coverage (approximately 80%) and testing conducted according to recommended quality guidelines ¹⁴. According to information from the Pact for Health (DATASUS. Pacto pela Saúde, 2010/2011. <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/dh.exe?pacto/2010/cnv/pactbr.def>, accessed on 01/Jan/2011), during 2007-2010 this target was not reached in any of the eight cities selected for the current study. The best coverage for Pap smear screening among women in the 25-59 years of age in these cities was in João Pessoa in 2007-2009, but with coverage of only 23% of the target population. Coverage was even lower (only 3% of the target population in 2007) in Aracaju, the city with the highest cervical cancer incidence rate in the 20-24-year stratum (6.1/100,000) among the selected cities, highlighting that greater investments and reorganization of public health care services could have an impact on this adverse reality.

As for thyroid cancer, much higher incidence rates were observed in the selected Brazilian cities than expected for this age stratum. A comparison of thyroid cancer incidence rates in the selected Brazilian cities with those in 20-24-year-old adults in other countries shows that while the rates in Brazilian men ranged from 0.7 to 2.8/100,000, the rate was 1.0/100,000 in the United States in 1992- 1997 ¹³ and 0.3/100,000 in the North of England in 1968-1997 ¹¹. For women 20 to 24 years of age, the incidence rate in the United States in 1992-1997 (5.7/100,000) ¹³ was similar to the rates in Aracaju (6.1/100,000) and São Paulo

(6.0 /100,000), while the rate in the North of England was only 1.0/100,000 women in 1968-1997 ¹¹.

An indicator used to analyze cancer distribution in the Brazilian national population and in the selected cities was the proportion of hospital admissions due to cancer in the Brazilian Unified National Health System (SUS). Unlike mortality, which is a single event, hospitalization can occur several times in the same patient, or only once in others. In addition, although cancer is a serious disease requiring medical attention, a certain proportion of patients may not have been diagnosed as such (e.g., leukemia) or may not have had access to oncologic care, with both situations leading to underreporting of cases. Although these limitations mean that the hospital admissions rate for cancer differs from the incidence rate, the proportion of hospital admissions for a given disease in relation to total hospitalizations in a given age stratum allows comparison of the distribution of diseases between different populations.

This analysis revealed that the percentage of admissions for cancer in 2000-2002 was relatively similar in men and women, both in Brazil as a whole and in the selected cities. However, the data refer only to hospital admissions in the SUS (public hospitals or private hospitals outsourced by the public system), meaning that any attempt at inference on the population's cancer profile should be made with caution.

Although brain cancer did not show extremely high incidence rates in men and women 20 to 24 years of age, it was the leading cause of death from cancer in this age bracket in both sexes. This same pattern has been described elsewhere in the world. Although brain cancer is not very frequent, it contributes significantly to mortality, since it generally entails a poor prognosis. The most common histopathological type of primary brain tumor, glioblastoma, is considered surgically incurable and displays marked resistance to radiotherapy and chemotherapy, leading to a three-year survival of only 3% ¹⁵. However, the mortality rates from brain cancer in young adults (20-24 years) in Brazil are slightly higher than in the same

age stratum in the United States, especially in women. While the brain cancer mortality rate in Brazil was 0.8/100,000 in men and 0.7/100,000 in women in 2000-2002, mortality rates from cancer of the brain and nervous system in the United States in 2000- 2004 were 0.67/100,000 in men and 0.46/100,000 in women (National Cancer Institute. Cancer mortality maps. <http://ratecalc.cancer.gov/>, accessed on 01/Feb/2012).

Unfortunately, the literature on the distribution of cancer incidence and mortality in the 20-24-year age stratum is still extremely limited, not only in Brazil, but elsewhere in the world, thus hindering comparisons of Brazil's epidemiological indicators with those of other countries.

Analysis of trends in mortality rates in young adults (20-24 years) in Brazil showed a slight increase in all cancer sites and a marked rise in brain cancer, both in males and in the period from 1999 to 2008. There was also an increase in lymphocytic leukemia in both sexes from 1980 to 2008 and from 1999 to 2008. Meanwhile, mortality rates from bone and joint cancer and myeloid leukemia remained stable in both sexes during the two target periods. The data suggest that the observed increases in brain cancer and lymphocytic leukemia may actually represent real increases and not merely the result of improved reporting of mortality data in the country. Importantly, this rise in mortality from lymphocytic leukemia contrasts with the downward trend in mortality rates from leukemia as a whole in individuals under 15 years of age in Brazil ¹⁶.

Several studies have analyzed the under use of mortality data in Brazil, due not only to the data's limitations but also to the unjustified belief that such limitations would definitively compromise any result potentially derived from them ¹⁷. The limitations of mortality data are related to coverage and the reliability of data completion in death certificates, especially in the poorer regions of the country. However, studies in Brazil have evaluated the reliability and validity of death certificates for cancer patients by comparing the reported and true causes of death, indicating the presence of high reliability ^{18,19}.

Another limitation to our study relates to cancer incidence data. The lack of implementation of standardized data collection protocols has led to heterogeneity in data coverage and quality. Additionally, the periods with available data differ between the population-based cancer registries, and in some cases such periods are very short. To minimize the limitation caused by the quality of incidence data, the cancer registries used in this study were selected on the basis of internationally accepted data quality criteria ⁸.

As a whole, the results presented here portray an epidemiological pattern of cancer in young adults in Brazil with some specific characteristics of regional distribution. The latter reveal a pattern with some similarities in incidence (as in testicular cancer) and heterogeneity (cervical cancer and thyroid cancer) in relation to those reported in developed countries. Importantly, the study indicates the lack of a decline in mortality from various cancers in young adults in Brazil in last three decades and an increase in mortality from brain cancer and especially lymphocytic leukemia. This highlights the need to conduct survival studies on cancer in young Brazilian adults, as well as studies with tumor samples, exploring the biological characteristics of these neoplasms and studies on the special needs of the population group that develops this disease.

Contributors

S. S. Santos participated in the data analysis and interpretation, writing of the article, and approval of the final version for publication. L. R. Melo collaborated in the data analysis and interpretation, relevant critical revision of the intellectual content, and approval of the final version for publication. R. J. Koifman and S. Koifman contributed to the study conceptualization and project, relevant critical revision of the intellectual content, and approval of the final version for publication.

Acknowledgments

The authors wish to thank CAPES and CNPq for their financial support.

References

1. Bleyer A, Barr R, Hayes-Lattin B, Thomas D, Ellis C, Anderson B, et al. The distinctive biology of cancer in adolescents and young adults. *Nat Rev Cancer* 2008; 8:288-98.
2. Croucher C, Whelan JS, Møller H, Davies EA. Trends in the incidence and survival of cancer in teenagers and young adults: regional analysis for South East England 1960-2002. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 2009; 21:417-24.
3. Bleyer A. Young adult oncology: the patients and their survival challenges. *CA Cancer J Clin* 2007; 57:242-55.
4. Schmidt C. Lack of progress in teen and young adult cancers concerns researchers, prompts study. *J Natl Cancer Inst* 2006; 98:1760-3.
5. Smith S, Davies S, Wright D, Chapman C, Whiteson M. The experiences of teenagers and young adults with cancer: results of 2004 conference survey. *Eur J Oncol Nurs* 2007; 11:362-8.
6. Trevino KM, Maciejewski PK, Fasciano K, Greer JA, Partridge A, Kacel EL, et al. Coping and psychological distress in young adults with advanced cancer. *J Support Oncol* 2012; 10:124-30.
7. D’Orazio JA. Inherited cancer syndromes in children and young adults. *J Pediatr Hematol Oncol* 2010; 32:195-228.
8. Coordenação de Prevenção e Vigilância, Instituto Nacional de Câncer. Câncer no Brasil: dados dos registros de base populacional. v. 4. Rio de Janeiro: Instituto Nacional de Câncer; 2010.

9. Reedijk AM, Janssen-Heijnen ML, Louwman MW, Snepvangers Y, Hofhuis WJ, Coebergh JW. Increasing incidence and improved survival of cancer in children and young adults in Southern Netherlands, 1973-1999. *Eur J Cancer* 2005; 41:760-9.
10. Wu X, Groves FD, McLaughlin CC, Jemal A, Martin J, Chen VW. Cancer incidence patterns among adolescents and young adults in the United States. *Cancer Causes Control* 2005; 16:309-20.
11. Pearce MS, Parker L, Windebank KP, Cotterill SJ, Craft AW. Cancer in adolescents and young adults aged 15-24 years: a report from the North of England young person's malignant disease registry, UK. *Pediatr Blood Cancer* 2005; 45:687-93.
12. Lacerda HM, Akre O, Merletti F, Richiardi L. Time trends in the incidence of testicular cancer in childhood and young adulthood. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18:2042-5.
13. Wu XC, Chen VW, Steele B, Roffers S, Klotz JB, Correa CN, et al. Cancer incidence in adolescents and young adults in the United States, 1992-1997. *J Adolesc Health* 2003; 32:405-15.
14. Gustafsson L, Pontén J, Zack M, Adami HO. International incidence rates of invasive cervical cancer after introduction of cytological screening. *Cancer Causes Control* 1997; 8:755-63.
15. Boyle P, Levin B, editors. *World cancer report 2008*. Lyon: IARC Press; 2008.
16. Couto AC, Ferreira JD, Koifman RJ, Monteiro GT, Pombo-de-Oliveira MS, Koifman S. Trends in childhood leukemia mortality over a 25-year period. *J Pediatr (Rio J.)* 2010; 86:405-10.
17. Paes NA. Qualidade das estatísticas de óbitos por causas desconhecidas dos Estados brasileiros. *Rev Saúde Pública* 2007; 41:436-45.

18. Monteiro GTR, Koifman RJ, Koifman S. Confiabilidade e validade dos atestados de óbito por neoplasias. I. Confiabilidade da codificação para o conjunto das neoplasias no Estado do Rio de Janeiro. *Cad Saúde Pública* 1997; 13 Suppl 1:39-52.

19. Fajardo S, Aerts DRGC, Bassanesi SL. Acurácia da equipe do Sistema de Informações sobre Mortalidade na seleção da causa básica do óbito em capital no Sul do Brasil. *Cad Saúde Pública* 2009; 25:2218-28.

Table 1: Cancer incidence in main anatomical sites in selected cities, males, 20-24 years, Brazil, 2000-2002.

Type of cancer (ICD-10)	São Paulo		Porto Alegre		João Pessoa		Goiânia		Fortaleza		Cuiabá		Belo Horizonte		Aracaju	
	n	Rate	n	Rate	n	Rate	n	Rate	n	Rate	n	Rate	n	Rate	n	Rate
Total *	481	32.1	77	42,0	12	13,7	37	20.7	62	20.3	24	31.2	69	20.3	15	21.0
Testis (C62)	65	4.3*	20	10,9*	0	0,0	5	2.8*	7	2.3	2	2.6	14	4.1*	2	2.8
Non-Hodgkin lymphoma (C82, C83, C85)	42	2.8	4	2,2	4	4,6*	2	1.1	8	2.6	0	0.0	11	3.2	1	1.4
Hodgkin disease (C81)	41	2.7	6	3.3	0	0.0	4	2.2	6	2.0	1	1.3	8	2.4	1	1.4
Bones and articular cartilage (C40, C41)	38	2.5	6	3.3	1	1.1	5	2.8*	3	1.0	5	6.5*	6	1.8	4	5.6*
Brain (C71)	31	2.1	6	3.3	0	0.0	4	2.2	11	3.6*	1	1.3	1	0.3	2	2.8
Myeloid leukemia (C92)	27	1.8	1	0.6	1	1.1	3	1.7	3	1.0	2	2.6	2	0.6	0	0.0
Lymphocytic leukemia (C91)	22	1.5	4	2.2	0	0.0	0	0.0	3	1.0	2	2.6	4	1.2	1	1.4
Connective tissue and other soft tissues (C49)	19	1.3	4	2.2	0	0.0	2	1.1	3	1.0	1	1.3	6	1.8	0	0.0
Thyroid gland (C73)	17	1.1	5	2.7	2	2.3	0	0.0	2	0.6	1	1.3	0	0.0	2	2.8
Colon (C18)	11	0.7	0	0.0	0	0.0	2	1.1	3	1.0	0	0.0	0	0.0	1	1.4
Melanoma (C43)	11	0.7	5	2.7	1	1.1	1	0.6	1	0.3	0	0.0	1	0.3	0	0.0
Stomach (C16)	11	0.7	1	0.6	0	0.0	1	0.6	1	0.3	1	1.3	2	0.6	0	0.0
Leukemia, cell type unspecified (C95)	11	0.7	0	0.0	0	0.0	1	0.6	1	0.3	1	1.3	1	0.3	0	0.0
Bronchi and lungs (C34)	6	0.4	1	0.6	0	0.0	2	1.1	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	1.4

ICD-10: International Classification of Diseases, 10th Revision.

* Excludes non-melanoma skin cancer; ** Highest incidence

Table 2: Cancer incidence and number of cases in main anatomical sites in selected cities, females, 20-24 years, Brazil, 2000-2002.

Type of cancer (ICD-10)	São Paulo		Porto Alegre		João Pessoa		Goiânia		Fortaleza		Cuiabá		Belo Horizonte		Aracaju	
	n	Rate	n	Rate	n	Rate	n	Rate	n	Rate	n	Rate	n	Rate	n	Rate
Total**	575	36.1	59	30.9	15	15.2	49	25.2	84	23.9	29	35.2	82	22.6	27	32.8
Thyroid gland (C73)	95	6.0*	4	2.1	4	4.1*	0	0.0	11	3.1*	3	3.6*	6	1.7	5	6.1*
Uterine cervix (C53)	77	4.8	5	2.6	2	2.0	4	2.1	6	1.7	2	2.4	0	0	5	6.1*
Hodgkin disease (C81)	47	3.0	12	6.3*	3	3.0	3	1.5	11	3.1*	2	2.4	14	3.9*	2	2.4
Ovary (C56)	35	2.2	1	0.5	1	1.0	0	0.0	7	2.0	3	3.6*	3	0.8	2	2.4
Myeloid leukemia (C92)	31	1.9	1	0.5	1	1.0	4	2.1	3	0.9	1	1.2	5	1.4	0	0.0
Brain (C71)	24	1.5	6	3.1	2	2.0	4	2.0	8	2.3	1	1.2	5	1.4	4	4.9
Non-Hodgkin lymphoma (C82, C83, C85)	24	1.5	6	3.1	0	0.0	6	3.1*	7	2.0	0	0.0	10	2.8	1	1.2
Bones and articular cartilage (C40, C41)	21	1.3	0	0.0	0	0.0	4	2.1	2	0.6	2	2.4	10	2.6	2	2.4
Connective tissue and other soft tissues (C49)	19	1.2	3	1.6	0	0.0	5	2.6	2	0.6	1	1.2	3	0.8	1	1.2
Lymphocytic leukemia (C91)	17	1.1	0	0.0	0	0.0	3	1.5	2	0.6	1	1.2	1	0.3	1	1.2
Breast (C50)	15	0.9	3	1.6	1	1.0	5	2.6	6	1.7	3	3.6*	5	1.4	2	2.4
Colon (C18)	13	0.8	2	1.1	0	0.0	0	0.0	2	0.6	1	1.2	2	0.6	0	0.0
Melanoma (C43)	13	0.8	11	5.8	0	0.0	2	1.0	0	0.0	2	2.4	3	0.8	0	0.0
Stomach (C16)	12	0.8	0	0.0	0	0.0	2	1.0	0	0.0	0	0.0	3	0.8	0	0.0
Bronchi and lungs (C34)	3	0.2	0	0.0	0	0.0	0	0.0	2	0.6	1	1.2	0	0.0	0	0.0
Uterus (C54, C55)	2	0.1	0	0.0	0	0.0	0	0.0	2	0.6	2	2.4	0	0.0	0	0.0

ICD-10: International Classification of Diseases, 10th Revision. * Excludes non-melanoma skin cancer; ** Highest incidence rate in the city in this period.

Table 3: Cancer mortality in main anatomical sites in selected cities, males, 20-24 years, Brazil, 2000-2002.

Type of cancer (ICD-10)	Brazil		São Paulo		Porto Alegre		João Pessoa		Goiânia		Fortaleza		Cuiabá		Belo Horizonte		Aracaju	
	n	Rate	n	Rate	n	Rate	n	Rate	n	Rate	n	Rate	n	Rate	n	Rate	n	Rate
Total	1766	7.2	142	9.5	22	12.0	6	6.8	16	9.0	23	7.5	4	5.2	25	7.4	3	4.2
Brain (C71)	205	0.8*	12	0.8	4	2.2*	0	0.0	2	1.1	6	2.0*	0	0.0	0	0.0	1	1.4*
Bones and articular cartilage (C40,C41)	184	0.8	16	1.1	4	2.2*	1	1.1	3	1.7*	0	0.0	0	0.0	4	1.2	0	0.0
Lymphocytic leukemia (C91)	173	0.7	16	1.1	1	0.5	1	1.1	1	0.6	2	0.7	0	0.0	4	1.2	0	0.0
Myeloid leukemia (C92)	164	0.7	22	1.5*	0	0.0	3	3.4*	2	1.1	1	0.3	1	1.3*	0	0.0	0	0.0
Non-Hodgkin lymphoma (C82, C83, C85)	155	0.6	9	0.6	1	0.5	0	0.0	2	1.1	2	0.7	0	0.0	3	0.9	0	0.0
Testis (C62)	106	0.4	16	1.1	2	1.1	0	0.0	2	1.1	2	0.7	0	0.0	2	0.6	1	1.4*
Leukemia, cell type unspecified (C95)	69	0.3	2	0.1	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	0.3	1	1.3*	1	0.3	0	0.0
Hodgkin disease (C81)	66	0.3	9	0.6	0	0.0	0	0.0	1	0.6	1	0.3	0	0.0	1	0.3	0	0.0
Connective tissue and other soft tissues (C49)	60	0.2	5	0.3	4	2.2*	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	2	0.6	0	0.0
Bronchi and lungs (C34)	52	0.2	1	0.1	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	1.3*	0	0.0	0	0.0
Liver (C22)	38	0.2	4	0.3	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	1.3*	2	0.6	0	0.0
Colon (C18)	35	0.1	4	0.3	0	0.0	0	0.0	1	0.6	1	0.3	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Stomach (C16)	34	0.1	3	0.2	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	0.3	0	0.0	1	0.3	0	0.0
Spinal column, cranial nerves, and others (C72)	28	0.1	2	0.1	2	1.1	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	0.3	0	0.0

ICD-10: International Classification of Diseases, 10th Revision.

* Highest mortality rate in Brazil or in the city during this period.

Table 4: Cancer mortality and number of cases in main anatomical sites in selected cities, females, 20-24 years, Brazil, 2000-2002.

Type of cancer (ICD-10)	Brazil		São Paulo		Porto Alegre		João Pessoa		Goiânia		Fortaleza		Cuiabá		Belo Horizonte		Aracaju	
	n	Rate	n	Rate	n	Rate	n	Rate	n	Rate	n	Rate	n	Rate	n	Rate	n	Rate
Total	1296	5.3	95	6.0	17	8.9	3	3.0	13	6.7	25	7.1	8	9.7	15	4.1	8	9.7
Brain (C71)	173	0.7*	12	0.8	5	2.6*	1	1.0*	2	1.0*	8	2.3	0	0.0	3	0.8*	2	2.4*
Myeloid leukemia (C92)	142	0.6	15	0.9*	2	1.0	0	0.0	1	0.5	1	0.3	1	1.2*	1	0.3	1	1.2
Non-Hodgkin lymphoma (C82, C83, C85)	78	0.3	0,5	0.5	2	1.0	0	0.0	0	0.0	2	0.6	0	0.0	1	0.3	0	0.0
Bones and articular cartilage (C40,C41)	74	0.3	0,3	0.3	1	0.5	1	1.0*	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	0.3	0	0.0
Lymphocytic leukemia (C91)	64	0.3	8	0.5	0	0.0	0	0.0	1	0.5	1	0.3	0	0.0	2	0.6	2	2.4*
Uterine cervix (C53)	61	0.2	2	0.1	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	0.3	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Ovary (C56)	60	0.2	2	0.1	0	0.0	0	0.0	1	0.5	1	0.3	0	0.0	1	0.3	1	1.2
Stomach (C16)	50	0.2	2	0.1	1	0.5	0	0.0	0	0.0	1	0.3	1	1.2*	1	0.3	0	0.0
Hodgkin disease (C81)	50	0.2	3	0.2	1	0.5	0	0.0	1	0.5	0	0.0	1	1.2*	0	0.0	0	0.0
Leukemia, cell type unspecified (C95)	45	0.2	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	0.3	0	0.0	1	0.3	0	0.0
Connective tissue and other soft tissues (C49)	33	0.1	2	0.1	0	0.0	0	0.0	2	1.0	2	0.6	1	1.2*	0	0.0	0	0.0
Bronchi and lungs (C34)	32	0.1	2	0.1	0	0.0	0	0.0	0	0.0	3	0.9	1	1.2*	0	0.0	0	0.0
Breast (C50)	30	0.1	3	0.2	0	0.0	0	0.0	1	0.5	0	0.0	1	1.2*	1	0.3	0	0.0
Melanoma (C43)	22	0.1	0	0.0	3	1.6	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	0.3	0	0.0

ICD-10: International Classification of Diseases, 10th Revision.

* Highest mortality rate in Brazil or in the city during this period.

Table 5: Average annual percent change (AAPC) in cancer mortality rate by gender, 20-24 years, Brazil, 1980-2008.

