



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



Nara de Almeida Souza

Polimorfismos Leu⁵⁵Met e Gln¹⁹²Arg do gene PON1 e câncer de mama em mulheres jovens

Rio de Janeiro

2017

Nara de Almeida Souza

Polimorfismos Leu⁵⁵Met e Gln¹⁹²Arg do gene PON1 e câncer de mama em mulheres jovens

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde Pública e Meio Ambiente, da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, na Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Saúde Pública e Meio Ambiente. Área de concentração: Epidemiologia Ambiental.

Orientadora: Prof.^a Dra. Sabrina da Silva Santos

Coorientadora: Prof.^a Dra. Carmen Freire Warden

Rio de Janeiro

2017

Nara de Almeida Souza

Polimorfismos Leu⁵⁵Met e Gln¹⁹²Arg do gene PON1 e câncer de mama em mulheres jovens

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde Pública e Meio Ambiente, da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, na Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Saúde Pública e Meio Ambiente. Área de concentração: Epidemiologia Ambiental.

Aprovada em: 17 de agosto de 2017

Banca Examinadora

Prof.^a Dra Ilce Ferreira da Silva
Fundação Oswaldo Cruz-Instituto Fernandes Figueira

Prof.^a Dra Jeniffer Dantas Ferreira
Instituto Nacional do Câncer José Alencar

Prof.^a Dra Sabrina da Silva Santos (Orientadora)
Fundação Oswaldo Cruz-Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca

Prof.^a Dra Carmen Freire Warden (Coorientadora)
Fundação Oswaldo Cruz-Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca

Rio de Janeiro

2017

À Deus, que me concedeu a oportunidade de fazê-lo.
Ao meu pai e a minha mãe, sem todo o apoio de vocês nada disso seria possível.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter me dado amor, força e persistência para chegar até aqui e por ter colocado pessoas tão especiais em meu caminho, que fizeram toda diferença para que mais este sonho fosse concretizado.

Aos meus pais (Nair Siquera de Almeida Souza e José Leonardo de Souza) que sempre apostaram nos meus sonhos, me ensinaram a ser a melhor pessoa que eu pudesse ser em qualquer situação e a fazer tudo com amor, vocês são os melhores pais que Deus poderia me dar e sou privilegiada por isso.

À minha irmã, (Naiza de Almeida Souza Lobianco), por ser compreensiva em meus momentos de ausência, ansiedade e nervosismo e por sempre me estimular em tudo que faço e sempre reforçar que posso fazer melhor. Muito obrigada!

Ao meu amigo e namorado (Alexandre Pereira da Cunha Junior), por ter abdicado momentos de lazer para estar ao meu lado e por ter construído um ambiente de paz e tranquilidade nos momentos finais desse projeto. Muito obrigada meu amor!

Ao meu primo (Renan Almeida da Silva Soares) por 6 anos de parceria, dividindo lutas e vitórias, lágrimas e sorrisos.

À minha amiga (Neide Aquino), pela amizade sincera e apoio ao longo dos últimos 6 anos.

Aos meus amigos e familiares, avós, tios (as) e primos (as), cunhado, sei que muitas vezes a correria nos afastou, mas todos estão no meu coração e fazem parte dessa conquista.

Em especial quero agradecer aos meus sobrinhos Pedro de Almeida Souza Lobianco, Bernardo de Almeida Souza Lobianco, Davi Almeida, Leonardo Medeiros, Nathália Felix, Valentina Soares, Ísis Felix e Laura Almeida, minha inspiração.

À minha orientadora Dr^a. Sabrina da Silva Santos e co-orientadora Dr^a. Carmen Freire Warden por terem me orientado com serenidade, experiência, amizade e carinho, por acreditarem em mim e me darem essa oportunidade, me proporcionando crescimento pessoal e profissional. Eu as admiro pelas profissionais que são. Minhas referências!

As professoras Dr^a. Gina Torres e Dr^a. Rosalina Koifman, por todo ensinamento que levarei para vida, por acreditarem em mim e abrirem as portas do Programa de Saúde Pública e Meio Ambiente, meus sinceros agradecimentos.

As companheiras de laboratório: Rafaela, Ana Emília e Vânia por toda a contribuição a esse projeto.

Aos pesquisadores Dr. Sergio Koifman e Dr. Guillermo Patricio Ortega Jacome que idealizaram esse projeto em anos anteriores.