Type of câncer (ICD-10)	Men		Women	
	1980-2008	1999-2008	1980-2008	1999-2008
	AAPC (95% CI)	AAPC (95% CI)	AAPC (95% CI)	AAPC (95% CI)
All sites	0.1 (-0.4; 0.7)	0.9* (0.4; 1.4)	-0,2 (-0.9; 0.5)	-0.3 (-1.9; 1.4)
Brain (C71)	2.5 (-0.6; 5.7)	6.9* (3.0; 11.0)	-0,2 (-4.6; 4.5)	-0.9 (-6.2; 4.8)
Bones and articular cartilage (C40. C41)	0.7 (-0.2; 1.5)	0.7 (-0.2; 1.5)	1,1 (-0.1; 2.4)	1.1 (-0.1; 2.4)
Lymphocytic leukemia (C91)	1.3* (0.3; 2.2)	1.3* (0.3; 2.2)	1,5* (0.2; 2.8)	1.5* (0.2; 2.8)
Myeloid leukemia (C92)	0.2 (-0.4; 0.9)	0.2 (-0.4; 0.9)	0,2 (-0.5; 1.0)	0.2 (-0.5; 1.0)

ICD-10: International Classification of Diseases, 10th Revision; 95%CI: 95% confidence interval.

* AAPC significantly different from zero.

VI. ARTIGO II

Incidência e mortalidade por câncer de mama em mulheres menores de 50 anos no Brasil

Cancer incidence and mortality among women younger than 50 years in Brazil

Sabrina S. Santos, Leticia Rodrigues Melo, Rosalina Jorge Koifman, Sergio Koifman

Palavras chaves: câncer de mama, pré-menopausa, mulheres jovens, Brasil, mortalidade, incidência.

Escola Nacional de Saúde Pública/FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brasil

Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ

Escola Nacional de Saúde Pública

Rua Leopoldo Bulhões 1480 Manguinhos

Oitavo andar

Rio de Janeiro, RJ, CEP 21041-210

tel.: (21) 2598-2634

Abstract

Introduction: An increase in the incidence of breast cancer in young women has been reported in several countries. **Objective:** To explore the distribution of breast cancer in women aged below 50 years, in Brazil. **Methods:** A descriptive study on breast cancer incidence (selected cities) and mortality (Brazil and selected cities) in 2002-2004 was carried out, and the results were compared with those observed in other countries. Additionally, we analyzed the evolution of hospital morbidity and incidence rates of breast cancer. **Results:** Porto Alegre has the highest incidence rates (17.9 and 165.5/100,000, 15-39 and 40-49 years, respectively). Regarding mortality, Belo Horizonte has the highest rate for 15-39 years and Porto Alegre for 40-49 years in (2.8 and 25.5/100,000). The proportion of hospitalizations and the incidence rates of breast cancer suggest a process of change in the epidemiological distribution. **Conclusion:** The observed results reveal an epidemiological pattern of breast cancer distribution in young women in Brazilians with regional characteristics of distribution.

Resumo

Introdução: Um aumento na incidência de câncer de mama em mulheres jovens tem sido relatado em diversos países. **Objetivo:** Explorar a distribuição do câncer de mama em mulheres menores de 50 anos, no Brasil. **Métodos:** Foi realizado um estudo descritivo da incidência (capitais selecionadas) e da mortalidade (Brasil e capitais selecionadas) por câncer de mama, no período de 2002-2004, sendo os resultados comparados com aqueles observados em outros países. Adicionalmente, analisou-se a evolução da morbidade hospitalar e das taxas de incidência. **Resultados:** Porto Alegre possui as maiores taxas de incidência (17,9 e 165,5/100.000, 15-39 e 40-49 anos, respectivamente). Em relação à mortalidade, Belo Horizonte possui a maior taxa de 15-39 anos e Porto Alegre de 40-49 anos (2,8 e 25,5/100.000). A proporção de hospitalizações do SUS e as taxas de incidência de câncer de mama sugerem um processo de mudança na distribuição epidemiológica. **Conclusão:** Os resultados retratam um padrão epidemiológico do câncer de mama em mulheres jovens no Brasil com características regionais de distribuição.

Conflito de Interesses

Os autores declaram a inexistência de conflitos de interesse relativos a publicação do presente artigo.

Agradecimentos

Sabrina da Silva Santos é aluna de doutorado do Programa de Pós-graduação Saúde Pública e Meio Ambiente da Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz, sendo apoiada com bolsa de estudo da CAPES. Rosalina Jorge Koifman e Sergio Koifman têm suas atividades de pesquisa apoiadas pelo CNPq e FAPERJ.

Introdução

O câncer de mama é a localização neoplásica de maior incidência e a principal causa de morte por câncer entre as mulheres no mundo ¹, com uma estimativa de 1,38 milhões de casos novos, diagnosticados em 2008 (23% de todos os cânceres) ². No Brasil, de acordo com as estimativas de incidência de câncer para 2013, são esperados 52.680 novos casos de câncer de mama feminino (52 casos para cada 100 mil mulheres) ³.

A história natural do câncer de mama aponta para uma elevação das taxas de incidência desta doença segundo idades crescentes, fato que se traduz na presença de incidências mais elevadas na pós-menopausa ². Na pré-menopausa, o câncer de mama é descrito na literatura como uma doença usualmente atípica na ausência de antecedentes de história de agregação familiar de câncer de mama e/ou ovário ⁴. Os membros de famílias afetadas pelas síndromes hereditárias destas neoplasias podem ter um risco de vir a desenvolver um câncer de mama variando de 40 a 80%, como é o caso dos indivíduos apresentando mutações específicas nos genes *BRCA1* ou *BRCA2* ⁵. As mutações nestes genes, herdadas de forma autossômica dominante, são responsáveis pela chamada Síndrome de câncer de mama e ovário hereditários ⁶. As mutações no gene *TP53* observadas em famílias com a síndrome de Li-Fraumeni e Li-Fraumeni-like ⁷, e no gene *PTEN* em famílias com a síndrome de Cowden ⁸, apesar de raras, quando ocorrem são também associadas a um elevado risco de câncer de mama em idades jovens ⁹.

Neste sentido, a observação de casos de câncer de mama esporádico, ou seja, na ausência de antecedentes de agregação familiar da doença, em mulheres jovens (menores de 40 anos), pode ser considerada como um evento atípico. Existem relatos na literatura, entretanto, sobre a ocorrência nas últimas duas décadas de um aumento na incidência e na mortalidade de câncer de mama em mulheres jovens em várias partes do mundo ^{10,11,12,13,14,15}. No Brasil, por exemplo,

constataram-se aumentos significativos, entre 1998 e 2003 no percentual de internações por câncer de mama entre mulheres até 29 anos de idade nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais e Espírito Santo ¹⁶; e entre 1988 e 2003, na taxa de incidência desta neoplasia, em mulheres de 30-49 anos, em Goiânia ¹⁷.

Adicionalmente, alguns trabalhos sugerem que este aumento na incidência do câncer de mama em mulheres jovens estaria ocorrendo na ausência de agregação familiar. Assim, um estudo caso-controle realizado em mulheres menores de 36 anos, diagnosticadas com câncer de mama no Rio de Janeiro, observou que 70,9% (IC 95% 61,4-79,0) dos casos eram de natureza esporádica ¹⁸. Esse elevado percentual de mulheres jovens com câncer de mama esporádico sugere que a elevação nas taxas de câncer de mama nesta população, sugerida de estar ocorrendo no Brasil, poderia estar refletindo uma possível mudança nos padrões de distribuição desta neoplasia.

O objetivo deste trabalho foi realizar uma análise exploratória sobre a distribuição da incidência e da mortalidade por câncer em mulheres menores de 50 anos durante as últimas décadas no Brasil, buscando agrupar evidências que venham a documentar a existência de um cenário de modificações no padrão de distribuição da doença no país.

Material e Métodos

Delineamento do Estudo

Foi realizado um estudo descritivo sobre a distribuição das taxas de incidência (cidades selecionadas), morbidade hospitalar e mortalidade (Brasil e cidades selecionadas) por câncer de mama, em mulheres menores de 50 anos, no Brasil, durante o período 2002-2004, sendo seus resultados comparados entre si e com aqueles observados em outros países. Foi realizada uma

seleção aleatória de países, contemplando todos os continentes. O período selecionado consiste naquele com dados mais recentes publicados pelos Registros de Câncer de Base Populacional (RCBP) no país. Adicionalmente, foi realizado um descritivo da evolução das taxas de incidência por câncer de mama nas capitais estudadas, utilizando-se todo o período disponibilizado por cada um dos RCBPs no Brasil.

Análise da Incidência

Os dados de incidência de câncer de mama foram obtidos a partir dos RCBPs ¹⁹, para as capitais brasileiras dispondo destas unidades, e que atendessem aos seguintes critérios de qualidade dos dados: percentual de verificação microscópica (exame histológico, citológico ou hematológico) > 75%; percentual de casos notificados somente por meio da declaração de óbito < 20%; percentual de neoplasias malignas sem especificação de localização (C80) < 5%; e percentual de casos com idade ignorada < 15% ²⁰. Assim, foram incluídos e analisados os dados de incidência de câncer de mama das cidades de São Paulo, Porto Alegre, João Pessoa, Goiânia, Fortaleza, Cuiabá, Belo Horizonte e Aracaju.

Primeiramente, foram calculadas as taxas de incidência de câncer mama por faixa etária (15-39 e 40-49 anos), para o período de 2002-2004. Estes dados foram comparados com a incidência de câncer de mama descrita pelo GLOBOCAN 2008 ², em mulheres da mesma faixa etária, em países selecionados.

Posteriormente foi explorada a distribuição temporal das taxas de incidência por câncer de mama em todo o período disponibilizado por cada um dos RCBPs (1988-2008) segundo faixa etária (20-39 e 40-49 anos), através da Regressão de Poisson (log). A taxa de incidência (por 100.000 mulheres) foi analisada como variável dependente e o ano calendário centralizado como variável independente, considerando-se a variância continua durante todo o período analisado. O

software utilizado foi o Joinpoint 3.5.2 (www.cancer.org), através do qual foram calculados os percentuais anuais médios de modificação (AAPC) nas distribuições analisadas. Nesta análise foram excluídas as cidades de Belo Horizonte e Cuiabá, por se tratarem de séries de dados de curta duração (2000-2004 e 2000-2005, respectivamente).

A variação da incidência para uma dada faixa etária e localidade tomou como parâmetro de comparação a taxa de incidência observada no período inicial da respectiva série.

Morbidade Hospitalar

Os dados de morbidade hospitalar foram obtidos a partir do banco de dados do Sistema Único de Saúde (SUS) ²¹, sendo as proporções de hospitalizações por câncer de mama calculadas utilizando-se como denominador o total de hospitalizações no SUS (excluindo parto e puerpério) para a mesma faixa etária. Foram determinadas as proporções de hospitalizações por câncer de mama em mulheres segundo faixa etária (20-39 e 40-49 anos) no Brasil e nas mesmas cidades mencionadas em três períodos distintos (1995-1999; 2000-2004 e 2005-2009).

Tanto para o Brasil como para cada capital analisada, foi determinada a variação percentual da morbidade hospitalar no período final (2005-2009), em relação ao período inicial (1995-1999) para a mesma faixa etária e localidade. Posteriormente, calculou-se a mediana das variações na morbidade hospitalar no conjunto de capitais analisadas.

Análise da Mortalidade

Os dados de mortalidade por câncer de mama foram obtidos a partir do banco de dados do SUS ²¹ para o Brasil e para as mesmas cidades analisadas para a incidência. Foram considerados os códigos C50.0 a C50.9 (neoplasia maligna de mama) da 10ª edição da Classificação Internacional de Doenças (CID).

Primeiramente, foram calculadas as taxas de mortalidade para as faixas etárias de 15-39 e de 40-49, no período de 2002-2004. Este período foi escolhido por ser o mesmo período utilizado na análise da incidência, permitindo assim a comparação entre os dois indicadores (mortalidade e incidência). Estas taxas, então, foram comparadas com aquelas de países selecionados, através de dados disponibilizados pelo GLOBOCAN 2008 ².

Dados Populacionais

A população de mulheres residentes em cada cidade analisada foi obtida através do DATASUS ²¹, com base nos censos populacionais de 1980, 1991 e 2000, contagem de 1996 e projeções intercensitárias (1981-2009). Estas populações foram utilizadas na determinação das taxas de incidência e de mortalidade e para cada um dos grupos etários analisados.

Resultados

A análise da incidência de câncer de mama, nas capitais brasileiras estudadas, no período de 2002-2004, revela que as taxas mais elevadas na faixa de 15-39 anos foram observadas em Porto Alegre (17,9/100.000), Goiânia (17,8/100.000) e Cuiabá (17,2/100.000). A comparação das taxas de incidência das capitais brasileiras com aquelas apresentadas por diferentes países no ano de 2008, para a faixa etária de 15-39 anos ², revela que as taxas mais elevadas foram observadas em Portugal (21,2/100.00) e Dinamarca (21,0/100.000). As taxas de incidência de Porto Alegre e Goiânia no período analisado se assemelhavam à taxa nos Estados Unidos (18,1/100.000), enquanto São Paulo (13,8/100.000), Belo Horizonte (13,8/100.000) e João Pessoa (13,0/100.000) possuíam taxas intermediárias e semelhantes aquelas descritas no Japão (13,6/100.000) e Indonésia (13,1/100.000). Fortaleza foi a cidade brasileira apresentando a menor taxa de

incidência (11,8/100.000), enquanto que entre os países analisados as menores foram descritas em Angola (6,2/100.000) e em Gâmbia (5,0/100.000), (Figura 1).

Em relação às mulheres de 40-49 anos, Porto Alegre apresentou a maior taxa (165,5/100.000) entre todas as capitais brasileiras analisadas, superior a descrita em Israel, para a mesma faixa etária (156,7/100.000). As cidades de Cuiabá (132,0/100.000), João Pessoa (127,9/100.000), Goiânia (126,9/100.000), Belo Horizonte (121,3/100.000), São Paulo (118,9/100.000) e Aracaju (117,2/100.000) apresentaram taxas intermediárias, semelhantes às descritas na Alemanha (128,6/100.000) e Portugal (128,5/100.000). Entre as cidades brasileiras analisadas, Fortaleza foi a cidade com menor incidência na faixa de 40-49 anos (105,7/100.000), sendo esta, contudo mais elevada que a menor taxa descrita entre os países analisados, 37,0/100.000 em Gâmbia (Figura 1).

A Tabela 1 apresenta a análise da evolução das taxas de incidência de câncer de mama, nas faixas etárias de 20-39 e 40-49 anos, nos períodos disponibilizados pelos RCBPs analisados. Na faixa etária de 20-39 anos, é possível verificar um aumento, estatisticamente significativo, da variação anual das taxas de incidência das cidades de Porto Alegre no período 1993-2005 (AAPC 4,6; IC 95% 0,8-8,4) e Goiânia, período 1988-2008 (AAPC 4,4; IC 95% 2,8-5,9). Já na faixa etária de 40-49 anos, este aumento só foi verificado na cidade de Goiânia, período 1998-2008 (AAPC 2,4; IC 95% 0,3-4,6).

A análise das hospitalizações por câncer de mama no SUS nos período 1995-2009 revela uma estabilidade ao longo do tempo na distribuição das proporções de hospitalizações nas cidades analisadas, mediana de -7,9% na faixa de 20-39 comparando-se os períodos 2005-2009 com 1995-1999. A cidade de Fortaleza apresentou, entretanto, elevação na proporção de hospitalizações nesta faixa etária. Em mulheres de 40-49 anos, foi observada uma tendência à elevação monotônica das hospitalizações por câncer de mama no Brasil, bem como em sete das

oito cidades analisadas, particularmente em Fortaleza, Aracaju e Belo Horizonte (Figura 2). Nestas, a mediana de variação entre o primeiro e o último período estudado foi de 33,9%.

A mortalidade por câncer de mama em mulheres de 15-39 e 40-49 anos, no Brasil e nas capitais analisadas, no período de 2002-2004, foi comparada com a mortalidade em 2008 ² para os mesmos países utilizados na comparação da incidência (Figura 3). Marrocos possui as maiores taxas de mortalidade por câncer de mama nas duas faixas etárias analisadas (4,5 e 44,3/100.000, para 15-39 e 40-49 anos, respectivamente). Na faixa etária de 15-39 anos, entre as cidades brasileiras analisadas, Belo Horizonte possui a maior taxa de mortalidade (2,8/100.000), sendo similar àquela descrita em Portugal. Já a menor taxa de mortalidade, desta faixa etária, ocorreu na cidade de João Pessoa (1,3/100.000), semelhante à Gâmbia (1,4/100.000).

Na faixa etária de 40-49 anos, o Brasil apresenta a mesma taxa de mortalidade por câncer de mama descrita na Alemanha (17,3/100.000). Dentre as cidades brasileiras as maiores taxas ocorreram em Porto Alegre (25,5/100.000), São Paulo (23,2/100.000) e Goiânia (21,4/100.000), e a menor em Cuiabá (12,9/100.000).

Discussão

Como outros tipos de câncer, o câncer de mama é uma doença multifatorial, que resulta da contribuição de diversos fatores genéticos e ambientais ²². A exposição aos estrógenos representa um dos fatores de risco mais importantes para o câncer de mama, sendo a elevação do risco desta doença com o avanço da idade decorrente, em parte, da ampliação do intervalo de tempo de exposição hormonal ^{23,24}. Considerando-se a distribuição de casos segundo a presença de antecedentes familiares em diferentes populações, a sua maioria é constituída por casos esporádicos (sem antecedentes de história familiar), sendo os casos com agregação familiar

responsáveis por aproximadamente 5% do total de casos de câncer de mama ^{25,26}. Cerca da metade destas famílias possuem mutações nos genes *BRCA1* e *BRCA2*, constituindo a chamada síndrome de câncer de mama e ovário hereditários ⁶, que pode gerar um risco de até 80% de desenvolvimento de câncer de mama ao longo da vida ⁵. Além destas, já foram identificadas mutações em outros genes capazes de aumentar o risco de câncer de mama, gerando agregação familiar e a carcinogênese em mulheres jovens ⁹. Na ausência de antecedentes de história familiar, a ocorrência de câncer de mama na pré-menopausa era considerada, até algumas décadas, como um evento relativamente atípico, principalmente em menores de 40 anos.

Estima-se que as mulheres na pré-menopausa (15-49 anos) tenham contribuído em 2008 com cerca de 33% do total de casos novos de câncer de mama, e 24% do total de mortes em mulheres por esta neoplasia ². Além disso, no Brasil, o câncer de mama é a principal causa de morte em mulheres com idades entre 15-49 anos ²¹.

Adicionalmente, têm sido publicados relatos sugerindo um aumento na mortalidade e na incidência de câncer de mama em mulheres jovens em diferentes populações de várias partes do mundo. Cardona e Agudelo ¹⁴ verificaram uma tendência de aumento das taxas de mortalidade por câncer de mama em mulheres de 20-44 anos entre 1994-2003 em Medellín, Colômbia, embora as taxas de mortalidade por esta neoplasia em mulheres de 45-64 anos se mantivessem constantes naquele país, durante o mesmo período. Um aumento das taxas de mortalidade por câncer de mama também foi verificado no Irã entre 1995-2004, sendo este maior em mulheres entre 15-49 comparado com as mulheres de 50 anos ou mais ¹⁵. Recentemente, Wu e colaboradores ¹⁰ verificaram um aumento estatisticamente significativo na incidência de câncer de mama em mulheres de 15-49 anos entre 1973-2005 em Xangai, China, observando uma APC de 2,9 (IC 95% 2,5-3,4). Já nos Estados Unidos, Johnson e colaboradores ¹¹ verificaram, em mulheres de 25-35 anos, um aumento, estatisticamente significativo, na incidência do câncer de

mama com metástase em outros órgãos (ossos, cérebro, pulmão, etc., excluindo regiões próximas como linfonodos e parede torácica) no momento do diagnóstico, entre 1976-2009 (APC 2,07; IC 95% 1,57-2,58), sem um aumento correspondente em mulheres mais velhas. Adicionalmente, um aumento da incidência de câncer de mama foi verificado na França (1991-2007) em mulheres até 40 anos ¹² e na Espanha (1980-2004) em mulheres até 45 anos ¹³.

O presente estudo buscou explorar evidências que possibilitassem afirmar ou refutar a existência de mudanças no padrão de distribuição epidemiológica do câncer de mama em mulheres brasileiras na faixa etária da pré-menopausa. Para mulheres de 20-39 anos, foi observada certa homogeneidade na magnitude da incidência entre as cidades brasileiras analisadas em 2002-2004, sendo comparáveis a algumas das mais elevadas no plano mundial. Este padrão não apenas se mantém na faixa de 40-49 anos, como a incidência em Porto Alegre neste grupo etário foi uma das mais elevadas no mundo, sendo superior aquela observada em Israel, onde a presença de populações judaicas originárias da Europa Oriental (Askhenazi) é caracterizada pela elevada incidência de casos com agregação familiar de câncer de mama na pré-menopausa ^{27,28}. Embora apresentando taxas de incidência mais reduzidas, Goiânia, João Pessoa, Belo Horizonte e Aracaju situaram-se num patamar intermediário, com magnitudes cerca de duas vezes mais elevadas que a incidência em Cuba em 2008.

No mundo ocorrem mais de 411.000 mortes por câncer de mama anualmente, representando mais de 1,6% dos óbitos no sexo feminino por todas as causas ¹. Entretanto, ao longo das duas últimas décadas, a mortalidade por câncer de mama tem diminuído nos países desenvolvidos, devido à precocidade no diagnóstico e início do tratamento. Na maior parte da Europa e em alguns países das Américas, as taxas de mortalidade mantiveram-se relativamente estáveis entre 1960-1990, apresentando, em seguida, declínio significativo, que alcançou 25-30% no norte da Europa e nos Estados Unidos ^{1,29}. Em países em desenvolvimento, entretanto, as taxas

de mortalidade por câncer de mama são desproporcionalmente elevadas. A razão entre as taxas de mortalidade e de incidência, que é de 0,35 no mundo, varia de 0,19 na América do Norte a 0,69 na África ³⁰. Essa disparidade pode ser principalmente atribuída aos sistemas de saúde inadequados dos países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento, que interferem na taxa de mortalidade e na sobrevida de câncer nestes países ³¹. Segundo o estudo CONCORD, uma investigação internacional de base populacional realizada em 31 países com o objetivo de determinar a sobrevida de câncer em adultos de 15-99 anos diagnosticados no período 1990-1994, a sobrevida relativa de 5 anos do câncer de mama primário, ajustada por idade, variou de 80% ou mais na América do Norte, Suécia, Japão, Finlândia e Austrália, a menos de 40% na Argélia. No Brasil, a estimativa de sobrevida de 5 anos em Goiânia foi de 65,4% ³².

A sobrevida de câncer de mama em mulheres jovens (até 40 anos) pode ser ainda menor, já que alguns trabalhos na literatura relatam que o câncer de mama nestas mulheres apresentaria um comportamento mais agressivo do tumor e um pior prognóstico que aquele diagnosticado em idades mais avançadas ^{33,34}. Estas características podem ser parcialmente explicadas pelo fato de mulheres jovens geralmente apresentarem um estadiamento mais avançado de câncer de mama no momento do diagnóstico, uma maior prevalência de comprometimento linfonodal axilar, tumores menos diferenciados, com maior taxa de proliferação celular, e uma maior taxa de reincidência do câncer ^{34,35}. Adicionalmente, o câncer de mama com o subtipo molecular denominado tumor triplo-negativo, assim definido por não expressar os receptores de estrogênio, de progesterona e do fator de crescimento epidérmico humano, afeta frequentemente as pacientes mais jovens. Este subtipo é significativamente mais agressivo que os tumores pertencentes a outros subgrupos moleculares ³⁶.

Nossos dados revelam que as taxas de mortalidade por câncer de mama nas cidades brasileiras em 2002-2004 não eram muito distintas das taxas de outros países no ano de 2008,

sobretudo na faixa etária de 15-39 anos. A comparação das taxas de incidência com as taxas de mortalidade de câncer de mama revela que algumas cidades brasileiras com altas taxas de incidência, não possuem taxas de mortalidade tão elevadas, mudando de posição na hierarquia entre as cidades analisadas. Assim, para a faixa etária de 15-39 anos, Porto Alegre, que foi a cidade apresentando a maior taxa de incidência, passa a ter a sexta maior taxa de mortalidade, e Cuiabá que é a terceira em incidência, constitui a sétima na mortalidade. Para a faixa etária de 40-49 anos o mesmo ocorre em Cuiabá (segunda em incidência e oitava na mortalidade) e João Pessoa (terceira em incidência e sétima na mortalidade). O contrário foi verificado em Belo Horizonte (quinta posição na incidência e primeiro na mortalidade) e Aracaju (6º posição na incidência e 2ª na mortalidade), na faixa etária de 15-39 anos. Na faixa de 40-49 anos, São Paulo tem a sexta maior taxa de incidência e a segunda maior taxa de mortalidade, enquanto que Fortaleza colocou-se em 8º lugar na incidência e 5º na mortalidade em ambas as faixas etárias analisadas. A situação das cidades brasileiras que possuem altas taxas de incidência e não possuem taxas de mortalidade elevadas pode sugerir um diagnóstico precoce e um tratamento adequado das mulheres com câncer de mama.

Esta investigação também revelou a presença de uma elevação na variação das taxas de incidência de câncer de mama através do AAPC. No período entre 1988-2008, este foi superior a 4% ao ano em Porto Alegre e Goiânia na faixa de 20-39 anos, e em Aracaju na faixa de 40-49 anos. A maior parte das demais populações analisadas também apresentou um aumento da AAPC, que apesar de serem menos expressivos e estatisticamente não significativos, sugerem em seu conjunto um cenário de aumento da incidência de câncer de mama em mulheres jovens no Brasil. Uma tendência de aumento na incidência de câncer de mama em mulheres menores de 39 anos não seria esperada. Esta faixa etária é descrita como sendo de baixa incidência desta neoplasia, uma vez que nela a ocorrência de casos esporádicos não seria usual, e sim aqueles com

antecedentes de agregação familiar, os quais representam cerca de 5% de todos os casos de câncer de mama ^{25,26}. O aumento relatado da incidência de câncer de mama em diferentes países, e também no Brasil, é por esta razão inquietante, pois poderia estar refletindo uma elevação de neoplasias esporádicas decorrentes de novas exposições ambientais vivenciadas em décadas recentes.

A morbidade por câncer de mama foi estimada com base nas proporções de hospitalizações por câncer de mama no SUS, um indicador que apresenta vantagens e desvantagens. Entre as últimas podem ser mencionadas o fato de que uma mesma paciente pode vir a ser hospitalizada em oportunidades múltiplas, bem como o fato de que as hospitalizações pelo SUS podem ser decorrentes da disponibilidade de leitos, principalmente no caso de uma atenção especializada. Por outro lado, as análises realizadas tomaram como fonte de dados a casuística de pacientes segundo local de residência, e não o município de hospitalização. Em segundo lugar, a possível imprecisão do indicador não é diferencial, alcançando todas as populações exploradas, o que se traduziria em padrões relativamente estáveis no gradiente de hospitalizações por câncer de mama nas diferentes cidades, embora com precisão diminuída. Além disso, embora estas informações sejam referentes somente às internações efetuadas em hospitais públicos ou privados conveniados ao SUS, pode-se ressaltar a abrangência da cobertura deste sistema relativa à atenção oncológica em todo o país, sobretudo nas cidades das regiões Nordeste e Centro-Oeste. Finalmente, como os dados do SUS constituem uma das poucas fontes permitindo o monitoramento da morbidade por câncer de mama a nível nacional, consideramos importante sua utilização, mas com cautela na interpretação enquanto aproximações dos níveis reais de morbidade da doença. A análise das proporções de hospitalizações por câncer de mama, segundo faixa etária, revelou um padrão de aumento das hospitalizações em todo o país, bem como na maioria das cidades analisadas na faixa de 40-49 anos, sobretudo na Região Nordeste.

Em seu conjunto, os dados aqui apresentados da incidência e morbidade hospitalar por câncer de mama podem ser interpretados como sendo sugestivos de que esteja em curso um processo de mudança na distribuição epidemiológica do câncer de mama em mulheres menores de 50 anos de idade no Brasil. Esta afirmação baseia-se no fato de que a análise de seis cidades, dispondo de registros de câncer com indicadores de qualidade internacionalmente definidos como adequados, revela tendência de crescimento na incidência de câncer de mama em pelo menos uma das faixas etárias analisadas, oscilando entre 0,5 e 4,6% anuais. A análise de centros urbanos em diferentes regiões geográficas do país, com contingentes populacionais robustos, variando entre 142.000 e 2.792.000 de mulheres entre 20-49 anos (2008), torna improvável que as modificações de tendência observadas possam ser decorrentes de flutuações aleatórias. Adicionalmente, as variações anuais observadas nas taxas de incidência de câncer de mama não parecem estar associadas às condições sócio econômicas, como observado, por exemplo, em São Paulo (+0,8%) e Porto Alegre (+4,6 %) em menores de 40 anos, ou Fortaleza (0,0%) e Aracaju (+4,6%) na faixa de 40-49 anos.

Acredita-se que este aumento na incidência não possa ser majoritariamente atribuído a uma ampliação do diagnóstico da doença, tendo em vista que as mulheres jovens não encontram-se incluídas nas políticas públicas de rastreamento do câncer de mama. No Brasil, o Ministério da Saúde recomenda como principais estratégias de rastreamento populacional a realização de exame mamográfico, pelo menos a cada dois anos, para mulheres de 50 a 69 anos de idade, e o exame clínico anual das mamas, para mulheres de 40 a 49 anos de idade. O exame clínico da mama deve ser realizado em todas as mulheres que procuram o serviço de saúde, independentemente da faixa etária, como parte do atendimento integral à saúde da mulher. Para mulheres de grupos populacionais considerados de risco elevado para o câncer de mama

(presença de história familiar de câncer de mama em parentes de primeiro grau), recomenda-se o exame clínico da mama e a mamografia, anualmente, a partir de 35 anos de idade ³⁷.

Caso confirmado o aumento na incidência de câncer de mama em mulheres jovens ora descrito, é plausível supor que seja este decorrente de mudanças no estilo de vida e na história reprodutiva das mulheres brasileiras ocorridas durante as últimas décadas. Mudanças estas igualmente vivenciadas em outras populações, (especialmente países em desenvolvimento) e que alteram a prevalência de fatores de risco já conhecidos para o câncer de mama ³⁸. Estes fatores incluem menarca precoce, retardo na idade da primeira gestação, nuliparidade ou a diminuição do número de gestações, diminuição do tempo de amamentação, aumento do sedentarismo e da obesidade, mudança de hábitos alimentares e maior consumo de álcool pelas mulheres ^{39,40}. Um ponto em comum entre a maioria destes fatores de risco é a exposição excessiva ao hormônio estrogênio ²³, o que tem levantado a hipótese de que o uso crescente de anticoncepcionais iniciando-se cada vez mais precocemente e prolongando-se por longos períodos, possa igualmente ser fator de risco para doença ^{41,42}.

O diagnóstico de câncer de mama em mulheres jovens sugere que sua exposição a fatores de risco associados ao câncer tenha se iniciado em períodos iniciais da vida, ou mesmo na fase intra-uterina. Estudos epidemiológicos sugerem que fatores, que levem a uma maior exposição a substâncias estrogênicas durante o desenvolvimento fetal ou primeiros anos de vida, podem influenciar o risco futuro da carcinogênese da mama ⁴³. Entre estes mencionam-se a exposição a substâncias que apresentam ação agonista do estrogênio (desreguladores endócrinos) ⁴⁴, incluindo pesticidas organoclorados ⁴⁵, bisfenol-A ⁴⁶, entre outras. Entretanto, nenhum destes compostos foi conclusivamente associado a um aumento do risco de câncer de mama ⁴⁷.

As limitações do nosso estudo referem-se principalmente ao reduzido período de tempo disponibilizado para análise da incidência pelos RCBPs e a qualidade dos dados. Para minimizar

esta última, os RCBPs utilizados neste estudo foram selecionados com base em indicadores de qualidade estabelecidos pela IARC.

As limitações dos dados de mortalidade estão relacionadas com a cobertura e a confiabilidade do preenchimento dos atestados de óbito, principalmente nas regiões mais pobres do Brasil. No entanto, algumas investigações desenvolvidas no país têm avaliado a confiabilidade e a validade dos atestados de óbito de pacientes com câncer, por meio da comparação entre as causas de morte relatadas e as verdadeiras, as quais indicam a presença de elevada confiabilidade para a mortalidade por câncer^{48,49}.

Os resultados deste trabalho retratam um padrão epidemiológico do câncer de mama em mulheres jovens no Brasil com características regionais de distribuição. Estas revelam um padrão de magnitude das taxas de incidência e mortalidade brasileiras similar àquelas descritas como elevadas ou intermediárias em outros países. Adicionalmente, apontam para um cenário resultante de um processo de mudança na distribuição epidemiológica do câncer de mama em mulheres menores de 50 anos de idade no Brasil, com um aparente aumento das taxas de incidência de câncer de mama neste grupo etário na maior parte das capitais analisadas. Finalmente, a plausibilidade de que essas transformações sejam verdadeiras pode ser compatível com processos similares descritos em outros países^{10,11,12,13,14,15}.

O possível aumento da incidência do câncer de mama em mulheres na pré-menopausa, no Brasil, aponta a necessidade de um maior monitoramento da doença nestas mulheres com alerta aos profissionais de saúde para o diagnóstico precoce, controle da exposição a fatores de risco conhecidos, adoção do Princípio da Precaução, entre outros. Adicionalmente, o acompanhamento das taxas de incidência de câncer de mama em mulheres menores de 50 em séries maiores e em outras cidades pode vir a confirmar ou não as mudanças epidemiológicas que aparentemente estejam ocorrendo na distribuição desta neoplasia em mulheres jovens, no Brasil.

Referências bibliográficas

1.

Boyle P, Levin B. (Eds): World Cancer Report 2008. IARCPress. Lyon 2008.

2.

Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C and Parkin DM. GLOBOCAN 2008 v1.2, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 10 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer 2010. Available from: <http://globocan.iarc.fr>, accessed on 01/Nov/2011.

3.

Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Coordenação Geral de Ações Estratégicas. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Estimativa 2012: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva, Coordenação Geral de Ações Estratégicas, Coordenação de Prevenção e Vigilância. – Rio de Janeiro: Inca 2011. 118p.

4.

van der Groep P, van der Wall E, van Diest PJ. Pathology of hereditary breast cancer. Cell Oncol (Dordr) 2011;34(2):71-88.

5.

Fackenthal JD, Olopade OI. Breast cancer risk associated with BRCA1 and BRCA2 in diverse populations. Nat Rev Cancer 2007;7(12):937-48.

6.

Ferla R, Calò V, Cascio S, Rinaldi G, Badalamenti G, Carreca I, Surmacz E, Colucci G, Bazan V, Russo A. Founder mutations in BRCA1 and BRCA2 genes. Ann Oncol 2007;18Suppl 6:vi93-8.

7.

Petitjean A, Achatz MI, Borresen-Dale AL, Hainaut P, Olivier M. TP53 mutations in human cancers: functional selection and impact on cancer prognosis and outcomes. *Oncogene* 2007;26(15):2157-65.

8.

Rosman DS, Kaklamani V, Pasche B. New insights into breast cancer genetics and impact on patient management. *Curr Treat Options Oncol* 2007;8(1):61-73.

9.

Walsh T, Casadei S, Coats KH, Swisher E, Stray SM, Higgins J, Roach KC, Mandell J, Lee MK, Ciernikova S, Foretova L, Soucek P, King MC. Spectrum of mutations in BRCA1, BRCA2, CHEK2, and TP53 in families at high risk of breast cancer. *JAMA* 2006;295(12):1379-88.

10.

Wu QJ, Vogtmann E, Zhang W, Xie L, Yang WS, Tan YT, Gao J, Xiang YB. Cancer incidence among adolescents and young adults in urban Shanghai, 1973-2005. *PLoS One* 2012;7(8):e42607.

11.

Johnson RH, Chien FL, Bleyer A. Incidence of breast cancer with distant involvement among women in the United States, 1976 to 2009. *JAMA*. 2013;309(8):800-5.

12.

Fontenoy AM, Leux C, Delacour-Billon S, Allioux C, Frenel JS, Campone M, Molinié F. Recent trends in breast cancer incidence rates in the Loire-Atlantique, France: a decline since 2003. *Cancer Epidemiol*. 2010;34(3):238-43.

13.

Pollán M, Pastor-Barriuso R, Ardanaz E, Argüelles M, Martos C, Galcerán J, Sánchez-Pérez MJ, Chirlaque MD, Larrañaga N, Martínez-Cobo R, Tobalina MC, Vidal E, Marcos-Gragera R, Mateos A, Garau I, Rojas-Martín MD, Jiménez R, Torrella-Ramos A, Perucha J, Pérez-de-Rada

ME, González S, Rabanaque MJ, Borràs J, Navarro C, Hernández E, Izquierdo A, López-Abente G, Martínez C. Recent changes in breast cancer incidence in Spain, 1980-2004. *J Natl Cancer Inst.* 2009;101(22):1584-91.

14.

Cardona D, Agudelo HB. Tendencias de mortalidad en población adulta, Medellín, 1994-2003. *Biomedica* 2007;27(3):352-63.

15.

Taghavi A, Fazeli Z, Vahedi M, Baghestani AR, Pourhoseingholi A, Barzegar F, Pourhoseingholi MA. Increased trend of breast cancer mortality in Iran. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2012;13(1):367-70.

16.

Gonçalves ME, Barbosa AB. Mortalidade e morbidade por câncer de mama feminino na região Sudeste do Brasil (segundo UF's): uma análise para 1998 e 2003. Trabalho apresentado no XV Encontro Nacional de Estudos Populacionais, ABEP 2006; Caxambú - MG.

17.

Freitas-Junior R, Freitas NM, Curado MP, Martins E, Moreira MA, e Silva CM. Variations in breast cancer incidence per decade of life (Goiânia, GO, Brazil): 16-year analysis. *Cancer Causes Control.* 2008;19(7):681-7.

18.

Ortega Jacome GP, Koifman RJ, Rego Monteiro GT, Koifman S. Environmental exposure and breast cancer among young women in Rio de Janeiro, Brazil. *J Toxicol Environ Health A* 2010;73(13-14):858-65.

19.

INCA – <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/estatisticas/site/home/rcbp/> (acessado em 01/Nov/2011).

20.

Instituto Nacional de Câncer (Brasil). Coordenação de Prevenção e Vigilância. Câncer no Brasil: Dados dos Registros de Base Populacional, volume 4 / Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Rio de Janeiro: INCA 2010.

21.

DATASUS – Departamento de Informática do SUS. <http://w3.datasus.gov.br/datasus/index.php>. (acessado em 01/Nov/2011).

22.

Balmain A, Gray J, Ponder B. The genetics and genomics of cancer. *Nat Genet* 2003;33Suppl:238-44.

23.

Yager JD. Endogenous estrogens as carcinogens through metabolic activation. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2000;(27):67-73.

24.

Health Quality Ontario. Cancer screening with digital mammography for women at average risk for breast cancer, magnetic resonance imaging (MRI) for women at high risk: an evidence-based analysis. *Ont Health Technol Assess Ser* 2010;10(3):1-55.

25.

Stewart BW, Kleihues P. (Eds): *World Cancer Report*. IARCPress. Lyon 2003.

26.

Chen YC, Hunter DJ. Molecular epidemiology of cancer. *CA Cancer J Clin* 2005;55(1):45-54; quiz 57.

27.

Struewing JP, Hartge P, Wacholder S, Baker SM, Berlin M, McAdams M, Timmerman MM, Brody LC, Tucker MA. The risk of cancer associated with specific mutations of BRCA1 and BRCA2 among Ashkenazi Jews. *N Engl J Med* 1997;336(20):1401-8.

28.

Schubert EL, Mefford HC, Dann JL, Argonza RH, Hull J, King MC. BRCA1 and BRCA2 mutations in Ashkenazi Jewish families with breast and ovarian cancer. *Genet Test* 1997;1(1):41-6.

29.

Peto R, Boreham J, Clarke M, Davies C, Beral V. UK and USA breast cancer deaths down 25% in year 2000 at ages 20-69 years. *Lancet* 2000;355(9217):1822.

30.

Porter PL. Global trends in breast cancer incidence and mortality. *Salud Publica Mex* 2009;51Suppl 2:s141-6.

31.

Igene H. Global health inequalities and breast cancer: an impending public health problem for developing countries. *Breast J* 2008;14(5):428-34.

32.

Coleman MP, Quaresma M, Berrino F, Lutz JM, De Angelis R, Capocaccia R, Baili P, Rachet B, Gatta G, Hakulinen T, Micheli A, Sant M, Weir HK, Elwood JM, Tsukuma H, Koifman S, E Silva GA, Francisci S, Santaquilani M, Verdecchia A, Storm HH, Young JL; CONCORD Working Group. Cancer survival in five continents: a worldwide population-based study (CONCORD). *Lancet Oncol* 2008;9(8):730-56.

33.

Winchester DP, Osteen RT, Menck HR. The National Cancer Data Base report on breast carcinoma characteristics and outcome in relation to age. *Cancer* 1996;78(8):1838-43.

34.

Kwong A, Cheung P, Chan S, Lau S. Breast cancer in Chinese women younger than age 40: are they different from their older counterparts? *World J Surg.* 2008;32(12):2554-61.

35.

Marie Swanson G, Haslam SZ, Azzouz F. Breast cancer among young African-American women: a summary of data and literature and of issues discussed during the Summit Meeting on Breast Cancer Among African American Women, Washington, DC, September 8-10, 2000. *Cancer* 2003; 97Suppl 1:273-9.

36.

Reis-Filho JS, Tutt AN. Triple negative tumours: a critical review. *Histopathology* 2008;52(1):108-18.

37.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Controle do Câncer de Mama Documento de Consenso. Rio de Janeiro: INCA 2004.

38.

Chu K, Tarone R, Kessler L. Recent trends in breast cancer incidence survival, and mortality rates. *J Natl Cancer Inst* 1996;88:1571-79.

39.

Key T, Verkasalo P, Banks E. Epidemiology of breast cancer. *Lancet Oncol* 2001;2:133-40.

40.

Schindler AE. Benefits and risks of ovarian function and reproduction for cancer development and prevention. *Gynecol Endocrinol* 2011;27(12):1043-7.

41.

Beji NK, Reis N. Risk factors for breast cancer in Turkish women: a hospital-based case-control study. *Eur J Cancer Care (Engl)* 2007;16(2):178-84.

42.

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(9084):1047-59. Erratum in: *Lancet* 1997;350(9089):1484.

43.

Park SK, Kang D, McGlynn KA, Garcia-Closas M, Kim Y, Yoo KY, Brinton LA. Intrauterine environments and breast cancer risk: meta-analysis and systematic review. *Breast Cancer Res* 2008;10(1):R8.

44.

Tilghman SL, Bratton MR, Segar HC, Martin EC, Rhodes LV, Li M, McLachlan JA, Wiese TE, Nephew KP, Burow ME. Endocrine disruptor regulation of microRNA expression in breast carcinoma cells. *PLoS One* 2012;7(3):e32754.

45.

Cohn BA, Wolff MS, Cirillo PM, Sholtz RI. DDT and breast cancer in young women: new data on the significance of age at exposure. *Environ Health Perspect* 2007;115(10):1406-14.

46.