À **CAPES** pelo financiamento deste projeto através da bolsa de Mestrado

Aos profissionais dos Hospitais participantes e a todas as mulheres entrevistadas neste estudo.

À todos que, direta ou indiretamente, colaboraram para a realização deste trabalho.

E não somente isto, mas também nos gloriamos nas tribulações, sabendo que a tribulação produz paciência, e a paciência a experiência, e a experiência a esperança. E a esperança não traz confusão, porquanto o amor de Deus está derramado em nossos corações pelo Espírito Santo que nos foi dado.

(Rm 5. 3-5) Romanos, capítulo 5, versículos 3 a 5.

RESUMO

O câncer de mama é a neoplasia mundialmente mais incidente entre as mulheres e a principal causa de morte por câncer nessa população. Apesar desta neoplasia ser mais comum em mulheres a partir dos 50 anos de idade, tem sido relatado um aumento no número de casos de câncer de mama em mulheres jovens em vários países, inclusive no Brasil. 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, 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. Entretanto, a maioria das variações genéticas que contribuem para o câncer de mama esporádico é desconhecida. A paraoxonase 1 (PON1) é uma enzima associada à lipoproteína de alta densidade (HDL) e está ligada à defesa do organismo contra os radicais livres e à hidrólise de substâncias xenobióticas. Os polimorfismos Leu⁵⁵Met e Gln¹⁹²Arg do gene *PON1* foram associados ao desenvolvimento de câncer de mama em estudos epidemiológicos anteriores, entretanto esses achados ainda são inconclusivos. Esse estudo tem como objetivo geral investigar a associação entre os polimorfismos genéticos Leu⁵⁵Met e Gln¹⁹²Arg do gene *PON1* e a ocorrência de câncer de mama em mulheres menores de 36 anos de idade, residentes na cidade do Rio de Janeiro. Este trabalho faz parte de um estudo maior, de caso-controle de base hospitalar, sendo os casos 270 mulheres entre 18-35 anos diagnosticadas com câncer de mama no Instituto Nacional de Câncer (INCA), entre 1999 e 2009; e os controles, 277 mulheres na mesma faixa etária selecionada entre as pacientes e acompanhantes de três hospitais da rede pública de saúde do Rio de Janeiro. Foram coletadas amostras de sangue de todos os casos e controles e aplicado um questionário padronizado. A genotipagem dos polimorfismos Leu⁵⁵Met e Gln¹⁹²Arg do gene *PON1* foi realizada através da técnica de PCR-RFLP. Não foi observada associação entre o polimorfismo Leu⁵⁵Met do gene *PON1* e câncer de mama (OR = 1,01; IC 95% 0,69-1,47 para o genótipo *Leu/Met* e OR = 1,12; IC 95% 0,55-2,29 para o genótipo *Met/Met*). No entanto, foi identificada uma estimativa de risco aumentada, sem significância estatística, em mulheres que apresentaram o genótipo polimórfico *Met/Met* (ORajust = 1,59; IC 95% 0,61-4,14), em comparação a mulheres com os genótipos *Leu/Met* e *Leu/Leu*, após ajuste pelos fatores de confusão idade e IMC aos 18 anos. Para o polimorfismo Gln¹⁹²Arg foi observada redução de risco, sem significância estatística, entre o polimorfismo Gln¹⁹²Arg do gene *PON1* e câncer de mama em mulheres jovens (OR =

0,88; IC 95% 0,59-1,32 para o genótipo *Gln/Arg* e OR = 0,75; IC 95% 0,47-1,20 para o genótipo *Arg/Arg*). Após o ajuste pelos fatores de confusão idade e IMC aos 18 anos foi observado, para mulheres que apresentaram o alelo polimórfico *Arg/Arg* uma ORajust = 0,81 (IC 95% 0,47-1,37). Este estudo sugere que os polimorfismos Leu⁵⁵Met e Gln¹⁹²Arg do gene *PONI* podem alterar o risco para a carcinogênese mamária em mulheres com menos de 36 anos, entretanto futuros estudos são necessários.

Palavras-chave: *PONI*. Polimorfismos. Câncer de mama. Mulheres jovens.