Jiménez-Díaz I, Zafra-Gómez A, Ballesteros O, Navea N, Navalón A, Fernández MF, Olea N, Vílchez JL. Determination of Bisphenol A and its chlorinated derivatives in placental tissue samples by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2010;878(32):3363-9.

47.

Smith-Bindman R. Environmental causes of breast cancer and radiation from medical imaging: findings from the Institute of Medicine report. *Arch Intern Med* 2012;172(13):1023-7.

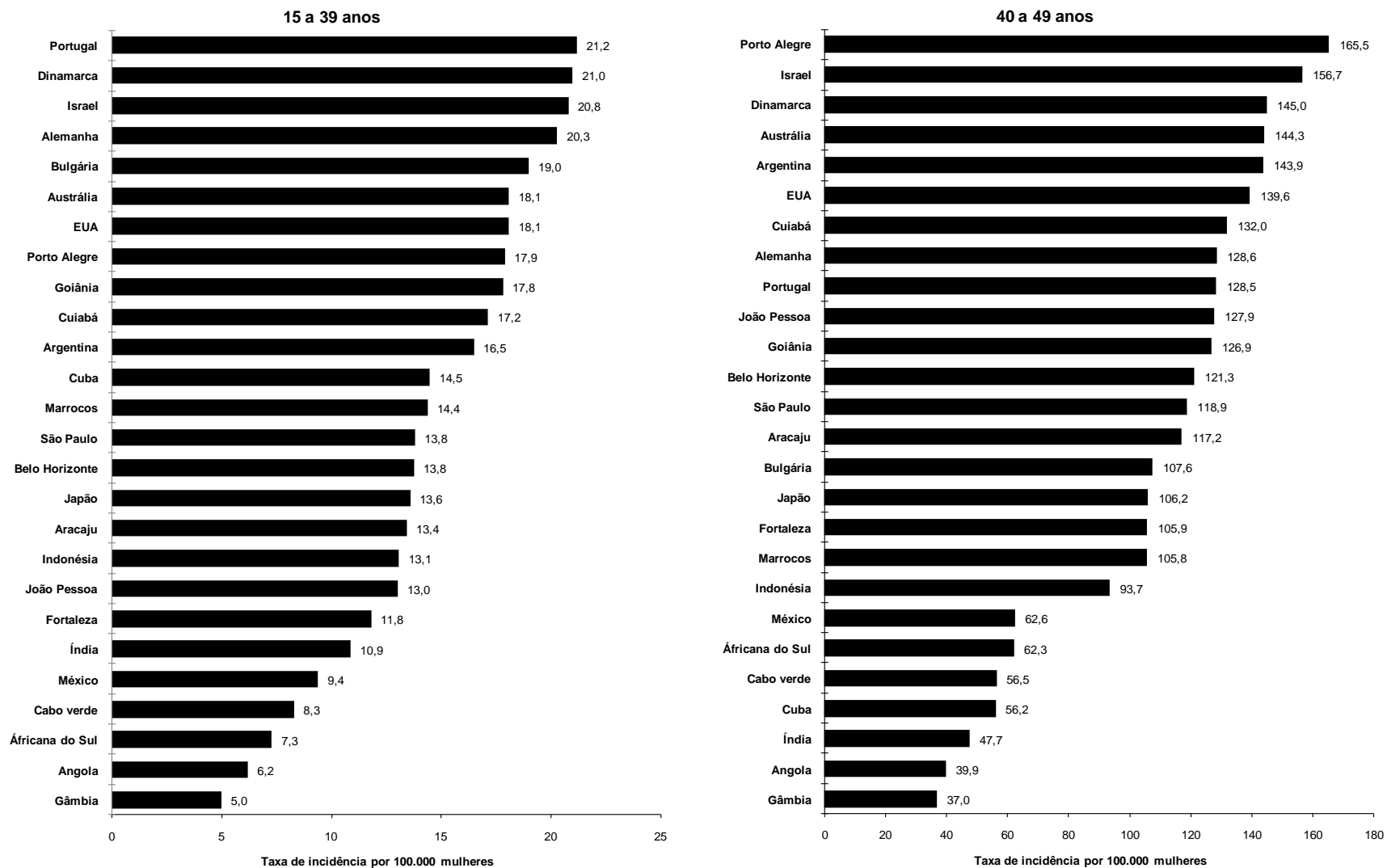
48.

Monteiro GTR, Koifman RJ, Koifman S. Confiabilidade e validade dos atestados de óbito por neoplasias. I. Confiabilidade da codificação para o conjunto das neoplasias no Estado do Rio de Janeiro. Cad Saúde Pública 1997;13Suppl 1:39-52.

49.

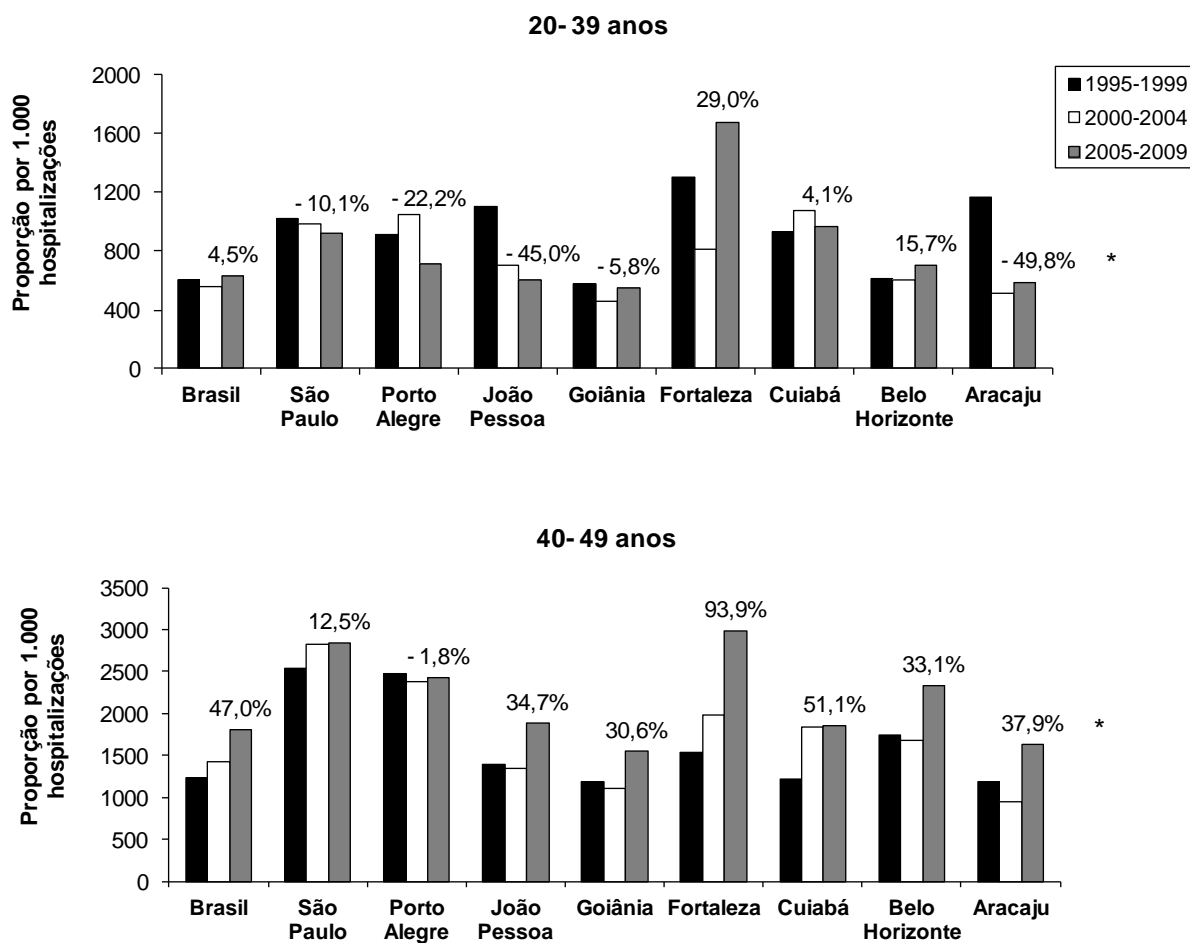
Fajardo S, Aerts DR, Bassanesi SL. Acurácia da equipe do Sistema de Informações sobre Mortalidade na seleção da causa básica do óbito em capital no Sul do Brasil. Cad Saúde Pública 2009;25(10):2218-28.

Figura 1: Incidência de câncer de mama, mulheres de 15 a 49 anos, Brasil (cidades selecionadas, 2002-2004) e outros países (2008).



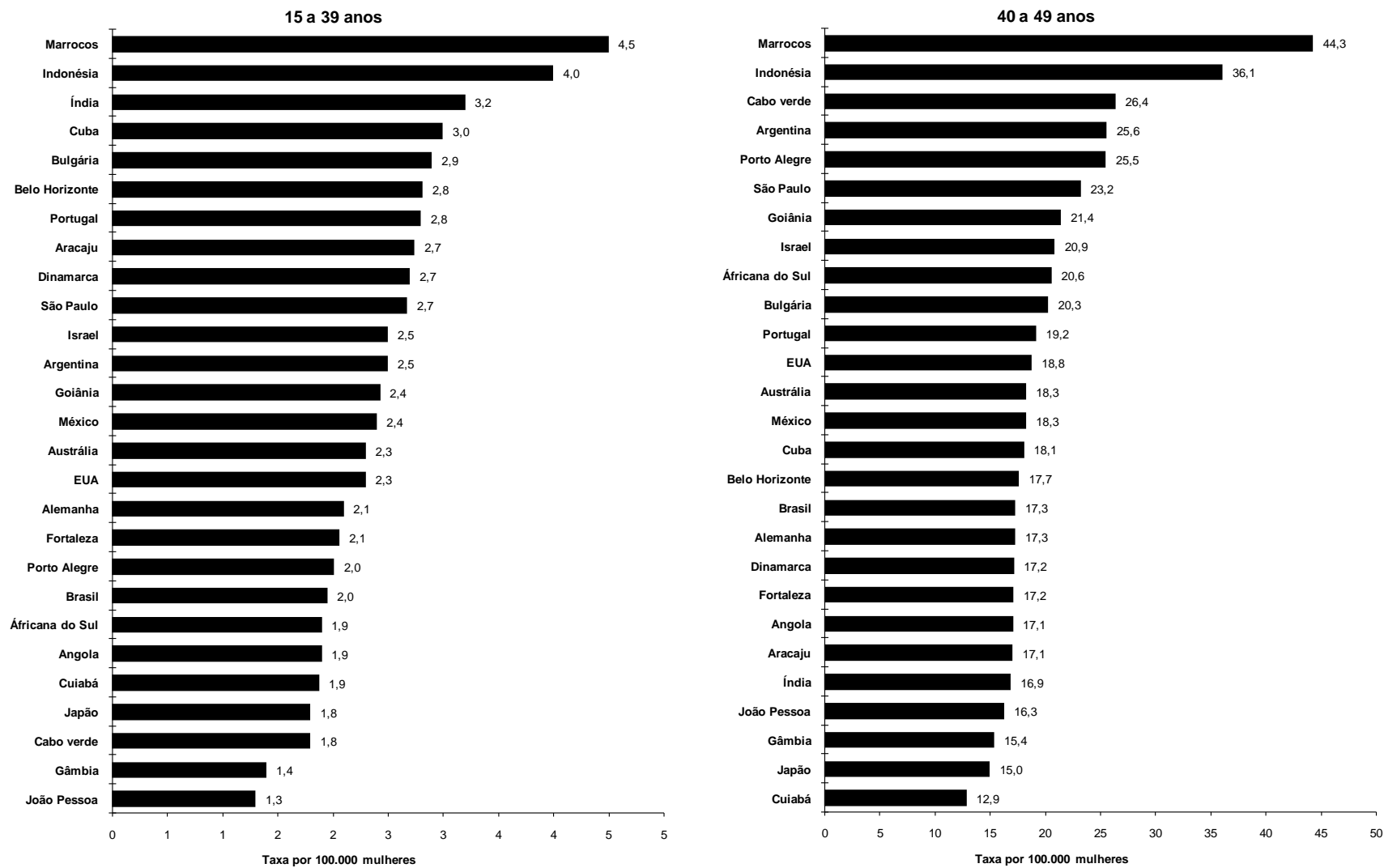
Fonte: Ministério da Saúde/INCA ; GLOBOCAN (2008).

Figura 2: Proporção de hospitalizações por câncer de mama no SUS segundo faixa etária, Brasil e cidades selecionadas, 1995-2009.



* Variação percentual no período final (2005-2009), em relação ao período inicial (1995-1999).

Figura 3: Mortalidade por câncer de mama, mulheres de 15 a 49 anos, Brasil (cidades selecionadas, 2002-2004) e outros países (2008).



Fonte: Ministério da Saúde; GLOBOCAN (2008).

Tabela 1: Percentual médio de alteração anual (AAPC) da taxa de incidência por câncer de mama, segundo faixa etária, cidades brasileiras selecionadas, 1988-2008.

População	Período	20-39 anos		40-49 anos	
		AAPC	IC 95%	AAPC	IC 95%
São Paulo	1997-2008	0,8	-2,5; 4,3	-1,1	-3,1; 1,0
Porto Alegre	1993-2005	4,6*	0,8; 8,4	2,9	-1,3; 7,3
João Pessoa	1999-2006	-3,4	-15,1; 9,8	1,7	-0,6; 4,1
Goiânia	1988-2008	4,4*	2,8; 5,9	2,4*	0,3; 4,6
Fortaleza	1990-2006	1,0	-2,1; 4,3	0,0	-2,0; 2,0
Aracaju	1996-2004	0,5	-8,8; 10,7	4,6	-4,2; 14,2

(*) AAPC significativamente diferente de zero.

Artigo submetido aos Cadernos de Saude Pública em 16 de fevereiro de 2013, ressubmetido em 21 de maio de 2013 após correções sugeridas pelos revisores e aceito para publicação em 05 de junho de 2013.

VII. ARTIGO III

***CYP17, CYP19, and NQO1* genetic polymorphisms and breast cancer susceptibility in young women in Brazil**

Sabrina S Santos¹, Guillermo Patricio Ortega Jácome¹, Rosalina Koifman¹, Sergio Koifman^{1*}

¹ National School of Public Health (ENSP), Oswaldo Cruz Foundation, Av. Leopoldo Bulhões, 1480, CEP 21041-210 - Rio de Janeiro, RJ.

ABSTRACT

Aims: Breast cancer is the most common cancer in women worldwide, being exposure to estrogens the acknowledged main risk factor. CYP17, CYP19 and NQO1 are enzymes involved in the estrogen metabolism, so their polymorphisms may be involved in breast carcinogenesis. The aim of this study was to determine the *magnitude* of the *association* between *CYP17 MspA1*, *CYP19 Arg²⁶⁴Cys*, and *NQO1 C⁶⁰⁹T* polymorphisms and breast cancer in young women. **Methods:** This is a hospital-based case-control study carried out in Rio de Janeiro. Cases were 270 women with age range 18-35 years and a histopathological diagnosis of breast cancer between 1999-2009. Controls were 270 women without cancer at the same age range. **Results:** An association between *CYP17 MspA1* or *CYP19 Arg²⁶⁴Cys* polymorphisms and breast cancer were not observed (OR = 1.02, 95% CI 0.72-1.44 for *CYP17* genotypes TC/CC and OR = 0.85, 95% CI 0.48-1.49 for *CYP19* genotypes CT/TT). However, a statistically significant increased risk estimate was identified in women who had at least one *NQO1* polymorphic allele (T), OR= 1.96, 95% CI 1.13-3.40 following adjustment for selected confounders. **Conclusion:** This study suggests that the *NQO1 C⁶⁰⁹T* polymorphism may be a risk factor for breast carcinogenesis in women less than 36 years in Brazil.

Keywords: breast cancer; NQO1; CYP17; CYP19; genetic polymorphism; young women; case-control study.

1. INTRODUCTION

Breast cancer (BC) is the most incident cancer among women worldwide ¹. Although the highest BC incidence occurs in women 50 years or older; an increase in its incidence and mortality in young women has been increasingly reported ²⁻⁴. This rise might be explained either by an improvement of cases notification, or as a result of a change in the pattern of exposure to different environmental risks factors, which possibly turned this group of young women more susceptible to develop BC at an early age ⁵. Hence, changes in women lifestyle and reproductive history occurring in the last decades could have modified the prevalence of known BC risk factors ⁶. These factors include early menarche, delayed age at first pregnancy, nulliparity or reduced parity, reduced breastfeeding length, sedentary lifestyle, obesity, and increased alcohol consumption ⁷⁻⁸. All these risk factors generate excessive estrogen exposure during a woman's life ⁹. Another pathway of exposure to estrogens is the adoption of hormonal contraception, despite the fact that the association between hormonal contraceptives use and BC remains unclear ¹⁰⁻¹².

Cytochrome P450c17 α (CYP17) and aromatase (CYP19) are important enzymes in the biosynthesis of estrogen ¹³. While CYP17 controls two successive early steps of endogenous estrogen biosynthesis by converting pregnenolone and progesterone to precursors of androgen and estrogen ¹⁴, aromatase catalyzes the conversion of androgens to estrogens ¹⁵.

CYP17 gene contains a single base pair polymorphism in the promoter region, which increases transcriptional activity (*MspA1* polymorphism) ¹⁶, and some studies have found an association between such polymorphism and BC ¹⁷⁻¹⁹. However, other studies have not found such association, especially when pre and postmenopausal women were analyzed together ²⁰⁻²⁶.

CYP19 gene contains Arg²⁶⁴Cys polymorphism ²⁷, but its association with BC remains controversial ^{25,28-30}.

Estrogens stimulate breast cell proliferation, which may leave cells more susceptible to genetic mistakes during DNA replication ³¹. However, there is other mechanism by which estrogen may affect the risk of developing BC. Estrogens are first oxidized in the breast to catechols, and then to quinones that react with DNA to form adducts, which lead to mutations associated with BC ^{9,32-33}. NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 (NQO1) is an enzyme involved in the metabolism of endogenous and exogenous quinines and in other protective mechanisms against carcinogenesis ³⁴. This enzyme reduces quinones generated during estrogen metabolism back to catechols, and thus may be protective against BC ³⁵.

NQO1 is a polymorphic enzyme, and studies showed that C⁶⁰⁹T (Pro¹⁸⁷Ser) variant was a poor reducer of estrogen quinones, which caused increased formation of estrogen-DNA adduct^{36,37}, thus increasing BC risk. Some molecular epidemiological studies were conducted to evaluate the association between *NQO1* C⁶⁰⁹T polymorphism and BC risk in diverse populations, but their results remain conflictive³⁸⁻⁴¹.

Considering the suggestive evidence on the increasing BC incidence rates among young women in different populations, and the relatively scarce data on single genetic polymorphisms involved in breast carcinogenesis at an early age, the goal of this study was to determine the *magnitude* of the *association* between *CYP17 MspA1* (rs743572), *CYP19 Arg²⁶⁴Cys* (rs700519) and *NQO1 C⁶⁰⁹T* (rs1800566) polymorphisms and BC under 36 years of age in women in Brazil.

2. METHODS

2.1 Study population and design

This is a hospital-based case-control study conducted in Rio de Janeiro, Brazil. The study population is composed of women at age range 18-35 years, living in the Metropolitan Region of Rio de Janeiro (Brazil). Cases were 270 women with a histopathological confirmed diagnosis of BC (ICD 10 50.0-50.9) at age range 18-35 years and referred to the Brazilian National Cancer Institute (INCA), the Oncology Reference Centre settled in the city of Rio de Janeiro, between 1999-2009. Controls were 270 women, at the same age range, enrolled among hospitalized patients with no-neoplastic diseases and also their visitants, in three public hospitals, Pro-Matre Hospital (Gynecological and Obstetric Center), Institute of Trauma Orthopedics (INTO), and the Lagoa Federal Hospital; all of them offering free care in Rio de Janeiro.

Between the eligible BC cases contacted by telephone and asked to come to the hospital to participate in the study, 49% were included at the final sample of 270 cases, 14.3% died subsequent to diagnosis at an advanced stage, 22.8% could not be contacted because of address or telephone number change, 6.7% did not show up in for the scheduled interview, 4.5% were not available as a consequence of ongoing

treatment and 2.7% were not willing to participate or to donate a blood sample. Between controls approximately 66% of the invited women agreed to participate in the study.

After signing an informed consent, participants were in-person interviewed by trained interviewers, using a standardized questionnaire designed for the study, which included socio-demographic, lifestyle and medical antecedents⁵. Peripheral blood samples were collected in EDTA Vacutainer tubes and used for genomic DNA extraction following a standard protocol⁴².

2.2 Genetic analysis

Genetic polymorphisms were assessed as previously described PCR-RFLP protocols⁴³⁻⁴⁵ with minor modifications. In brief, the amplification of target DNA was achieved by PCR optimized conditions as follows: a final reaction volume of 25 μ L was composed of 100-200 ng of DNA, 0.2 mM of each dNTP (Invitrogen), 3 mM of $MgCl_2$, 0.75 U of Platinum Taq DNA polymerase (Invitrogen), 1 \times PCR buffer (Invitrogen), and 10 pmol of each primer of one pair, forward and reverse (*CYP17*: forward 5'cattcgacacctgg3' and reverse 5'ggctcttggggact3'. *CYP19*: forward 5' cgctagatgtctaaa3' and reverse 5' catatgtggcaatggg 3'. *NQO1*: forward 5'cctctctgtgcttctgtatcc3' and reverse 5'gatggacttgcccaagtgatg3'). The reaction conditions used were a pre-denaturation at 94°C for 5 min followed by 35 or 40 (*NQO1*) cycles with three steps each: 94°C for 40 s, 62°C or 60°C (*NQO1*) for 40 s, and 72°C for 30 s or 45 s (*CYP19* and *NQO1*); and a cycle of 7 min at 72°C. Negative controls were included in every run, and the success of amplification was confirmed in agarose 1.5% gels, stained with Gel Red (Biotium), and visualized under ultraviolet light. Endonuclease digestions of *CYP17* were performed as follows: a final reaction volume of 20 μ L composed of 3 μ L of *CYP17* PCR products, 5U of *MspA1I* restriction enzyme (BioLabs), 1 \times reaction buffer (BioLabs) and Bovine serum albumin (BSA - 100 μ g/mL), using overnight 37°C incubation conditions. Endonuclease digestions conditions of *CYP19* were: a final reaction volume of 20 μ L composed of 5 μ L of *CYP19* PCR products, 5U of *LweI* restriction enzyme (Fermentas) and 1 \times reaction buffer (Fermentas), incubated overnight at 37°C. Endonuclease digestions of *NQO1* were performed as follows: a final reaction volume of 20 μ L composed of 3 μ L of *NQO1* PCR products, 5U of *Hinfl* restriction enzyme (Fermentas), and 1 \times reaction buffer R (Fermentas), using overnight 37°C incubation conditions. Determination of genotypes was performed in agarose 3% gels, visualized under ultraviolet light.