ABSTRACT

Breast cancer is the most commonly encountered neoplasm among women and the leading cause of cancer death in this population. Although this neoplasm is more common in women as young as 50 years of age, there has been an increase in the number of breast cancer cases in young women in several countries, including Brazil. While rare mutations in tumor suppressor genes or proto-oncogenes account for less than 5% of all breast cancer cases, the numerous variants of the low-penetrance genes, acting in conjunction with environmental risk factors, are probably, responsible for a much higher portion of the number of cases of this type of tumor. However, most of the genetic variations that contribute to sporadic breast cancer are unknown. Paraoxonase 1 (PON1) is an enzyme associated with high density lipoprotein (HDL) and is linked to the body's defense against free radicals and the hydrolysis of xenobiotic substances. The polymorphisms Leu55Met and Gln192Arg of the PON1 gene were associated with the development of breast cancer in previous epidemiological studies, however these findings are still inconclusive. This study aims to investigate the association between the genetic polymorphisms Leu55Met and Gln192Arg of the PON1 gene and the occurrence of breast cancer in women under 36 years of age living in the city of Rio de Janeiro. This study is part of a larger hospital case-control study, with 270 women aged 18-35 years diagnosed with breast cancer at the National Cancer Institute (INCA) between 1999 and 2009; and the controls, 277 women in the same age group selected among the patients and companions of three hospitals of the public health network of Rio de Janeiro. Blood samples were collected from all cases and controls and a standardized questionnaire was applied. Genotyping of the Leu55Met and Gln192Arg polymorphisms of the PON1 gene was performed using the PCR-RFLP technique. No association was observed between the Leu55Met polymorphism of the PON1 gene and breast cancer (OR = 1.01, 95% CI 0.69-1.47 for the Leu / Met genotype and OR = 1.12, 95% CI 0.55-2.29 for the Met / Met genotype). However, an increased risk estimate was identified, with no statistical significance, in women who presented the polymorphic genotype Met / Met (OR_{adjusted} = 1.59; 95% CI: 0.61 to 4.14), compared to women with Leu / Met and Leu / Leu genotypes after adjusting for confounding age and BMI at age 18. For the Gln192Arg polymorphism, a risk reduction, with no statistical significance, was observed between the Gln192Arg polymorphism of the PON1 gene and breast cancer in young women (OR = 0.88, 95% CI 0.59-1.32 for the genotype Gln / Arg and OR = 0.75, 95% CI 0.47-1.20 for the Arg / Arg genotype). After adjusting for confounding

factors, age and BMI at 18 years, for women who presented the Arg / Arg polymorphic allele an OR = 0.81 (95% CI 0.47-1.37). This study suggests that the Leu55Met and Gln192Arg polymorphisms of the PON1 gene may alter the risk for breast carcinogenesis in women younger than 36 years, however further studies are needed.

Keywords: PON1. Polymorphisms. Breast cancer. Young women.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1	Estudos epidemiológicos de séries temporais que sugerem tendência de aumento na incidência de câncer de mama em mulheres jovens, em diferentes partes do mundo.	22
----------	---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Estudos epidemiológicos que exploraram a associação entre os polimorfismos Gln ¹⁹² Arg e Leu ⁵⁵ Met do gene <i>PONI</i> e risco de câncer de câncer de mama	36
Tabela 2	Variáveis de exposição de interesse	42
Tabela 3	Covariáveis utilizadas no presente estudo	46
Tabela 4	Sequência dos oligonucleotídeos iniciadores e tamanho dos fragmentos amplificados	47
Tabela 5	Distribuição dos casos (n=266) de câncer e controles (n=277) de acordo com a variável selecionada, Rio de Janeiro, Brasil, 1999-2012.	51
Tabela 6	Distribuição genotípica dos polimorfismos Leu ⁵⁵ Met (casos n=239 e controles n=234) e Gln ¹⁹² Arg (casos n=258 e controles n=274) e magnitude de associação do polimorfismo Leu ⁵⁵ Met do gene <i>PONI</i> com o desenvolvimento de câncer de mama em mulheres jovens (modelo recessivo e modelo dominante).	54
Tabela 7	Magnitude de associação do polimorfismo Leu ⁵⁵ Met e Gln ¹⁹² Arg do gene <i>PONI</i> com o desenvolvimento de câncer de mama em mulheres jovens - Modelo Final (193 casos e 126 controles).	56