Goodness-of-fit of genotype distribution to Hardy-Weinberg equilibrium was ascertained for controls, using R 2.15.2 software. As genotype distribution of *CYP19* polymorphism was not in Hardy-Weinberg equilibrium; the efficiency of our genotyping technique was confirmed in a sample of 94 patients by sequencing of the PCR products by the FIOCRZ Network Technology Platforms that includes a 48-capillary 3730 DNA Sequence Analyzer (Applied Biosystems).

2.3 Statistical analysis

Continuous variables were expressed as means \pm standard deviation (SD) and differences between them were analyzed using the Student t test. Categorical variables were expressed as percentages and Pearson chi-square was used to analyze differences between them.

Unconditional logistic regression models were used to calculate unadjusted and adjusted odds ratios (OR) and their 95% confidence intervals (95% CI) to estimate the magnitude of association between BC and *CYP17*, *CYP19* and *NQO1* polymorphisms using STATA 10.0 software. A *P*-value <0.05 was used to ascertain the occurrence of statistical significance. All the confounders (age, skin color, education, pregnancy, age at menarche, hormonal contraceptives use and family history of breast and/or ovary cancer of first degree relatives) was tested in the logistic regression, and those that do not modify the association of BC and the genetic polymorphisms were eliminated of the final model.

With a sample size of 270 cases and 270 controls, considering a 95% significance level and a population prevalence of exposure to *CYP19* Arg²⁶⁴Cys polymorphism of 10%, this study has a power of 80% to detect an OR = 2.4 between such polymorphism and BC. According to *CYP17* polymorphism, a study with the sample size, a 95% confidence interval and a prevalence of 63% of *CYP17* *MspA1*, the study has a power of 95% to detect an OR = 2.0 between such polymorphism and BC. This power remains the same for the association between *NQO1* C⁶⁰⁹T polymorphism (prevalence of 42%) and BC.

2.4 Ethical Aspects

All proceedings were approved by the Ethics Research Committees of all involved institutions (INCA, Pro-Matre Hospital, INTO, Lagoa Federal Hospital and ENSP). All participants signed a declaration manifesting their agreement to participate in the investigation.

3. RESULTS

Data of estrogen and progesterone receptor status of the tumor were collected from a sample of 132 of the 270 study cases. For these, 37.1% express estrogen and progesterone receptors, 25.0% express only estrogen receptor, 6.1% express only progesterone receptor and 31.8% do not express these hormonal receptors.

The distribution of BC cases and controls according to selected variables (age, skin color, education, pregnancy (yes or no), age at menarche, hormonal contraceptives use and family history of breast and/or ovary cancer of first degree relatives) are presented at **Table1**. Age of BC cases was significantly higher than age of controls (P value <0.001). Regarding skin color, whites accounted for 30.0% of cases and 32.2% of controls, $P = 0.58$. Controls used to have a higher education than cases, and 61.8% of the former had studied more than 8 years, comparatively to 28.9% of the latter, $P < 0.001$. Pregnancy was significantly more frequent in controls than in BC cases (P value 0.021), and the mean age at menarche was 12.7 ± 2.1 years among cases and 12.7 ± 1.7 years among controls ($P = 0.78$). The mean time of hormonal contraceptives use was 5.5 ± 4.5 years among cases and 5.3 ± 5.1 years among controls ($P = 0.61$). Family histories of breast and/or ovary cancer, in first degree relatives (mother and sisters), were reported by 22.2% of cases and 12.2% of controls, $P = 0.001$.

TABLE 1 - Distribution of breast cancer cases (N = 270) and controls (N = 270) according to selected variables, Rio de Janeiro, Brazil, 1999-2012.

Variables	Controls N (%)	Cases N (%)	Odds Ratio (95% Confidence interval)	P value
Age (yr.):				
mean ± SD	29.9±4.5	31.5±3.4	--	<0.001*
range:				
18–23	32 (11.8)	7 (2.6)	1.00	
24–29	65 (24.1)	59 (21.8)	4.15 (1.70-10.11)	
30–35	173 (64.1)	204 (75.6)	5.39 (2.32-12.52)	<0.001**
Skin color:				
White	87 (32.2)	81 (30.0)	1.00	
Non-White	183 (67.8)	189 (70.0)	1.11 (0.77-1.60)	0.577**
Education (yr.):				
>8	167 (61.8)	78 (28.9)	1.00	
8	58 (21.5)	102 (37.8)	3.77 (2.48-5.73)	
<8	45 (16.7)	90 (33.3)	4.28 (2.74-6.70)	<0.001**
Pregnancy:				
No	41 (15.2)	62 (23.0)	1.00	
Yes	229 (84.8)	208 (77.0)	0.60 (0.39-0.93)	0.021**
Age at menarche (yr.):				
mean ± SD	12.7±1.7	12.7±2.1	--	0.784*
range:				
>12	62 (23.0)	66 (24.5)	1.00	
12-14	172 (63.7)	167 (61.8)	0.91 (0.61-1.37)	
<14	36 (13.3)	37 (13.7)	0.97 (0.54-1.72)	0.899**
Contraceptives use (yr.):				
mean ± SD	5.3±5.1	5.5±4.5	--	0.609*
range:				
0-1	86 (31.8)	67 (24.8)	1.00	
>1-5	68 (25.2)	81 (30.0)	1.53 (0.97-2.41)	
>5	116 (43.0)	122 (45.2)	1.35 (0.90-2.03)	0.162**
Family history of breast/ovary cancer of first degree relatives:				
No	237 (87.8)	210 (77.8)	1.00	
Yes	33 (12.2)	60 (22.2)	2.05 (1.29-3.26)	0.001**

* Student *t* test

** χ^2 test

The associations between *CYP17 MspA1*, *CYP19 Arg²⁶⁴Cys*, and *NQO1 C⁶⁰⁹T* polymorphisms and BC are presented at **Table 2**. Data analysis did not show an association between the presence of at least one *CYP17* polymorphic allele (genotypes TC and CC) and BC in young women (OR = 1.02, 95% CI = 0.72-1.44). The adjusted OR for selected confounders revealed: OR = 1.09, 95% CI = 0.74-1.61 when adjusted for age, education, pregnancy (yes or no) and *CYP19 Arg²⁶⁴Cys* polymorphism (data not showed); and OR = 1.02, 95% CI = 0.70-1.48 when adjusted for *CYP19 Arg²⁶⁴Cys* and *NQO1 C⁶⁰⁹T* polymorphisms, education (categorical), time of hormonal contraceptives use in months, and interaction between *NQO1* and time length of hormonal contraceptives use.

CYP19 Arg²⁶⁴Cys polymorphism (genotypes CT and TT) was also not either associated to BC in young women according to the crude (OR = 0.85, 95% CI = 0.48-1.49) or the adjusted OR (OR = 0.89, 95% CI = 0.48-1.64, after adjustment for age, education, pregnancy, and *CYP17 MspA1* polymorphism, data not shown), or adjusted OR = 0.85, 95% CI = 0.47-1.56 (after adjustment by *CYP17 MspA1* and *NQO1 C⁶⁰⁹T* polymorphisms, education, time length of hormonal contraceptives use in months and interaction between *NQO1* and time length of hormonal contraceptives use). Although, genotype distribution of *CYP19* polymorphism was not in Hardy-Weinberg equilibrium; the sequencing of a sample of PCR products confirmed that there were no methodology errors.

In relation to *NQO1*, the crude OR did not show an increase in risk of BC among women less than 36 years who had *NQO1 C⁶⁰⁹T* allele (OR = 1.15, 95% CI = 0.82-1.61 for CT or TT genotypes). However, the adjusted OR for selected confounders (time of hormonal contraceptives use, interaction between *NQO1* and hormonal contraceptives use time length, and education) revealed a statistically significant increase in risk of BC among women who had at least one *NQO1* polymorphic allele (T), (OR = 1.94, 95% CI = 1.12-3.36 - data not showed). Result of the final model is shown in Table 2 with the same variables and *CYP17 MspA1* and *CYP19 Arg²⁶⁴Cys* polymorphisms (OR = 1.96, 95% CI = 1.13-3.40). In this model, the association between BC and the factor of interaction between *NQO1 C⁶⁰⁹T* polymorphism and time of hormonal contraceptives use showed an OR = 0.99 ($P = 0.02$; adjusted for *NQO1 C⁶⁰⁹T*, *CYP17 MspA1* and *CYP19 Arg²⁶⁴Cys* polymorphisms, education and time of hormonal contraceptives use).

TABLE 2 - Distribution of breast cancer cases (N = 270) and controls (N = 270) according to CYP17, CYP19 and NQO1 genotypes, Rio de Janeiro, Brazil, 1999-2012.

Variables	Controls N (%)	Cases N (%)	Crude Odds Ratio (95% Confidence Interval)	Adjusted Odds Ratio (95% Confidence Interval)	P* value
<i>CYP17</i>					
TT	98 (36.30)	97 (35.93)	1.00	1.00	
TC	128 (47.41)	144 (53.33)	1.14 (0.79-1.64)	1.18 (0.79-1.75) ^a	
CC	44 (16.30)	29 (10.74)	0.67 (0.39-1.15)	0.62 (0.35-1.11) ^a	0.133
TC/CC	172 (63.70)	173 (64.07)	1.02 (0.72-1.44)	1.02 (0.70-1.48) ^a	0.929
<i>CYP19</i>					
CC	241 (89.26)	245 (90.74)	1.00	1.00	
CT	22 (8.15)	23 (8.52)	1.03 (0.56-1.90)	1.02 (0.54-1.95) ^b	
TT	7 (2.59)	2 (0.74)	0.28 (0.06-1.37)	0.30 (0.06-1.57) ^b	0.243
CT/TT	29 (10.74)	25 (9.26)	0.85 (0.48-1.49)	0.85 (0.47-1.56) ^b	0.566
<i>NQO1</i>					
CC	156 (57.78)	147 (54.44)	1.00	1.00	
CT	95 (35.19)	111 (41.11)	1.24 (0.87-1.77)	2.16 (1.21-3.85) ^c	
TT	19 (7.04)	12 (4.44)	0.67 (0.32-1.43)	1.27 (0.38-4.30) ^c	0.213
CT/TT	114 (42.22)	123 (45.56)	1.15 (0.82-1.61)	1.96 (1.13-3.40) ^c	0.435

* χ^2 test

Hardy-Weinberg: CYP17 $P = 0.91$; CYP19 $P < 0.001$; NQO1 $P = 0.47$

^a Adjusted for CYP19 Arg²⁶⁴Cys and NQO1 C⁶⁰⁹T polymorphisms, education, time of hormonal contraceptives use in months, and interaction factor of NQO1 and time of hormonal contraceptives use.

^b Adjusted for CYP17 MspA1 and NQO1 C⁶⁰⁹T polymorphisms, education, time of hormonal contraceptives use in months, and interaction factor of NQO1 and time of hormonal contraceptives use.

^c Adjusted for CYP17 MspA1 and CYP19 Arg²⁶⁴Cys polymorphisms, education, time of hormonal contraceptives use in months, and interaction factor of NQO1 and time of hormonal contraceptives use.

4. DISCUSSION

Estrogen exposure represents the major known risk factor for development of BC in women⁹. Estrogens metabolism and biosynthesis involve a series of enzymatic steps regulated by genes for which some involved genetic polymorphisms have been described, that may be associated with BC risk. Among them are included *CYP17* and *CYP19*, involved in estrogen synthesis⁴⁶, and *NQO1* involved in the metabolism of exogenous quinones or quinines generated during estrogen metabolism and in other cancer protection mechanisms³⁴.

CYP17 MspA1 polymorphism is a transition from T to C (T³⁴C), which creates an additional Sp-1 binding site (CCACC boxes) in the promoter region⁴⁷. This results in an increased expression of *CYP17* enzyme and consequently an increase in estrogen plasma concentrations⁴⁸. So *CYP17 MspA1* polymorphism can hypothetically be associated with an increased BC risk. However, in this study *CYP17 MspA1* polymorphism is not associated with BC risk in young women. Similarly; other studies did not find an association between *CYP17 MspA1* polymorphism and BC, but all of them have combined pre and postmenopausal women in the analysis²⁰⁻²⁶.

In a case-control study with women under 37 years old, Bergman-Jungeström and coworkers¹⁹ found an association between *CYP17 MspA1* polymorphism and the BC risk (OR = 2.0, 95% CI = 1.1-3.5, for TC/CC genotypes). Others studies in premenopausal women also found a statistically significant association between *CYP17 MspA1* polymorphism and BC, one in nulliparous women, homozygous for this polymorphism (OR = 2.12, 95% CI = 1.04-4.32)¹⁸, and other only in heterozygous women (OR = 1.62, 95% CI = 1.02-2.58)¹⁷. As a whole, these studies seem to suggest that *CYP17 MspA1* polymorphism may have an influence in breast carcinogenesis in young women. Nevertheless, we could not find this association in our study, which is in agreement with Samson et al who did not find a statistically significant association between this polymorphism and the risk of developing BC in premenopausal women⁴⁹.

CYP19 gene has four non-synonymous single nucleotide polymorphisms, however, in most populations, Arg²⁶⁴Cys (C to T substitution in exon 7) is the most prevalent²⁷. The presence of at least one allele of this polymorphism was associated with an increased BC risk in Korean women, OR = 1.5, 95% CI = 1.1-2.2³⁰. However, in this study *CYP19* Arg²⁶⁴Cys polymorphism could not be associated with

BC risk in young women. This result is in agreement with other studies that did not also find such association ^{17,25,28-29}.

NQO1 C⁶⁰⁹T polymorphism results in the substitution of a proline to a serine at codon 187 of *NQO1* protein (Pro¹⁸⁷Ser) ³⁷. According to in vitro tests, this variant results in an extremely low or undetectable enzyme activity in homozygous (TT) cells, and a twofold lower activity in heterozygote (CT) cells, compared to the wild type (CC) ⁵⁰. These differences can be partly due to a lower expression of polymorphic protein ⁵⁰. In our study *NQO1* C⁶⁰⁹T polymorphism was statistically associated with BC risk in young women, when OR was adjusted for time length of hormonal contraceptives use in months, the interaction between *NQO1* and hormonal contraceptives use time, and education. Others studies, performed in Caucasian, have found an association between the homozygous for the ⁶⁰⁹T allele and risk of BC. One of these studies found an OR = 3.68 (95% CI = 1.41-9.62) ³⁹, and other investigation found an OR = 3.80 (95% CI 1.73-8.34) ³⁹. However, two studies conducted in China ^{41,51} and one study in north Indian ⁵² did not find a statistically significant association between *NQO1* C⁶⁰⁹T polymorphism and the risk of BC. A nested case-control study carried out with post-menopausal North-American women also did not find an association ³⁸. Yuan and coworkers ⁵³ conducted a meta-analysis on 3177 BC cases and 4038 controls from seven published case-control studies, and showed that the ⁶⁰⁹T allele was not associated with a significantly increased BC risk for all combined groups. However, in the stratified analysis, *NQO1* C⁶⁰⁹T polymorphism was associated with increased BC risk in Caucasians women (OR = 1.15, 95% CI = 1.01-1.30, for genotypes CT/TT).

In our investigation, the crude OR did not show an increase in BC risk among women who had *NQO1* ⁶⁰⁹T allele. This risk could only be verified by the OR adjusted for time of hormonal contraceptives use, in months, interaction factor of *NQO1* and hormonal contraceptives use time and education.

The association between hormonal contraceptives use and BC is controversial ¹⁰⁻¹². In the current study, women reporting hormonal contraceptives use have shown a higher risk estimate of developing BC than nonusers or those that did it less than one year. Nevertheless, these estimates were of reduced magnitude, being of borderline statistical significance for hormonal contraceptives use > 1-5 year, or no statistically significant for their use > 5 years. As occurring with endogenous estrogens, the exogenous estrogens metabolism also generates quinines that may react with DNA and form adducts ⁹. *NQO1* metabolizes these quinines, protecting against DNA damage ³⁵. In a case-control study, Fowke and

coworkers⁴¹, despite finding not statistically significant results, suggested that the association between oral contraceptive use and BC risk in premenopausal women could depend on *NQO1* genotype. In their study, the use of oral contraceptives for more than 18 months was a BC risk factor (OR = 2.34, 95% CI = 0.92-5.99) in women with the CC genotype, and a protective factor in women with at least one polymorphic allele (genotype CT / TT; OR = 0.69, 95% CI = 0.38-1.25). The authors suggested that the metabolism of endogenous estrogens would generate more quinones than the metabolism of synthetic estrogens. Synthetic estrogens partially suppress endogenous estrogens release from the ovary and the metabolism of synthetic estrogens would produce less quinones than endogenous estrogens metabolism. So, women using hormonal contraceptives probably would produce less quinones than nonusers. This could represent a protection for breast carcinogenesis. However, this protection is most evident in women with polymorphic *NQO1*, because in women with the wild type genotype, *NQO1* metabolism would be enough to eliminate this quinones excess. For this reason, the protective effect of the interaction between *NQO1* C⁶⁰⁹T polymorphism and the use of hormonal contraceptives is needed, to analyze the effect of *NQO1* on breast carcinogenesis.

In relation to education (schooling years analyzed as a categorical variable), it probably modify the association between *NQO1* C⁶⁰⁹T polymorphism and BC in an indirect way. In our study, many of the participants had low educational level and have worked in unskilled manual jobs (maids and others), thus with a higher chance to have been occupationally exposed to several chemical substances, and/or previously migrated from rural areas, often exposed to pesticides. The degradation of some chemicals such as pesticides also generates quinones that are degraded by *NQO1*⁵⁴. However, the measurement of chemical exposure only through a personal interview is usually more imprecise, generating biases such as recall bias, than collecting data on participants' education.

Although a great effort was done in collecting patients of this age group, the limitation of our study is the sample size, so the role of chance cannot be excluded.

5. CONCLUSION

This study suggests that *CYP17 MspA1* and *CYP19 Arg²⁶⁴Cys* polymorphisms are not associated with the risk of BC in young women. However, *NQO1⁶⁰⁹T* polymorphism may be a risk factor for BC development in young women when others risk factors like hormonal contraceptive use are considered.

ACKNOWLEDGMENTS

Sabrina S. Santos is a PhD student at the Environment and Public Health Post-graduation Program, National School of Public Health, Oswaldo Cruz Foundation, and supported with a fellowship from the Brazilian Ministry of Education Post-graduation Board (CAPES). Rosalina J. Koifman and Sergio Koifman have their research activity supported by the Brazilian National Research Council- CNPq, INCT Controle do Cancer (CNPq), and the State of Rio de Janeiro Research Foundation - FAPERJ. The authors are thankful to the Brazilian National Cancer Institute (INCA), Pro-Matre Hospital, Institute of Trauma Orthopedics (INTO) and the Lagoa Federal Hospital, patients and health personnel for their kind support and collaboration which enabled this study execution.

COMPETING INTERESTS

Authors have declared that no competing interests exist.

AUTHORS' CONTRIBUTIONS

Sabrina S Santos wrote the protocol, collected data, performed laboratory and statistical analysis and wrote the first draft of the manuscript. Guillermo Patricio Ortega Jácome participated in data and biological samples collection. Rosalina Koifman and Sergio Koifman designed the study and guided all the analyses of the study. All authors read and approved the final manuscript.

CONSENT

All authors declare that 'written informed consent was obtained from all the patients. A copy of the written consent is available for review by the Editorial office/Chief Editor/Editorial Board members of this journal.'

ETHICAL APPROVAL

All authors declare that all experiments have been examined and approved by the appropriate ethics committee and have therefore been performed in accordance with the ethical standards laid down in the 1964 Declaration of Helsinki.

REFERENCES

1.
Boyle P, Levin B. (Eds): World Cancer Report 2008. IARCPress. Lyon 2008.
2.
Johnson RH, Chien FL, Bleyer A. Incidence of breast cancer with distant involvement among women in the United States, 1976 to 2009. JAMA. 2013;309(8):800-5.
3.
Wu QJ, Vogtmann E, Zhang W, Xie L, Yang WS, Tan YT, Gao J, Xiang YB. Cancer incidence among adolescents and young adults in urban Shanghai, 1973-2005. PLoS One. 2012;7(8):e42607.
4.
Cardona D, Agudelo HB. Tendencias de mortalidad en población adulta, Medellín, 1994-2003. Biomedica. 2007;27(3):352-63. Spanish.
5.
Ortega Jacome GP, Koifman RJ, Rego Monteiro GT, Koifman S. Environmental exposure and breast cancer among young women in Rio de Janeiro, Brazil. J Toxicol Environ Health A. 2010;73(13-14):858-65.
- 6.