LISTA DE ABREVIATURAS

A	- adenina
Arg	- arginina
AAPC	- média da variação anual percentual
APC	- variação percentual anual
Apo- A1	- apolipoproteína A1
ATM	- gene codificador da proteína relacionada com a ataxia- talangiectasia
Bp	- pares de bases
BPA	- bisfenol- A
BRCA1	- gene “breast câncer 1”
BRCA2	- gene “breast câncer 2”
C	- citosina
CK	- citoqueratina
CHEK2	- gene codificador da quinase CHEK2
COMT	- gene codificador da catecol-o-metiltransferase
CYP	- citocromo P450
CYP17	- gene codificador do citocromo P450c17 α
CYP19	- gene codificador da citocromo P450 aromatase
CID-O	- classificação internacional de doenças oncológicas
DDD	- dicloro-difenil-dicloreetano
DDE	- dicloro-difenil-dicloretileno
DDT	- dicloro-difenil-tricloroetano
DNA	- ácido desoxirribonucleico
DP	- desvio padrão
EDTA	- ácido etilenodiamino tetra-acético
EGFR	- fator de crescimento epidermal
ELF-GMF	- campos eletromagnético de muita baixa frequência
ENSP	- Escola Nacional de Saúde Pública
FIOCRUZ	- Fundação Oswaldo Cruz
G	- guanina
Gln	- glutamina
GSTM1	- glutathione S-transferase MU1

HDL	- proteína de alta densidade
HER2	- receptor do fator de crescimento epidérmico humano tipo 2
HR	- “hazard ratio”
IC	- intervalo de confiança
IARC	- agência internacional de pesquisa sobre câncer
IGF1	- fator de crescimento semelhante à insulina tipo 2
IMC	- índice de massa corporal
INTO	- Instituto Nacional de Traumatologia e Ortopedia
Kb	- kilobase
LDL	- proteína de baixa densidade
Leu	- leucina
LKB1	- gene codificador da serina treonina quinase
Met	- metionina
MLH1	- gene codificador da proteína de reparo de erros de pareamento MLH1
MSH2	- gene codificador da proteína de reparo de erros de pareamento MSH2
MnSOD	- gene codificador da manganês superóxido dismutase
mTOR	- alvo mecanicista da rampamicina
NQO1	- gene codificador da NAD(P)H:quinona oxidoreductase
OR	- “odds ratio”
PON1	- gene codificador da paraoxonase 1
PON2	- gene codificador da paraoxonase 2
PON3	- gene codificador da paraoxonase 3
PON1	- enzima paraoxonase 1
PCBs	- bifenilas policloradas
PTEN	- gene codificador da Fosfatase homóloga a tensina
RR	- risco relativo
RE	- receptor de estrogênio
RP	- receptor de progesterona
SULT1 A1	- gene codificador da sulfotransferase 1A1
SHBG	- globulina de ligação a hormônios sexuais
STK11	- gene que codifica a proteína quinase
TBE	- solução tampão com mistura de base tris, ácido Bórico e EDTA
TP53	- gene codificador do fator de transcrição p53

TTN - gene que codifica importante proteína do músculo estriado
TWIST 1 - gene codificador do fator de transcrição hélice-alça-hélice básico 1
7q21-23 - braço longo do cromossomo 7, região 21 a 23

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	REFERENCIAL TEÓRICO	20
2.1	EPIDEMIOLOGIA DO CÂNCER DE MAMA	20
2.2	FATORES DE RISCO ASSOCIADOS AO CÂNCER DE MAMA	25
2.2.1	Variáveis Reprodutivas e Exposição Hormonal	25
2.2.2	Desreguladores Endócrinos	25
2.2.3	Dieta e Obesidade	26
2.2.4	Outros Fatores de Risco não Genéticos	27
2.2.5	Fatores de Risco Genéticos	28
2.2.5.1	Câncer de Mama Hereditário	28
2.2.5.2	Polimorfismos Genéticos	31
3	PARAOXONASE 1 (PON1)	32
3.1	O GENE <i>PON1</i>	33
3.2	EVIDÊNCIAS EPIDEMIOLÓGICAS DE ASSOCIAÇÃO DOS POLIMORFISMOS LEU ⁵⁵ MET E GLN ¹⁹² ARG COM CÂNCER DE MAMA	35
3.3	<i>PON1</i> E OBESIDADE	39
4.	JUSTIFICATIVA	41
5	OBJETIVOS	43
5.1	OBJETIVO GERAL	43
5.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	43
6	METODOLOGIA	44
6.1	ASPECTOS ÉTICOS	44
6.2	DELINEAMENTO O ESTUDO	44
6.3	POPULAÇÃO DO ESTUDO	44
6.3.1	Definição de Caso	45
6.3.2	Definição de Controle	45
6.3.3	Critério de Exclusão	46
6.4	COLETA DE DADOS	46
6.5	VARIÁVEIS DO ESTUDO	46