Chu K, Tarone R, Kessler L. Recent trends in breast cancer incidence, survival, and mortality rates. *J Natl Cancer Inst.* 1996;88:1571-79.

7.

Schindler AE. Benefits and risks of ovarian function and reproduction for cancer development and prevention. *Gynecol Endocrinol.* 2011;27(12):1043-7.

8.

Key T, Verkasalo P, Banks E. Epidemiology of breast cancer. *Lancet Oncol.* 2001;2:133-40.

9.

Yager JD. Endogenous estrogens as carcinogens through metabolic activation. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2000;(27):67-73.

10.

Urban M, Banks E, Egger S, Canfell K, O'Connell D, Beral V, Sitas F. Injectable and oral contraceptive use and cancers of the breast, cervix, ovary, and endometrium in black South African women: case-control study. *PLoS Med.* 2012; 9(3):e1001182.

11.

Parkin DM. 10. Cancers attributable to exposure to hormones in the UK in 2010. *Br J Cancer.* 2011;105 Suppl 2:S42-8.

12.

Zhu H, Lei X, Feng J, Wang Y. Oral contraceptive use and risk of breast cancer: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Eur J Contracept Reprod Health Care.* 2012;17(6):402-14.

13.

Bruno RD, Njar VC. Targeting cytochrome P450 enzymes: a new approach in anti-cancer drug development. *Bioorg Med Chem.* 2007;15(15):5047-60.

14.

Kristensen VN, Borresen-Dale AL. Molecular epidemiology of breast cancer: genetic variation in steroid hormone metabolism. *Mutat Res.* 2000;462(2-3):323-33.

15.

Miyoshi Y, Noguchi S. Polymorphisms of estrogen synthesizing and metabolizing genes and breast cancer risk in Japanese women. *Biomed Pharmacother.* 2003;57(10):471-81.

16.

Sharp L, Cardy AH, Cotton SC, Little J. CYP17 gene polymorphisms: prevalence and associations with hormone levels and related factors. a HuGE review. *Am J Epidemiol.* 2004; 160(8):729-40.

17.

Sangrajrang S, Sato Y, Sakamoto H, Ohnami S, Laird NM, Khuhaprema T, Brennan P, Boffetta P, Yoshida T. Genetic polymorphisms of estrogen metabolizing enzyme and breast cancer risk in Thai women. *Int J Cancer.* 2009;125(4):837-43.

18.

Verla-Tebit E, Wang-Gohrke S, Chang-Claude J. CYP17 5'-UTR MspA1 polymorphism and the risk of premenopausal breast cancer in a German population-based case-control study. *Breast Cancer Res.* 2005;7(4): R455-64.

19.

Bergman-Jungeström M, Gentile M, Lundin AC, Wingren S. Association between CYP17 gene polymorphism and risk of breast cancer in young women. *Int J Cancer.* 1999;84(4):350-3.

20.

Chen Y, Pei J. Factors influencing the association between CYP17 T34C polymorphism and the risk of breast cancer: meta-regression and subgroup analysis. *Breast Cancer Res Treat.* 2010;122(2):471-81.

21.

Mao C, Wang XW, He BF, Qiu LX, Liao RY, Luo RC, Chen Q. Lack of association between CYP17 MspA1 polymorphism and breast cancer risk: a meta-analysis of 22,090 cases and 28,498 controls. *Breast Cancer Res Treat.* 2010;122(1):259-65.

22.

Antognelli C, Del Buono C, Ludovini V, Gori S, Talesa VN, Crinò L, Barberini F, Rulli A. CYP17, GSTP1, PON1 and GLO1 gene polymorphisms as risk factors for breast cancer: an Italian case-control study. *BMC Cancer.* 2009;9:115.

23.

Sakoda LC, Blackston C, Doherty JA, Ray RM, Lin MG, Stalsberg H, Gao DL, Feng Z, Thomas DB, Chen C. Polymorphisms in steroid hormone biosynthesis genes and risk of breast cancer and fibrocystic breast conditions in Chinese women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008;17(5):1066-73.

24.

Chang JH, Gertig DM, Chen X, Dite GS, Jenkins MA, Milne RL, Southey MC, McCredie MR, Giles GG, Chenevix-Trench G, Hopper JL, Spurdle AB. CYP17 genetic polymorphism, breast cancer, and breast cancer risk factors: Australian Breast Cancer Family Study. *Breast Cancer Res.* 2005;7(4):R513-21.

25.

Hefler LA, Tempfer CB, Grimm C, Lebrecht A, Ulbrich E, Heinze G, Leodolter S, Schneeberger C, Mueller MW, Muendlein A, Koelbl H. Estrogen-metabolizing gene polymorphisms in the assessment of breast carcinoma risk and fibroadenoma risk in Caucasian women. *Cancer.* 2004;101(2):264-9.

26.

Ye Z, Parry JM. The CYP17 MspA1 polymorphism and breast cancer risk: a meta-analysis. *Mutagenesis.* 2002;17(2):119-26.

27.

Ma CX, Adjei AA, Salavaggione OE, Coronel J, Pelleymounter L, Wang L, Eckloff BW, Schaid D, Wieben ED, Adjei AA, Weinshilboum RM. Human aromatase: gene resequencing and functional genomics. *Cancer Res.* 2005;65(23):11071-82.

28.

Ma X, Qi X, Chen C, Lin H, Xiong H, Li Y, Jiang J. Association between CYP19 polymorphisms and breast cancer risk: results from 10,592 cases and 11,720 controls. *Breast Cancer Res Treat.* 2010;122(2):495-501.

29.

Hu Z, Song CG, Lu JS, Luo JM, Shen ZZ, Huang W, Shao ZM. A multigenic study on breast cancer risk associated with genetic polymorphisms of ER Alpha, COMT and CYP19 gene in BRCA1/BRCA2 negative Shanghai women with early onset breast cancer or affected relatives. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2007;133(12):969-78.

30.

Lee KM, Abel J, Ko Y, Harth V, Park WY, Seo JS, Yoo KY, Choi JY, Shin A, Ahn SH, Noh DY, Hirvonen A, Kang D. Genetic polymorphisms of cytochrome P450 19 and 1B1, alcohol use, and breast cancer risk in Korean women. *Br J Cancer.* 2003;88(5):675-8.

31.

Feigelson HS, Henderson BE. Estrogens and breast cancer. *Carcinogenesis.* 1996;17(11):2279-84.

32.

Yager JD, Davidson NE. Estrogen carcinogenesis in breast cancer. *N Engl J Med.* 2006; 354(3):270-82.

33.

Cavalieri E, Frenkel K, Liehr JG, Rogan E, Roy D. Estrogens as endogenous genotoxic agents-DNA adducts and mutations. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2000;(27):75-93.

34.

Nioi P, Hayes JD. Contribution of NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 to protection against carcinogenesis, and regulation of its gene by the Nrf2 basic-region leucine zipper and the arylhydrocarbon receptor basic helix-loop-helix transcription factors. *Mutat Res.* 2004;555(1-2):149-71.

35.

Ross D, Kepa JK, Winski SL, Beall HD, Anwar A, Siegel D. NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 (NQO1): chemoprotection, bioactivation, gene regulation and genetic polymorphisms. *Chem Biol Interact.* 2000;129(1-2):77-97.

36.

Singh S, Zahid M, Saeed M, Gaikwad NW, Meza JL, Cavalieri EL, Rogan EG, Chakravarti D. NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 Arg139Trp and Pro187Ser polymorphisms imbalance estrogen metabolism towards DNA adduct formation I human mammary epithelial cells. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2009; 117(1-3):56-66.

37.

Traver RD, Horikoshi T, Danenberg KD, Stadlbauer TH, Danenberg PV, Ross D and Gibson NW. NAD(P)H:quinone oxidoreductase gene expression in human colon carcinoma cells: characterization of a mutation which modulates DT-diaphorase activity and mitomycin sensitivity. *Cancer Res.* 1992;52:797–802.

38.

Hong CC, Ambrosone CB, Ahn J, Choi JY, McCullough ML, Stevens VL, Rodriguez C, Thun MJ, Calle EE. Genetic variability in iron-related oxidative stress pathways (Nrf2, NQO1, NOS3, and HO-1), iron intake, and risk of postmenopausal breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2007;16(9):1784-94.

39.

Sarmanová J, Susová S, Gut I, Mrhalová M, Kodet R, Adámek J, Roth Z, Soucek P. Breast cancer: role of polymorphisms in biotransformation enzymes. *Eur J Hum Genet.* 2004;12(10):848-54.

40.

Menzel HJ, Sarmanova J, Soucek P, Berberich R, Grünewald K, Haun M, Kraft HG. Association of NQO1 polymorphism with spontaneous breast cancer in two independent populations. *Br J Cancer*. 2004;90(10):1989-94.

41.

Fowke JH, Shu XO, Dai Q, Jin F, Cai Q, Gao YT, Zheng W. Oral contraceptive use and breast cancer risk: modification by NAD(P)H:quinone oxidoreductase (NQO1) genetic polymorphisms. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2004;13(8):1308-15.

42.

Miller AS, Dykes DD, Polesky HF. A simple procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acid Res*. 1988;16(3):1215.

43.

Garner EI, Stokes EE, Berkowitz RS, Mok SC, Cramer DW. Polymorphisms of the estrogen-metabolizing genes CYP17 and catechol-O-methyltransferase and risk of epithelial ovarian cancer. *Cancer Res*. 2002;62(11):3058-62.

44.

Modugno F, Weissfeld JL, Trump DL, Zmuda JM, Shea P, Cauley JA, Ferrell RE. Allelic variants of aromatase and the androgen and estrogen receptors: toward a multigenic model of prostate cancer risk. *Clin Cancer Res*. 2001;7(10):3092-6.

45.

Eguchi-Ishimae M, Eguchi M, Ishii E, Knight D, Sadakane Y, Isoyama K, Yabe H, Mizutani S, Greaves M. The association of a distinctive allele of NAD(P)H:quinone oxidoreductase with pediatric acute lymphoblastic leukemias with MLL fusion genes in Japan. *Haematologica*. 2005;90(11):1511-5.

46.

Ahsan H, Whittemore AS, Chen Y, Senie RT, Hamilton SP, Wang Q, Gurvich I, Santella RM. Variants in estrogen-biosynthesis genes CYP17 and CYP19 and breast cancer risk: a family-based genetic association study. *Breast Cancer Res*. 2005;7(1):R71-81.

47.

Carey AH, Waterworth D, Patel K, White D, Little J, Novelli P, Franks S, Williamson R. Polycystic ovaries and premature male pattern baldness are associated with one allele of the steroid metabolism gene CYP17. *Hum Mol Genet*. 1994;3(10):1873-6.

48.

Feigelson HS, Shames LS, Pike MC, Coetzee GA, Stanczyk FZ, Henderson BE. Cytochrome P450c17alpha gene (CYP17) polymorphism is associated with serum estrogen and progesterone concentrations. *Cancer Res.* 1998;58(4):585-7.

49.

Samson M, Rama R, Swaminathan R, Sridevi V, Nancy KN, Rajkumar T. CYP17(T34C), CYP19 (Trp39Arg), and FGFR2 (C906T) polymorphisms and the risk of breast cancer in south Indian women. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2009;10(1):111-4.

50.

Misra V, Grondin A, Klamut HJ, Rauth AM. Assessment of the relationship between genotypic status of a DT-diphorase point mutation and enzymatic activity. *Br J Cancer.* 2000;83:998-1002.

51.

Fowke JH, Chung FL, Jin F, Qi D, Cai Q, Conaway C, Cheng JR, Shu XO, Gao YT, Zheng W. Urinary isothiocyanate levels, brassica, and human breast cancer. *Cancer Res.* 2003;63(14):3980-6.

52.

Singh V, Upadhyay G, Rastogi N, Singh K, Singh MP. Polymorphism of xenobiotic-metabolizing genes and breast cancer susceptibility in North Indian women. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2011; 15(5):343-9.

53.

Yuan W, Xu L, Chen W, Wang L, Fu Z, Pang D, Li D. Evidence on the association between NQO1 Pro187Ser polymorphism and breast cancer risk in the current studies: a meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat.* 2011;125(2):467-72.

54.

Zhang J, Yin L, Liang G, Liu R, Pu Y. Detection of quinone oxidoreductase 1(NQO1) single-nucleotide polymorphisms (SNP) related to benzene metabolism in immortalized B lymphocytes from a Chinese Han population. *J Toxicol Environ Health A.* 2010;73(7):490-8.

Artigo submetido ao “British Journal of Medicine and Medical Research” (BJMMR) e resubmetido em 11 de maio de 2013 após correções sugeridas pelos revisores.

VIII. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Independentemente dos limites de idade considerados, a literatura em relação à distribuição epidemiológica, às diferenças biológicas e aos fatores de risco associados ao câncer em adultos jovens em geral, incluindo o câncer de mama, ainda é extremamente restrita, não só no Brasil, mas no restante do mundo. Buscando contribuir para a minimização desta carência de dados, esse projeto teve como objetivo caracterizar a distribuição epidemiológica do câncer em adultos jovens no Brasil com ênfase no câncer de mama feminino, e determinar a magnitude de associação entre polimorfismos genéticos nos genes *CYP17*, *CYP19* e *NQO1* e a ocorrência de câncer de mama em mulheres jovens.

Nossos resultados revelam que, entre 2002 e 2004, para os jovens de 20-24 anos no Brasil, o câncer de testículo foi a localização anatômica de câncer com a maior incidência entre os homens, sendo as neoplasias da glândula tireóide, do colo de útero e a doença de Hodgkin as mais incidentes entre as mulheres, e o câncer de encéfalo a principal causa de morte por câncer, em ambos os sexos. Adicionalmente, foi verificado um pequeno aumento da taxa de mortalidade por câncer de encéfalo, no sexo masculino (1999-2008) e um aumento das taxas de mortalidade por leucemia linfóide em ambos os sexos (1980-2008 e 1999-2008).

O câncer de mama constituiu a 13^a causa de morte por câncer (0,1/100.000) em mulheres de 20-24, no Brasil no período 2002-2004. De acordo com a história natural desta doença, já é esperado que o câncer de mama em mulheres nesta faixa etária seja um evento extremamente raro e, por isso, para se estudar este câncer em mulheres jovens, faz-se necessário estender o limite de idade para este grupo. Assim sendo, para realizar uma análise exploratória sobre a distribuição da incidência e da mortalidade por câncer de mama no Brasil, optou-se por considerar como mulheres jovens todas aquelas na faixa etária da pré-menopausa. Esta análise revelou um padrão

de magnitude das taxas de incidência e mortalidade por câncer de mama em mulheres menores de 50 anos de idade, no Brasil similar às aquelas descritas como elevadas ou intermediárias em outros países. Adicionalmente, apontou para um cenário resultante de um processo de mudança na distribuição epidemiológica desta neoplasia, com um aparente aumento das taxas de incidência de câncer de mama, neste grupo etário, na maior parte das capitais analisadas.

O possível aumento da incidência do câncer de mama em mulheres na pré-menopausa, no Brasil, corrobora a necessidade de mais estudos neste grupo. Buscando analisar possíveis fatores de risco associados ao câncer de mama em mulheres jovens, foi realizado um estudo caso-controle de base hospitalar com mulheres menores de 36 anos, na cidade do Rio de Janeiro, quando se obtiveram informações epidemiológicas e amostras biológicas (sangue) das participantes. Neste projeto, procuramos determinar a magnitude de associação entre polimorfismos genéticos dos genes *CYP17*, *CYP19* e *NQO1* e a ocorrência de câncer de mama. Nossos resultados não revelaram uma associação entre o polimorfismo *MspAI* do gene *CYP17* e Arg²⁶⁴Cys do gene *CYP19* e a ocorrência de câncer de mama em mulheres jovens (OR = 1,02; IC 95% 0,72-1,44 para os genótipos TC/CC do gene *CYP17*; OR = 0,85; IC 95% 0,48-1,49 para os genótipos CT/TT do gene *CYP19*). Entretanto, um aumento estatisticamente significativo do risco estimado de câncer de mama foi identificado em mulheres que possuíam pelo menos um alelo polimórfico do gene *NQO1* (T), OR = 1,96 (IC 95% 1,13-3,40), quando ajustada por variáveis de confundimento selecionadas. Assim, nossos achados sugerem que o polimorfismo ⁶⁰⁹T da *NQO1* possa ser um fator de risco para o câncer de mama em mulheres jovens no Brasil. Entretanto, outros estudos são necessários visando corroborar com os resultados do presente trabalho.

IX. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ahsan H, Whittemore AS, Chen Y, Senie RT, Hamilton SP, Wang Q, Gurchich I, Santella RM. Variants in estrogen-biosynthesis genes CYP17 and CYP19 and breast cancer risk: a family-based genetic association study. *Breast Cancer Res.* 2005; 7(1):R71-81.

Ambrosone CB, Moysich KB, Furberg H, Freudenheim JL, Bowman ED, Ahmed S, Graham S, Vena JE, Shields PG. *CYP17* genetic polymorphism, breast cancer, and breast cancer risk factors. *Breast Cancer Res.* 2003; 5(2):R45-51.

Anders CK, Johnson R, Litton J, Phillips M, Bleyer A. Breast cancer before age 40 years. *Semin Oncol.* 2009; 36(3):237-249.

Antognelli C, Del Buono C, Ludovini V, Gori S, Talesa VN, Crinò L, Barberini F, Rulli A. *CYP17*, *GSTP1*, *PON1* and *GLO1* gene polymorphisms as risk factors for breast cancer: an Italian case-control study. *BMC Cancer.* 2009; 9:115.

Asher G, Lotem J, Kama R, Sachs L, Shaul Y. *NQO1* stabilizes p53 through a distinct pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002; 99(5):3099-104.

Ashley-Martin J, VanLeeuwen J, Cribb A, Andreou P, Guernsey JR. Breast cancer risk, fungicide exposure and *CYP1A1*2A* gene-environment interactions in a province-wide case control study in Prince Edward Island, Canada. *Int J Environ Res Public Health.* 2012; 9(5):1846-58.

Awatef M, Olfa G, Rim C, Asma K, Kacem M, Makram H, Leila BF, Amel L, Slim BA. Physical activity reduces breast cancer risk: a case-control study in Tunisia. *Cancer Epidemiol.* 2011; 35(6):540-4.

Balmain A, Gray J, Ponder B. The genetics and genomics of cancer. *Nat Genet.* 2003; 33 Suppl: 238-44.

Bauer SR, Hankinson SE, Bertone-Johnson ER, Ding EL. Plasma Vitamin D Levels, Menopause, and Risk of Breast Cancer: Dose-Response Meta-Analysis of Prospective Studies. *Medicine (Baltimore).* 2013 Apr 25. [Epub ahead of print]

Baxter SW, Choong DY, Eccles DM, Campbell IG. Polymorphic variation in *CYP19* and the risk of breast cancer. *Carcinogenesis.* 2001; 22(2):347-9.

Beall HD, Winski SI. Mechanisms of action of quinone-containing alkylating agents. I: NQO1-directed drug development. *Front Biosci.* 2000; 5:D639-48.

Begleiter A, Hewitt D, Maksymiuk AW, Ross DA, Bird RP. A NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 polymorphism is a risk factor for human colon cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2006; 15(12):2422-6.

Beji NK, Reis N. Risk factors for breast cancer in Turkish women: a hospital-based case-control study. *Eur J Cancer Care (Engl).* 2007; 16(2):178-84.

Bello RI, Kagan VE, Tyurin V, Navarro F, Alcaín FJ, Villalba JM. Regeneration of lipophilic antioxidants by NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1. *Protoplasma.* 2003; 221(1-2):129-35.

Bergman M, Ahnström M, Palmebäck Wegman P, Wingren S. Polymorphism in the manganese superoxide dismutase (MnSOD) gene and risk of breast cancer in young women. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2005; 131(7):439-44.

Bergman-Jungeström M, Gentile M, Lundin AC, Wingren S. Association between *CYP17* gene polymorphism and risk of breast cancer in young women. *Int J Cancer.* 1999; 84(4):350-3.

Boada LD, Zumbado M, Henríquez-Hernández LA, Almeida-González M, Alvarez-León EE, Serra-Majem L, Luzardo OP. Complex organochlorine pesticide mixtures as determinant factor for breast cancer risk: a population-based case-control study in the Canary Islands (Spain). *Environ Health.* 2012; 11:28.

Boyd NF, Stone J, Vogt KN, Connelly BS, Martin LJ, Minkin S. Dietary fat and breast cancer risk revisited: a meta-analysis of the published literature. *British Journal of Cancer.* 2003; 89(9): 1672-85.

Boyle P, Levin B. (Eds): *World Cancer Report 2008.* IARC Press. Lyon, 2008.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Controle do Câncer de Mama Documento de Consenso. Rio de Janeiro: INCA, 2004.

Bruno RD, Njar VC. Targeting cytochrome P450 enzymes: a new approach in anti-cancer drug development. *Bioorg Med Chem.* 2007; 15(15):5047-60.

Bulun SE, Sebastian S, Takayama K, Suzuki T, Sasano H, Shozu M. The human CYP19 (aromatase P450) gene: update on physiologic roles and genomic organization of promoters. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2003; 86(3-5):219-24.

Cai L, Huang W, Chou KC. Prostate cancer with variants in *CYP17* and *UGT2B17* genes: a meta-analysis. *Protein Pept Lett.* 2012; 19(1):62-9.

Calle EE, Kaaks R. Overweight, obesity and cancer: epidemiological evidence and proposed mechanisms. *Nat Rev Cancer.* 2004; 4, 579-591.

Cardona D, Agudelo HB. Tendencias de mortalidad en población adulta, Medellín, 1994-2003. *Biomedica.* 2007; 27(3): 352-63.

Carey AH, Waterworth D, Patel K, White D, Little J, Novelli P, Franks S, Williamson R. Polycystic ovaries and premature male pattern baldness are associated with one allele of the steroid metabolism gene *CYP17*. *Hum Mol Genet.* 1994; 3(10):1873-6.