6.6	GENOTIPAGEM DOS POLIMORFISMOS LEU ⁵⁵ MET E GLN ¹⁹² ARG DO GENE <i>PONI</i>	48
6.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS	49
6.8	TAMANHO AMOSTRAL	49
7	RESULTADOS	51
8	DISCUSÃO	58
9	CONCLUSÃO	63
	REFERÊNCIAS	64
	ANEXO - PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP	89

1 INTRODUÇÃO

O câncer da mama, sem considerar os tumores de pele não melanoma, é o câncer mais comum entre as mulheres em todo o mundo (FERLAY *et al.*, 2015) e, em relação às mulheres jovens, tem-se verificado um aumento das taxas de incidência e mortalidade por essa neoplasia, em diferentes partes do mundo, incluindo o Brasil (GLOBOCAN 2012; Wu *et al.*, 2012; Taghavi *et al.*, 2012; Johnson *et al.*, 2013; Santos *et al.*, 2013; Sripan *et al.*, 2017). Esse aumento observado em uma faixa etária descrita como sendo de baixa incidência para o câncer de mama pode estar refletindo uma elevação de neoplasias esporádicas decorrentes de novas exposições ambientais.

Sabe-se que os danos genéticos induzidos por metabólitos carcinogênicos, endógenos e exógenos, podem contribuir para a etiologia do câncer de mama (Gu *et al.*, 2010). Além disso, o estresse oxidativo, através dos produtos finais da peroxidação lipídica, pode estar envolvido no desenvolvimento de neoplasias (Delimaris *et al.*, 2005; Valko *et al.*, 2006). A lipoproteína de baixa densidade (LDL) oxidada é a principal forma de peróxido lipídico responsável por cânceres relacionados com o estresse oxidativo (Ray *et al.*, 2005). Em contrapartida, a lipoproteína de alta densidade (HDL) atua como anti-carcinogênico e antioxidante evitando a formação de espécies reativas de oxigênio (Chandler e Kapoor, 1990).

A paraoxonase 1 (PON1) é uma enzima associada à HDL (Mackness *et al.*, 1998) que desempenha um papel importante na eliminação de radicais livres endógenos através da hidrólise de fosfolípidios oxidados ativos, destruição de hidroperóxidos lipídicos, preservação da integridade da HDL e prevenção da oxidação da LDL. Além disso, a PON1 está envolvida na eliminação de radicais cancerígenos lipossolúveis (Shih *et al.*, 1998). Dois polimorfismos importantes foram identificados na região codificante do gene *PON1*, os polimorfismos Leu⁵⁵Met e Gln¹⁹²Arg. Ambos polimorfismos podem afetar a concentração sérica e a atividade da enzima PON1, alterando a detoxificação de produtos do estresse oxidativo (Humbert *et al.*, 1993). Assim, a perda ou alteração da função da PON1 poderia desempenhar um papel importante na susceptibilidade de ocorrência de danos genômicos nas células mamárias (Hussein *et al.*, 2011).

Até hoje, vários estudos epidemiológicos de caso-controle investigaram a associação entre os polimorfismos Leu⁵⁵Met e Gln¹⁹²Arg do gene *PON1* e o risco de câncer de mama contemplando mulheres de diferentes faixas etárias (Humbert *et al.*, 1993; Stevens *et al.*, 2006; Gallicchio *et al.*, 2007; Antognelli *et al.*, 2009; Naidu *et al.*, 2010; Hussein *et al.*, 2010;

Liu *et al.*, 2011; Saadat, 2012; DeRoo *et al.*, 2014). Contudo, as evidências são ainda limitadas, alguns achados são controversos e pouco se sabe a respeito da interação desses polimorfismos com fatores de riscos ambientais para câncer de mama em relação às mulheres jovens.