Cavalieri E, Frenkel K, Liehr JG, Rogan E, Roy D. Estrogens as endogenous genotoxic agents-DNA adducts and mutations. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2000; (27):75-93.

Chang JH, Gertig DM, Chen X, Dite GS, Jenkins MA, Milne RL, Southey MC, McCredie MR, Giles GG, Chenevix-Trench G, Hopper JL, Spurdle AB. *CYP17* genetic polymorphism, breast cancer, and breast cancer risk factors: Australian Breast Cancer Family Study. *Breast Cancer Res.* 2005; 7(4):R513-21.

Chao C, Zhang ZF, Berthiller J, Boffetta P, Hashibe M. NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 (NQO1) Pro¹⁸⁷Ser polymorphism and the risk of lung, bladder, and colorectal cancers: a meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2006; 15(5): 979-87.

Chen P, Hu P, Xie D, Qin Y, Wang F, Wang H. Meta-analysis of vitamin D, calcium and the prevention of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2010; 121(2):469-77.

Chen Y, Pei J. Factors influencing the association between *CYP17* T³⁴C polymorphism and the risk of breast cancer: meta-regression and subgroup analysis. *Breast Cancer Res Treat.* 2010; 122(2):471-81.

Cohn BA, Wolff MS, Cirillo PM, Sholtz RI. DDT and breast cancer in young women: new data on the significance of age at exposure. *Environ Health Perspect.* 2007; 115(10):1406-14.

Chen Y, Gammon MD, Teitelbaum SL, Britton JA, Terry MB, Shantakumar S, Eng SM, Wang Q, Gurvich I, Neugut AI, Santella RM, Ahsan H. Estrogen-biosynthesis gene CYP17 and its interactions with reproductive, hormonal and lifestyle factors in breast cancer risk: results from the Long Island Breast Cancer Study Project. *Carcinogenesis.* 2008; 29(4):766-71.

Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Familial breast cancer: collaborative reanalysis of individual data from 52 epidemiological studies including 58,209 women with breast cancer and 101,986 women without the disease. *Lancet* 2001; 358(9291): 1389-99.

Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Breast cancer and breastfeeding: collaborative reanalysis of individual data from 47 epidemiological studies in 30 countries, including 50302 women with breast cancer and 96973 women without the disease. *Lancet.* 2002; 360(9328):187-95.

(a)

Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Alcohol, tobacco and breast cancer-collaborative reanalysis of individual data from 53 epidemiological studies, including 58,515 women with breast cancer and 95,067 women without the disease. *Br J Cancer.* 2002; 87(11):1234-45. (b)

Crain DA, Janssen SJ, Edwards TM, Heindel J, Ho SM, Hunt P, Iguchi T, Juul A, McLachlan JA, Schwartz J, Skakkebaek N, Soto AM, Swan S, Walker C, Woodruff TK, Woodruff TJ, Giudice LC, Guillette LJ Jr. Female reproductive disorders: the roles of endocrine-disrupting compounds and developmental timing. *Fertil Steril.* 2008; 90(4):911-40.

Croucher C, Whelan JS, Møller H, Davies EA. Trends in the incidence and survival of cancer in teenagers and young adults: regional analysis for South East England 1960-2002. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 2009; 21:417-24.

Cui Y, Miller AB, Rohan TE. Cigarette smoking and breast cancer risk: update of a prospective cohort study. *Breast Cancer Res Treat.* 2006; 100(3):293-9.

De Coster S, van Larebeke N. Endocrine-disrupting chemicals: associated disorders and mechanisms of action. *J Environ Public Health.* 2012; 2012:713696.

Dunning AM, Healey CS, Pharoah PD, Teare MD, Ponder BA, Easton DF. A systematic review of genetic polymorphisms and breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1999; 8(10):843-54.

Dunning AM, Dowsett M, Healey CS, Tee L, Luben RN, Folkard E, Novik KL, Kelemen L, Ogata S, Pharoah PD, Easton DF, Day NE, Ponder BA. Polymorphisms associated with circulating sex hormone levels in postmenopausal women. *J Natl Cancer Inst.* 2004; 96(12):936-45.

Eguchi-Ishimae M, Eguchi M, Ishii E, Knight D, Sadakane Y, Isoyama K, Yabe H, Mizutani S, Greaves M. The association of a distinctive allele of NAD(P)H:quinone oxidoreductase with pediatric acute lymphoblastic leukemias with MLL fusion genes in Japan. *Haematologica.* 2005; 90(11):1511-5.

Evans P, Halliwell B. Free radicals and hearing. Cause, consequence, and criteria. *Ann N Y Acad Sci.* 1999; 884:19-40.

Fackenthal JD, Olopade OI. Breast cancer risk associated with BRCA1 and BRCA2 in diverse populations. *Nat Rev Cancer.* 2007; 7(12): 937-48.

Faig M, Bianchet MA, Talalay P, Chen S, Winski S, Ross D, Amzel LM. Structures of recombinant human and mouse NAD(P)H:quinone oxidoreductases: species comparison and structural changes with substrate binding and release. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000; 97(7):3177-82.

Feigelson HS, Henderson BE. Estrogens and breast cancer. *Carcinogenesis.* 1996; 17(11):2279-84.

Feigelson HS, Shames LS, Pike MC, Coetzee GA, Stanczyk FZ, Henderson BE. Cytochrome P450c17alpha gene (CYP17) polymorphism is associated with serum estrogen and progesterone concentrations. *Cancer Res.* 1998; 58(4):585-7.

Ferla R, Calò V, Cascio S, Rinaldi G, Badalamenti G, Carreca I, Surmacz E, Colucci G, Bazan V, Russo A. Founder mutations in *BRCA1* and *BRCA2* genes. *Ann Oncol.* 2007; 18 Suppl 6:vi93-8.

Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C and Parkin DM. GLOBOCAN 2008 v1.2, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 10 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer 2010. Available from: <http://globocan.iarc.fr>, accessed on Mar/2013.

Fontenoy AM, Leux C, Delacour-Billon S, Allieux C, Frenel JS, Campone M, Molinié F. Recent trends in breast cancer incidence rates in the Loire-Atlantique, France: a decline since 2003. *Cancer Epidemiol.* 2010; 34(3):238-43.

Forssén UM, Rutqvist LE, Ahlbom A, Feychting M. Occupational magnetic fields and female breast cancer: a case-control study using Swedish population registers and new exposure data. *Am J Epidemiol.* 2005; 161:250–259.

Fowke JH, Chung FL, Jin F, Qi D, Cai Q, Conaway C, Cheng JR, Shu XO, Gao YT, Zheng W. Urinary isothiocyanate levels, brassica, and human breast cancer. *Cancer Res.* 2003; 63(14):3980-6.

Fowke JH, Shu XO, Dai Q, Jin F, Cai Q, Gao YT, Zheng W. Oral contraceptive use and breast cancer risk: modification by NAD(P)H:quinine oxoreductase (NQO1) genetic polymorphisms. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2004; 13(8):1308-15.

Fredholm H, Eaker S, Frisell J, Holmberg L, Fredriksson I, Lindman H. Breast cancer in young women: poor survival despite intensive treatment. *PLoS One.* 2009; 4(11):e7695.

Freitas-Junior R, Freitas NM, Curado MP, Martins E, Moreira MA, e Silva CM. Variations in breast cancer incidence per decade of life (Goiânia, GO, Brazil): 16-year analysis. *Cancer Causes Control.* 2008; 19(7):681-7.

Gajdos C, Tartter PI, Bleiweiss IJ, Bodian C, Brower ST. Stage 0 to stage III breast cancer in young women. *J Am Coll Surg.* 2000; 190(5):523-9.

Gammon M, John E, Britton J. Recreational and occupational physical activities and risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst.* 1998; 90: 100-117.

Gammon MD, Wolff MS, Neugut AI, Eng SM, Teitelbaum SL, Britton JA, Terry MB, Levin B, Stellman SD, Kabat GC, Hatch M, Senie R, Berkowitz G, Bradlow HL, Garbowski G, Maffeo C, Montalvan P, Kemeny M, Citron M, Schnabel F, Schuss A, Hajdu S, Vinceguerra V, Niguidula N, Ireland K, Santella RM. Environmental toxins and breast cancer Long Island. II. Organochlorine compound levels in blood. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2002; 11(8):686-97.

Gao YT, Shu XO, Dai Q, Potter JD, Brinton LA, Wen W, Sellers TA, Kushi LH, Ruan Z, Bostick RM, Jin F, Zheng W. Association of menstrual and reproductive factors with breast cancer risk: results from the Shanghai Breast Cancer Study. *Int J Cancer*. 2000; 87(2):295-300.

Garner EI, Stokes EE, Berkowitz RS, Mok SC, Cramer DW. Polymorphisms of the estrogen-metabolizing genes *CYP17* and catechol-O-methyltransferase and risk of epithelial ovarian cancer. *Cancer Res*. 2002; 62(11):3058-62.

Gaudet MM, Lacey JV Jr, Lissowska J, Peplonska B, Brinton LA, Chanock S, Garcia-Closas M. Genetic variation in *CYP17* and endometrial cancer risk. *Hum Genet*. 2008; 123(2):155-62.

Gissel T, Rejnmark L, Mosekilde L, Vestergaard P. Intake of vitamin D and risk of breast cancer--a meta-analysis. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2008; 111(3-5):195-9.

Gonçalves ME, Barbosa AB. Mortalidade e morbidade por câncer de mama feminino na região Sudeste do Brasil (segundo UF's): uma análise para 1998 e 2003. Trabalho apresentado no XV Encontro Nacional de Estudos Populacionais, ABEP; 2006; Caxambú - MG.

Gong X, Kole L, Iskander K, Jaiswal AK. NRH:quinone oxidoreductase 2 and NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 protect tumor suppressor p53 against 20s proteasomal degradation leading to stabilization and activation of p53. *Cancer Res*. 2007; 67(11):5380-8.

Goodman MT, McDuffie K, Guo C, Terada K, Donlon TA. *CYP17* genotype and ovarian cancer: a null case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2001; 10(5):563-4.

Gram IT, Braaten T, Terry PD, Sasco AJ, Adami HO, Luna E, Weiderpass E. Breast cancer risk among women who start smoking as teenagers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2005; 14(1):61-6.

Guo ZJ, Feng CL. The *NQO1* rs1800566 Polymorphism and Risk of Bladder Cancer: Evidence from 6,169 Subjects. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2012; 13(12):6343-8.

Haiman CA, Hankinson SE, Spiegelman D, De Vivo I, Colditz GA, Willett WC, Speizer FE, Hunter DJ. A tetranucleotide repeat polymorphism in *CYP19* and breast cancer risk. *Int J Cancer*. 2000; 87(2):204-10.

Haiman CA, Hankinson SE, Colditz GA, Hunter DJ, De Vivo I. A polymorphism in *CYP17* and endometrial cancer risk. *Cancer Res.* 2001; 61(10):3955-60.

Haiman CA, Hankinson SE, Spiegelman D, Brown M, Hunter DJ. No association between a single nucleotide polymorphism in *CYP19* and breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2002; 11(2):215-6.

Hartmann LC, Sellers TA, Frost MH, Lingle WL, Degnim AC, Ghosh K, Vierkant RA, Maloney SD, Pankratz VS, Hillman DW, Suman VJ, Johnson J, Blake C, Tlsty T, Vachon CM, Melton LJ 3rd, Visscher DW. Benign breast disease and the risk of breast cancer. *N Engl J Med.* 2005; 353(3):229-37.

He XF, Su J, Zhang Y, Huang X, Liu Y, Ding DP, Wang W, Arparkorn K. Association between the p53 polymorphisms and breast cancer risk: meta-analysis based on case-control study. *Breast Cancer Res Treat.* 2011; 130(2):517-29.

Hefler LA, Tempfer CB, Grimm C, Lebrecht A, Ulbrich E, Heinze G, Leodolter S, Schneeberger C, Mueller MW, Muendlein A, Koelbl H. Estrogen-metabolizing gene polymorphisms in the assessment of breast carcinoma risk and fibroadenoma risk in Caucasian women. *Cancer.* 2004; 101(2):264-9.

Hoffman-Goetz L, Apter D, Demark-Wahnefried W, Goran MI, McTiernan A, Reichman ME. Possible mechanisms mediating an association between physical activity and breast cancer. *Cancer.* 1998; 83(3 Suppl):621-8.

Hong CC, Ambrosone CB, Ahn J, Choi JY, McCullough ML, Stevens VL, Rodriguez C, Thun MJ, Calle EE. Genetic variability in iron-related oxidative stress pathways (Nrf2, NQO1, NOS3, and HO-1), iron intake, and risk of postmenopausal breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2007; 16(9):1784-94.

Hou L, Xu J, Gao YT, Rashid A, Zheng SL, Sakoda LC, Shen MC, Wang BS, Deng J, Han TQ, Zhang BH, Meyers DA, Fraumeni JF Jr, Hsing AW. *CYP17 MspAI* polymorphism and risk of biliary tract cancers and gallstones: a population-based study in Shanghai, China. *Int J Cancer.* 2006; 118(11):2847-53.

Hu Z, Song CG, Lu JS, Luo JM, Shen ZZ, Huang W, Shao ZM. A multigenic study on breast cancer risk associated with genetic polymorphisms of *ER Alpha*, *COMT* and *CYP19* gene in *BRCA1/BRCA2* negative

Shanghai women with early onset breast cancer or affected relatives. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2007; 133(12):969-78.

INCA - Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Coordenação Geral de Ações Estratégicas. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Estimativa 2012: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva, Coordenação Geral de Ações Estratégicas, Coordenação de Prevenção e Vigilância. – Rio de Janeiro: Inca 2011. 118p.

Islam T, Ito H, Sueta A, Hosono S, Hirose K, Watanabe M, Iwata H, Tajima K, Tanaka H, Matsuo K. Alcohol and dietary folate intake and the risk of breast cancer: a case-control study in Japan. *Eur J Cancer Prev*. 2012 Nov 20. [Epub ahead of print]

Jenkins S, Betancourt AM, Wang J, Lamartiniere CA. Endocrine-active chemicals in mammary cancer causation and prevention. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2012; 129(3-5):191-200.

Johansen C. Electromagnetic fields and health effects-epidemiologic studies of cancer, diseases of the central nervous system and arrhythmia-related heart disease. *Scand J Work Environ Health*. 2004; 30 Suppl 1:1-30.

Johnson RH, Chien FL, Bleyer A. Incidence of breast cancer with distant involvement among women in the United States, 1976 to 2009. *JAMA*. 2013; 309(8):800-5.

Kaaks R, Lukanova A. Energy balance and cancer: the role of insulin and insulin-like growth factor-I. *Proc Nutr Soc*. 2001; 60:91–106.

Kang D. Genetic polymorphisms and cancer susceptibility of breast cancer in Korean women. *J Biochem Mol Biol*. 2003; 36: 28-34.

Kittles RA, Panguluri RK, Chen W, Massac A, Ahaghotu C, Jackson A, Ukoli F, Adams-Campbell L, Isaacs W, Dunston GM. *CYP17* promoter variant associated with prostate cancer aggressiveness in African Americans. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2001; 10(9):943-7.

Kliukiene J, Tynes T, Andersen A. Residential and Occupational Exposures to 50-Hz Magnetic Fields and Breast Cancer in Women: A Population-based Study. *Am J Epidemiol* 2004; 159: 852–61.

Krajcinovic M, Sinnett H, Richer C, Labuda D, Sinnett D. Role of *NQO1*, *MPO* and *CYP2E1* genetic polymorphisms in the susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia. *Int J Cancer*. 2002; 97(2):230-6.

Kristensen VN, Borresen-Dale AL. Molecular epidemiology of breast cancer: genetic variation in steroid hormone metabolism. *Mutat Res*. 2000; 462(2-3):323-33.

Kristensen VN, Harada N, Yoshimura N, Haraldsen E, Lonning PE, Erikstein B, Karesen R, Kristensen T, Borresen-Dale AL. Genetic variants of *CYP19* (aromatase) and breast cancer risk. *Oncogene*. 2000; 19(10):1329-33.

Laden F, Collman G, Iwamoto K, Alberg AJ, Berkowitz GS, Freudenheim JL, Hankinson SE, Helzlsouer KJ, Holford TR, Huang HY, Moysich KB, Tessari JD, Wolff MS, Zheng T, Hunter DJ. 1,1-Dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethylene and polychlorinated biphenyls and breast cancer: combined analysis of five U.S. studies. *J Natl Cancer Inst*. 2001; 93(10): 768-76.

Lajin B, Hamzeh AR, Ghabreau L, Mohamed A, Al Moustafa AE, Alachkar A. Catechol-O-methyltransferase Val^{108/158}Met polymorphism and breast cancer risk: a case control study in Syria. *Breast Cancer*. 2013; 20(1):62-6.

Landi L, Fiorentini D, Galli MC, Segura-Aguilar J, Beyer RE. DT-Diaphorase maintains the reduced state of ubiquinones in lipid vesicles thereby promoting their antioxidant function. *Free Radic Biol Med*. 1997; 22(1-2):329-35.

Lee H, Wang Q, Yang F, Tao P, Li H, Huang Y, Li JY. *SULT1A1* Arg²¹³His polymorphism, smoked meat, and breast cancer risk: a case-control study and meta-analysis. *DNA Cell Biol*. 2012; 31(5):688-99.

Lee SH, Akuete K, Fulton J, Chelmow D, Chung MA, Cady B. An increased risk of breast cancer after delayed first parity. *Am J Surg*. 2003; 186(4):409-12. (a)

Lee KM, Abel J, Ko Y, Harth V, Park WY, Seo JS, Yoo KY, Choi JY, Shin A, Ahn SH, Noh DY, Hirvonen A, Kang D. Genetic polymorphisms of cytochrome P450 19 and 1B1, alcohol use, and breast cancer risk in Korean women. *Br J Cancer*. 2003; 88(5):675-8. (b)

Lie JA, Roessink J, Kjaerheim K. Breast cancer and night work among Norwegian nurses. *Cancer Causes Control*. 2006; 17(1):39-44.

Lin Y, Kikuchi S, Tamakoshi K, Wakai K, Kondo T, Niwa Y, Yatsuya H, Nishio K, Suzuki S, Tokudome S, Yamamoto A, Toyoshima H, Mori M, Tamakoshi A; Japan Collaborative Cohort Study Group for Evaluation of Cancer Risk. Active smoking, passive smoking, and breast cancer risk: findings from the Japan Collaborative Cohort Study for Evaluation of Cancer Risk. *J Epidemiol*. 2008; 18(2):77-83.

Liu F, Luo L, Wei Y, Wang W, Li B, Yan L, Wen T. A functional *NQO1* 609C>T polymorphism and risk of hepatocellular carcinoma in a Chinese population. *Tumour Biol*. 2013; 34(1):47-53.

Lodha RS, Nandeshwar S, Pal DK, Shrivastav A, Lodha KM, Bhagat VK, Bankwar VV, Nandeshwar S, Saxena DM. Risk factors for breast cancer among women in Bhopal urban agglomerate: a case-control study. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2011; 12(8):2111-5.

Lopez-Carrillo L, Lopez-Cervantes M, Torres-Sanchez L, Blair A, Cebrian ME, Garcia RM. Serum levels of beta-hexachlorocyclohexane, hexachlorobenzene and polychlorinated biphenyls and breast cancer in Mexican women. *Eur J Cancer Prev*. 2002; 11(2): 129-35.

López-Carrillo L, Hernández-Ramírez RU, Calafat AM, Torres-Sánchez L, Galván-Portillo M, Needham LL, Ruiz-Ramos R, Cebrián ME. Exposure to phthalates and breast cancer risk in northern Mexico. *Environ Health Perspect*. 2010; 118(4):539-44.

Low YL, Wedrén S, Liu J. High-throughput genomic technology in research and clinical management of breast cancer. Evolving landscape of genetic epidemiological studies. *Breast Cancer Res*. 2006; 8(3): 209.

Ma CX, Adjei AA, Salavaggione OE, Coronel J, Pelleymounter L, Wang L, Eckloff BW, Schaid D, Wieben ED, Adjei AA, Weinshilboum RM. Human aromatase: gene resequencing and functional genomics. *Cancer Res*. 2005; 65(23):11071-82.

Ma X, Qi X, Chen C, Lin H, Xiong H, Li Y, Jiang J. Association between *CYP19* polymorphisms and breast cancer risk: results from 10,592 cases and 11,720 controls. *Breast Cancer Res Treat*. 2010; 122(2):495-501.

Mao C, Wang XW, He BF, Qiu LX, Liao RY, Luo RC, Chen Q. Lack of association between CYP17 *MspAI* polymorphism and breast cancer risk: a meta-analysis of 22,090 cases and 28,498 controls. *Breast Cancer Res Treat.* 2010; 122(1):259-65.

Marie Swanson G, Haslam SZ, Azzouz F. Breast cancer among young African-American women: a summary of data and literature and of issues discussed during the Summit Meeting on Breast Cancer Among African American Women, Washington, DC, September 8-10, 2000. *Cancer.* 2003; 97(1 Suppl):273-9.

Maruti SS, Willett WC, Feskanich D, Rosner B, Colditz GA. A prospective study of age-specific physical activity and premenopausal breast cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2008; 100(10):728-37.

McTiernan A, Ulrich C, Slate S, Potter J. Physical activity and cancer etiology: associations and mechanisms. *Cancer Causes Control.* 1998; 9: 487-509.

Mendonça GA, Eluf-Neto J, Andrada-Serpa MJ, Carmo PA, Barreto HH, Inomata ON, Kussumi TA. Organochlorines and breast cancer: a case-control study in Brazil. *Int J Cancer.* 1999; 83(5): 596-600.

Menegaux F, Truong T, Anger A, Cordina-Duverger E, Lamkarkach F, Arveux P, Kerbrat P, Févotte J, Guénel P. Night work and breast cancer: a population-based case-control study in France (the CECILE study). *Int J Cancer.* 2013; 132(4):924-31.

Menzel HJ, Sarmanova J, Soucek P, Berberich R, Grünewald K, Haun M, Kraft HG. Association of NQO1 polymorphism with spontaneous breast cancer in two independent populations. *Br J Cancer.* 2004; 90(10):1989-94.

Michels KB, Terry KL, Willett WC. Longitudinal study on the role of body size in premenopausal breast cancer. *Arch Intern Med.* 2006; 166(21):2395-402.

Misra V, Grondin A, Klamut HJ, Rauth AM. Assessment of the relationship between genotypic status of a DT-diaphorase point mutation and enzymatic activity. *Br J Cancer* 2000; 83:998-1002.

Mitrou PN, Watson MA, Loktionov AS, Cardwell C, Gunter MJ, Atkin WS, Macklin CP, Cecil T, Bishop DT, Primrose J, Bingham SA. Role of *NQO1* C⁶⁰⁹T and *EPHX1* gene polymorphisms in the association of

smoking and alcohol with sporadic distal colorectal adenomas: results from the UKFSS Study. *Carcinogenesis*. 2007; 28(4):875-82.

Mitrunen K, Hirvonen A. Molecular epidemiology of sporadic breast cancer. The role of polymorphic genes involved in oestrogen biosynthesis and metabolism. *Mutat Res*. 2003; 544(1):9-41.

Miyoshi Y, Ando A, Hasegawa S, Ishitobi M, Yamamura J, Irahara N, Tanji Y, Taguchi T, Tamaki Y, Noguchi S. Association of genetic polymorphisms in *CYP19* and *CYP11A1* with the oestrogen receptor-positive breast cancer risk. *Eur J Cancer*. 2003; 39(17):2531-7.

Miyoshi Y, Noguchi S. Polymorphisms of estrogen synthesizing and metabolizing genes and breast cancer risk in Japanese women. *Biomed Pharmacother*. 2003; 57(10):471-81.

Morch LS, Johansen D, Thygesen LC, Tjønneland A, Lokkegaard E, Stahlberg C, Gronbaek M. Alcohol drinking, consumption patterns and breast cancer among Danish nurses: a cohort study. *Eur J Public Health*. 2007; 17(6):624-9.

Msolly A, Gharbi O, Ben Ahmed S. Impact of menstrual and reproductive factors on breast cancer risk in Tunisia: a case-control study. *Med Oncol*. 2013; 30(1):480.

Naieni KH, Ardalan A, Mahmoodi M, Motevalian A, Yahyapoor Y, Yazdizadeh B. Risk factors of breast cancer in north of Iran: a case-control in Mazandaran Province. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2007; 8(3):395-8.

Nioi P, Hayes JD. Contribution of NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 to protection against carcinogenesis, and regulation of its gene by the Nrf2 basic-region leucine zipper and the arylhydrocarbon receptor basic helix-loop-helix transcription factors. *Mutat Res*. 2004; 555(1-2): 149-71.

Ntais C, Polycarpou A, Ioannidis JP. Association of the *CYP17* gene polymorphism with the risk of prostate cancer: a meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2003; 12(2):120-6.

Okasha M, McCarron P, Gunnell D, Smith GD. Exposures in childhood, adolescence and early adulthood and breast cancer risk: a systematic review of the literature. *Breast Cancer Res Treat*. 2003; 78(2):223-76.

Olson SH, Orlow I, Bayuga S, Sima C, Bandera EV, Pulick K, Faulkner S, Tommasi D, Egan D, Roy P, Wilcox H, Asya A, Modica I, Asad H, Soslow R, Zauber AG. Variants in hormone biosynthesis genes and risk of endometrial cancer. *Cancer Causes Control*. 2008; 19(9):955-63.

Onyenwoke RU, Wiegel J. Iron (III) reduction: A novel activity of the human NAD(P)H:oxidoreductase. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007; 353(2):389-93.

Ortega Jacome GP, Koifman RJ, Rego Monteiro GT, Koifman S. Environmental exposure and breast cancer among young women in Rio de Janeiro, Brazil. *J Toxicol Environ Health A*. 2010; 73(13-14):858-65.

Ortega-Jácome GP. Câncer de mama em mulheres jóvenes en Río de Janeiro: estudio de factores de riesgo potencialmente asociados. [Dissertação de Mestrado]. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública-Fundação Oswaldo Cruz; 2003.

Park SK, Kang D, McGlynn KA, Garcia-Closas M, Kim Y, Yoo KY, Brinton LA. Intrauterine environments and breast cancer risk: meta-analysis and systematic review. *Breast Cancer Res*. 2008; 10(1): R8.

Parkin DM. 10. Cancers attributable to exposure to hormones in the UK in 2010. *Br J Cancer*. 2011;105 Suppl 2:S42-8.

Petitjean A, Achatz MI, Borresen-Dale AL, Hainaut P, Olivier M. *TP53* mutations in human cancers: functional selection and impact on cancer prognosis and outcomes. *Oncogene*. 2007; 26(15): 2157-65.

Pinheiro SA, Clapauch R. Importância da dosagem da 17OH-progesterona na síndrome dos ovários policísticos. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2001; 45(4):361-8.

Pirie K, Beral V, Peto R, Roddam A, Reeves G, Green J; Million Women Study Collaborators. Passive smoking and breast cancer in never smokers: prospective study and meta-analysis. *Int J Epidemiol*. 2008; 1-11.

Pischon T, Nöthlings U, Boeing H. Obesity and cancer. *Proc Nutr Soc*. 2008; 67(2):128-45.

Potischman N, Swanson CA, Siiteri P, Hoover RN. Reversal of relation between body mass and endogenous estrogen concentrations with menopausal status. *J Natl Cancer Inst.* 1996; 88, 756–758.

Pollán M, Ascunce N, Ederra M, Murillo A, Erdozáin N, Alés-Martínez JE, Pastor-Barriuso R. Mammographic density and risk of breast cancer according to tumor characteristics and mode of detection: a Spanish population-based case-control study. *Breast Cancer Res.* 2013; 15(1):R9.

Pollán M, Pastor-Barriuso R, Ardanaz E, Argüelles M, Martos C, Galcerán J, Sánchez-Pérez MJ, Chirlaque MD, Larrañaga N, Martínez-Cobo R, Tobalina MC, Vidal E, Marcos-Gragera R, Mateos A, Garau I, Rojas-Martín MD, Jiménez R, Torrella-Ramos A, Perucha J, Pérez-de-Rada ME, González S, Rabanaque MJ, Borràs J, Navarro C, Hernández E, Izquierdo A, López-Abente G, Martínez C. Recent changes in breast cancer incidence in Spain, 1980-2004. *J Natl Cancer Inst.* 2009; 101(22):1584-91.

Prescott J, Ma H, Bernstein L, Ursin G. Cigarette smoking is not associated with breast cancer risk in young women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2007; 16(3):620-2.

Recio-Vega R, Velazco-Rodriguez V, Ocampo-Gómez G, Hernandez-Gonzalez S, Ruiz-Flores P, Lopez-Marquez F. Serum levels of polychlorinated biphenyls in Mexican women and breast cancer risk. *J Appl Toxicol.* 2011; 31(3):270-8.

Reis-Filho JS, Tutt AN. Triple negative tumours: a critical review. *Histopathology.* 2008; 52(1):108-18.

Ribeiro FS, de Amorim LM, de Almeida Simão T, Mendonça GA, de Moura Gallo CV, Pinto LF. *CYP19* (TTTA)_n polymorphism and breast cancer risk in Brazilian women. *Toxicol Lett.* 2006; 164(1):90-5.

Riboli E, Norat T. Epidemiologic evidence of the protective effect of fruit and vegetables on cancer risk. *American Journal of Clinical Nutrition.* 2003; 78(3 Suppl): 559S-569S.

Rinaldi S, Peeters PH, Bezemer ID, Dossus L, Biessy C, Sacerdote C, Berrino F, Panico S, Palli D, Tumino R, Khaw KT, Bingham S, Allen NE, Key T, Jensen MK, Overvad K, Olsen A, Tjønneland A, Amiano P, Ardanaz E, Agudo A, Martínez-García C, Quirós JR, Tormo MJ, Nagel G, Linseisen J, Boeing H, Schulz M, Grobbee DE, Bueno-de-Mesquita HB, Koliva M, Kyriazi G, Thrichopoulou A, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F, Ferrari P, Slimani N, Saracci R, Riboli E, Kaaks R. Relationship of alcohol intake and sex steroid concentrations in blood in pre- and post-menopausal women: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Cancer Causes Control.* 2006; 17(8):1033-43.

Ronckers CM, Erdmann CA, Land CE. Radiation and breast cancer: a review of current evidence. *Breast Cancer Research*. 2005; 7:21-32.

Rosman DS, Kaklamani V, Pasche B. New insights into breast cancer genetics and impact on patient management. *Curr Treat Options Oncol*. 2007; 8(1): 61-73.

Ross D, Kepa JK, Winski SL, Beall HD, Anwar A, Siegel D. NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 (NQO1): chemoprotection, bioactivation, gene regulation and genetic polymorphisms. *Chem Biol Interact*. 2000; 129(1-2):77-97.

Rossi L, Leverì M, Gritti C, De Silvestri A, Zavaglia C, Sonzogni L, Silvestri L, Civardi E, Mondelli MU, Silini EM. Genetic polymorphisms of steroid hormone metabolizing enzymes and risk of liver cancer in hepatitis C-infected patients. *J Hepatol*. 2003; 39(4):564-70.

Rozenberg S, Vandromme J, Antoine C. Postmenopausal hormone therapy: risks and benefits. *Nat Rev Endocrinol*. 2013; 9(4):216-27.

Sahlin P, Windh P, Lauritzen C, Emanuelsson M, Grönberg H, Stenman G. Women with Saethre-Chotzen syndrome are at increased risk of breast cancer. *Genes Chromosomes Cancer*. 2007; 46(7): 656-60.

Sakoda LC, Blackston C, Doherty JA, Ray RM, Lin MG, Stalsberg H, Gao DL, Feng Z, Thomas DB, Chen C. Polymorphisms in steroid hormone biosynthesis genes and risk of breast cancer and fibrocystic breast conditions in Chinese women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2008; 17(5):1066-73.

Salhab M, Reed MJ, Al Sarakbi W, Jiang WG, Mokbel K. The role of aromatase and 17-beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 mRNA expression in predicting the clinical outcome of human breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2006; 99(2):155-62.

Samson M, Rama R, Swaminathan R, Sridevi V, Nancy KN, Rajkumar T. *CYP17*(T³⁴C), *CYP19* (Trp³⁹Arg), and *FGFR2* (C⁹⁰⁶T) polymorphisms and the risk of breast cancer in south Indian women. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2009; 10(1):111-4.

Sangrajrang S, Sato Y, Sakamoto H, Ohnami S, Laird NM, Khuhaprema T, Brennan P, Boffetta P, Yoshida T. Genetic polymorphisms of estrogen metabolizing enzyme and breast cancer risk in Thai women. *Int J Cancer*. 2009; 125(4):837-43.

Sarmanová J, Susová S, Gut I, Mrhalová M, Kodet R, Adámek J, Roth Z, Soucek P. Breast cancer: role of polymorphisms in biotransformation enzymes. *Eur J Hum Genet.* 2004; 12(10):848-54.

Saxena A, Dhillon VS, Raish M, Asim M, Rehman S, Shukla NK, Deo SV, Ara A, Husain SA. Detection and relevance of germline genetic polymorphisms in glutathione S-transferases (GSTs) in breast cancer patients from northern Indian population. *Breast Cancer Res Treat.* 2009; 115(3):537-43.

Schulz M, Hoffmann K, Weikert C, Nöthlings U, Schulze MB, Boeing H. Identification of a dietary pattern characterized by high-fat food choices associated with increased risk of breast cancer: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam Study. *Br J Nutr.* 2008; 1: 1-5.

Shamsi U, Khan S, Usman S, Soomro S, Azam I. A Multicenter Matched Case Control Study of Breast Cancer Risk Factors among Women in Karachi, Pakistan. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2013;14(1):183-8.

Sharp L, Cardy AH, Cotton SC, Little J. *CYP17* gene polymorphisms: prevalence and associations with hormone levels and related factors. a HuGE review. *Am J Epidemiol.* 2004; 160(8):729-40.

Shin A, Matthews CE, Shu XO, Gao YT, Lu W, Gu K, Zheng W. Joint effects of body size, energy intake, and physical activity on breast cancer risk. *Breast Cancer Res Treat.* 2009; 113(1):153-61.

Siegel D, Ross D. Immunodetection of NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 (NQO1) in human tissues. *Free Radic Biol Med.* 2000; 29(3-4):246-53.

Siegel D, Yan C, Ross D. NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 (NQO1) in the sensitivity and resistance to antitumor quinones. *Biochem Pharmacol.* 2012; 83(8):1033-40.

Skibola CF, Lightfoot T, Agana L, Smith A, Rollinson S, Kao A, Adamson P, Morgan GJ, Smith MT, Roman E. Polymorphisms in cytochrome P450 17A1 and risk of non-Hodgkin lymphoma. *Br J Haematol.* 2005; 129(5):618-21. (a)

Skibola CF, Bracci PM, Paynter RA, Forrest MS, Agana L, Woodage T, Guegler K, Smith MT, Holly EA. Polymorphisms and haplotypes in the cytochrome P450 17A1, prolactin, and catechol-O-methyltransferase genes and non-Hodgkin lymphoma risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2005; 14(10):2391-401. (b)

Smith MT, Wang Y, Kane E, Rollinson S, Wiemels JL, Roman E, Roddam P, Cartwright R, Morgan G. Low NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 activity is associated with increased risk of acute leukemia in adults. *Blood*. 2001; 97(5):1422-6.

Song JK, Bae JM. Citrus fruit intake and breast cancer risk: a quantitative systematic review. *J Breast Cancer*. 2013; 16(1):72-6.

Srinivasan V, Spence DW, Pandi-Perumal SR, Trakht I, Esquifino AI, Cardinali DP, Maestroni GJ. Melatonin, environmental light, and breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2008; 108(3):339-50.

Stewart BW, Kleihues P. (Eds): *World Cancer Report*. IARC Press. Lyon 2003.

Suspitsin EN, Grigoriev MY, Togo AV, Kuligina ES, Belogubova EV, Pozharisski KM, Chagunava OL, Sokolov EP, Theillet C, Berstein LM, Hanson KP, Imyanitov EN. Distinct prevalence of the *CYP19* Delta3(TTTA)(7) allele in premenopausal versus postmenopausal breast cancer patients, but not in control individuals. *Eur J Cancer*. 2002; 38(14):1911-6.

Szipirer C, Szipirer J. Mammary cancer susceptibility: human genes and rodent models. *Mamm Genome*. 2007; 18(12): 817-31.

Taghavi A, Fazeli Z, Vahedi M, Baghestani AR, Pourhoseingholi A, Barzegar F, Pourhoseingholi MA. Increased trend of breast cancer mortality in Iran. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2012; 13(1):367-70.

Teitelbaum SL, Gammon MD, Britton JA, Neugut AI, Levin B, Stellman SD. Reported residential pesticide use and breast cancer risk on Long Island, New York. *Am J Epidemiol*. 2007; 165(6):643-51.

Teng LS, Zheng Y, Wang HH. *BRCA1/2* associated hereditary breast cancer. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2008; 9(2):85-9.

Thompson PA, Ambrosone C. Molecular epidemiology of genetic polymorphisms in estrogen metabolizing enzymes in human breast cancer. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 2000; (27):125-34.

Thygesen LC, Mørch LS, Keiding N, Johansen C, Gronbaek M. Use of baseline and updated information on alcohol intake on risk for breast cancer: importance of latency. *Int J Epidemiol*. 2008; 37(3):669-77.

Trabert B, Malone KE, Daling JR, Doody DR, Bernstein L, Ursin G, Marchbanks PA, Strom BL, Humphrey MC, Ostrander EA. Vitamin D receptor polymorphisms and breast cancer risk in a large population-based case-control study of Caucasian and African-American women. *Breast Cancer Res.* 2007; 9(6):R84.

Traver RD, Horikoshi T, Danenberg KD, Stadlbauer TH, Danenberg PV, Ross D and Gibson NW. NAD(P)H:quinone oxidoreductase gene expression in human colon carcinoma cells: characterization of a mutation which modulates DT-diaphorase activity and mitomycin sensitivity. *Cancer Res.* 1992; 52:797-802.

Tsvetkov P, Reuven N, Shaul Y. Ubiquitin-independent p53 proteasomal degradation. *Cell Death Differ.* 2010; 17(1):103-8.

Urban M, Banks E, Egger S, Canfell K, O'Connell D, Beral V, Sitas F. Injectable and oral contraceptive use and cancers of the breast, cervix, ovary, and endometrium in black South African women: case-control study. *PLoS Med.* 2012; 9(3):e1001182.

van den Brandt PA, Spiegelman D, Yaun SS, Adami HO, Beeson L, Folsom AR, Fraser G, Goldbohm RA, Graham S, Kushi L, Marshall JR, Miller AB, Rohan T, Smith-Warner SA, Speizer FE, Willett WC, Wolk A, Hunter DJ. Pooled analysis of prospective cohort studies on height, weight, and breast cancer risk. *Am J Epidemiol.* 2000; 152(6):514-27.

van der Logt EM, Bergevoet SM, Roelofs HM, Te Morsche RH, Dijk Y, Wobbes T, Nagengast FM, Peters WH. Role of epoxide hydrolase, NAD(P)H:quinone oxidoreductase, cytochrome P450 2E1 or alcohol dehydrogenase genotypes in susceptibility to colorectal cancer. *Mutat Res.* 2006; 593(1-2):39-49.

Verla-Tebit E, Wang-Gohrke S, Chang-Claude J. *CYP17* 5'-UTR *MspAI* polymorphism and the risk of premenopausal breast cancer in a German population-based case-control study. *Breast Cancer Res.* 2005; 7(4):R455-64.

Wang F, Zou YF, Feng XL, Su H, Huang F. *CYP17* gene polymorphisms and prostate cancer risk: a meta-analysis based on 38 independent studies. *Prostate.* 2011; 71(11):1167-77.

Wang YH, Lee YH, Tseng PT, Shen CH, Chiou HY. Human NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 (NQO1) and sulfotransferase 1A1 (SULT1A1) polymorphisms and urothelial cancer risk in Taiwan. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2008; 134(2):203-9.

Ward EM, Schulte P, Grajewski B, Andersen A, Patterson DG Jr, Turner W, Jellum E, Deddens JA, Friedland J, Roeleveld N, Waters M, Butler MA, DiPietro E, Needham LL. Serum organochlorine levels and breast cancer: a nested case-control study of Norwegian women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2000; 9(12): 1357-67.

Weischer M, Bojesen SE, Ellervik C, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. *CHEK2**1100delC genotyping for clinical assessment of breast cancer risk: meta-analyses of 26,000 patient cases and 27,000 controls. *J Clin Oncol*. 2008; 26(4): 542-8.

Willett WC. Diet and Cancer: one view at the start of the millennium. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention* 2001;10:3-8.

Wu QJ, Vogtmann E, Zhang W, Xie L, Yang WS, Tan YT, Gao J, Xiang YB. Cancer incidence among adolescents and young adults in urban Shanghai, 1973-2005. *PLoS One* 2012; 7(8):e42607.

Xue F, Michels KB. Intrauterine factors and risk of breast cancer: a systematic review and meta-analysis of current evidence. *Lancet Oncol*. 2007; 8(12):1088-100.

Yager JD. Endogenous estrogens as carcinogens through metabolic activation. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 2000; (27):67-73.

Yang FY, Guan QK, Cui YH, Zhao ZQ, Rao W, Xi Z. NAD(P)H quinone oxidoreductase 1 (*NQO1*) genetic C⁶⁰⁹T polymorphism is associated with the risk of digestive tract cancer: a meta-analysis based on 21 case-control studies. *Eur J Cancer Prev*. 2012; 21(5):432-41.

Yang M, Ryu JH, Jeon R, Kang D, Yoo KY. Effects of bisphenol A on breast cancer and its risk factors. *Arch Toxicol*. 2009; 83(3):281-5.

Yanling H, Yuhong Z, Wenwu H, Lei X, Mingwu C. *NQO1* C⁶⁰⁹T polymorphism and esophageal cancer risk: a HuGE review and meta-analysis. *BMC Med Genet*. 2013; 14:31.

Ye Z, Parry JM. The *CYP17 MspA1* polymorphism and breast cancer risk: a meta-analysis. *Mutagenesis*. 2002; 17(2):119-26.

Yu MW, Yang YC, Yang SY, Cheng SW, Liaw YF, Lin SM, Chen CJ. Hormonal markers and hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma risk: a nested case-control study among men. *J Natl Cancer Inst*. 2001; 93(21):1644-51.

Zhang J, Schulz WA, Li Y, Wang R, Zotz R, Wen D, Siegel D, Ross D, Gabbert HE, Sarbia M. Association of NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1 (*NQO1*) C⁶⁰⁹T polymorphism with esophageal squamous cell carcinoma in a German Caucasian and a northern Chinese population. *Carcinogenesis*. 2003; 24(5):905-9.

Zhao ZQ, Guan QK, Yang FY, Zhao P, Zhou B, Chen ZJ. System review and metaanalysis of the relationships between five metabolic gene polymorphisms and colorectal adenoma risk. *Tumour Biol*. 2012; 33(2):523-35.

Zhu H, Lei X, Feng J, Wang Y. Oral contraceptive use and risk of breast cancer: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Eur J Contracept Reprod Health Care*. 2012; 17(6):402-14.