Assim, a investigação da associação entre os polimorfismos genéticos Leu⁵⁵Met e Gln¹⁹²Arg do gene *PON1* e a ocorrência de câncer de mama em mulheres jovens torna-se pertinente.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 EPIDEMIOLOGIA DO CÂNCER DE MAMA

O câncer de mama é a neoplasia maligna mais comum, excluindo-se o câncer de pele não-melanoma, e a segunda causa de morte por câncer no mundo, considerando-se ambos os sexos. É a causa mais frequente de morte por câncer, em mulheres, em países menos desenvolvidos (324 mil mortes, 14,3% do total em 2012) e a segunda naqueles mais desenvolvidos (198 mil, 15,4% do total) (FERLAY et al., 2015).

Também no Brasil, excluindo-se o câncer de pele não melanoma, o câncer de mama feminino foi o tipo de câncer mais incidente entre as mulheres (GLOBOCAN, 2012). De acordo com a *International Agency for Research on Cancer* (IARC) para o ano de 2012 foram esperados 67.316 casos novos de câncer de mama, com uma taxa de 59,5 casos a cada 100 mil mulheres e estima-se que em 2030 existirão 104.617 casos novos de câncer de mama em mulheres brasileiras, das quais 26.792 evoluirão para morte (IARC, 2016).

Cerca de 6,6% de todos os casos de câncer de mama são diagnosticados em mulheres com menos de 40 anos, 2,4% em mulheres com menos de 35 anos, e 1% em mulheres com menos de 30 anos (Anders *et al.*, 2009; Fredholm *et al.*, 2009). Assim, embora a maior incidência do câncer de mama ocorra em mulheres a partir dos 50 anos de idade, estudos recentes sugerem uma tendência de aumento nas taxas de incidência e mortalidade em mulheres jovens de diferentes partes do mundo, incluindo o Brasil (Fontenoy *et al.*, 2010; Freitas-Junior *et al.*, 2008; Wu *et al.*, 2012; Taghavi *et al.*, 2012; Johnson *et al.*, 2013; Santos *et al.*, 2013).

Fontenoy e colaboradores (2010), em um estudo realizado na França entre 1980-2004, observaram aumento de 3,5% na taxa de incidência de câncer de mama em mulheres com menos de 50 anos. Wu e colaboradores (2012) verificaram igualmente um aumento nas taxas de incidência de câncer de mama em mulheres de 15 a 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) observaram, em mulheres de 25 a 39 anos, um aumento 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, variando de 1,53/100.000 (IC 95% 1,01-2,21) em 1976 a 2,90/100.000 (IC 95% 2,31-3,59) em 2009 (APC 2,07; IC 95% 1,57-2,58), sem um

aumento correspondente em mulheres de maior idade. Igualmente, Brice e colaboradores (2013) relataram um aumento nas taxas de incidência de câncer de mama em mulheres de 15 a 39 anos entre 1990-2008 em Portugal, com uma APC de 2,7 (IC 95% 2,0-3,4). Entre 1970 e 2002, Aliasghar e colaboradores (2014) verificaram uma tendência de aumento nas taxas de incidência do câncer de mama em mulheres asiáticas de 16 a 40 anos, com uma APC de 2,9 (IC 95% 2,1-3,0).

Já no Brasil, Gonçalves e Barbosa (2006) utilizaram dados de hospitalização como proxy da incidência, devido à falta de registros de base populacional em algumas cidades. Assim, foi observado um aumento significativo no percentual de internações por câncer de mama em mulheres menores de 30 anos nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais e Espírito Santo, no período de 1998-2003. Adicionalmente, no Rio de Janeiro também se observou um aumento no número de óbitos por câncer de mama feminino nas faixas etárias mais jovens (30 a 49 anos) entre 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). Santos e colaboradores (2013) observaram um aumento estatisticamente significativo na variação anual das taxas de incidência de câncer de mama em mulheres de 20 a 39 anos da cidade de Porto Alegre, no período de 1993-2005 (AAPC 4,4; IC 95% 2,8-5,9) e em Goiânia, no período de 1998-2008 (AAPC 2,4; IC 95% 0,3-4,6). Também em Goiânia, Freitas Junior e colaboradores (2008) relataram um aumento de 104% na taxa de incidência de câncer de mama em mulheres de 30 a 39 anos, entre 1988-2003 (**Quadro 1**).

Quadro 1. Estudos epidemiológicos de séries temporais que sugerem tendência de aumento na incidência de câncer de mama em mulheres jovens, em diferentes partes do mundo.

Estudo	Local	Período	Faixa etária (anos)	Variação
Aliasghar <i>et al.</i> , 2014	Ásia	1970-2002	16-40	APC= 2,6 (IC95% 2,1-3,0)
Brice <i>et al.</i> , 2013	Portugal	1990-2008	15-39	APC= 2,7 (IC95% 2,0-3,4)
Freitas <i>et al.</i> , 2013	Brasil	1988-2003	30-49	Δ Tx= 104%
Fontenoy <i>et al.</i> , 2010	França	1980-2004	<50	Δ Tx= 3,5%
Johnson <i>et al.</i> , 2013	EUA	1976-2009	25-35	APC =2,1 (IC95% 1,6-2,6)
Santos <i>et al.</i> , 2013	Brasil (Goiânia)	1988-2008	20-39	APC =4,4 (IC95% 2,8-5,9)
Wu <i>et al.</i> , 2012	China	1973-2005	15-49	APC= 2,69 (IC95% 2,5-3,4)

Δ Tx: percentual de aumento da taxa de incidência no período analisado; APC: Variação percentual anual.

No Brasil, recomenda-se como principais estratégias de rastreamento populacional um exame mamográfico, pelo menos a cada dois anos, para mulheres com 50 a 69 anos de idade, e o exame clínico anual das mamas para mulheres de 40 a 49 anos de idade. Uma vez que o rastreamento do câncer de mama em mulheres jovens não é recomendado pelas políticas públicas, o aumento da incidência e da mortalidade, aparentemente, não pode ser atribuído a uma elevação no diagnóstico da doença (Brasil / Ministério da Saúde / INCA, 2004).

Além da tendência de aumento nas taxas de incidência do câncer de mama em mulheres jovens, a comparação das características clínico-patológicas e do prognóstico do câncer de mama entre mulheres mais jovens e mulheres com mais de 50 anos, tem sido objeto de estudo (El Saghir *et al.*, 2006; Azim e Partridge, 2014). Estudos prospectivos e retrospectivos realizados nas últimas duas décadas relatam que o câncer de mama em mulheres jovens apresentaria um comportamento mais agressivo e um pior prognóstico que aquele diagnosticado em idades mais avançadas (Anders *et al.*, 2009; Fredholm *et al.*, 2009). Isso pode ser explicado, em parte, pelo fato das mulheres jovens serem mais frequentemente

diagnosticadas em estágios mais avançados, por serem mais propensas a desenvolver tumores mais agressivos, por uma maior prevalência de comprometimento linfonodal axilar, por apresentarem tumores menos diferenciados e com uma maior taxa de proliferação ao diagnóstico, por uma maior taxa de reincidência do câncer e pelas diferenças no acolhimento da paciente nos sistemas de saúde com baixo índice de suspeição e atraso no diagnóstico (Brennan *et al.*, 2005; Assi *et al.*, 2013; Azim e Partridge, 2014). Um estudo de coorte retrospectivo realizado na Dinamarca com 10.356 mulheres diagnosticadas antes dos 50 anos, relatou que pacientes com idade menor ou igual a 35 anos no momento do diagnóstico tiveram um risco 51% maior de comprometimento de linfonodos em comparação com pacientes com mais de 35 anos (Kroman *et al.*, 2000). Um estudo realizado com 732 pacientes com câncer de mama não-metastático, em New York, mostrou que pacientes com menos de 36 anos tinham tumores maiores (mediana 2,0 cm vs. 1,5 cm, $p<0,001$), mais envolvimento linfonodal (50% vs. 37%; $p=0,022$), e eram mais susceptíveis de serem diagnosticados na fase II ou III da doença (60% vs. 43%; $p<0,001$) do que pacientes acima de 36 anos (Gajdos *et al.*, 2000).

A idade jovem também demonstrou afetar negativamente a sobrevida das mulheres com câncer de mama. Um grande estudo de coorte prospectivo com 2.956 pacientes com menos de 40 anos, diagnosticados com câncer de mama entre 2000-2008, em 126 hospitais do Reino Unido, relatou uma sobrevida global em 5 anos de 82%. Este percentual é relativamente baixo, considerando o fato de apenas 2,5% dos pacientes terem metástases no momento do diagnóstico (Eccles *et al.*, 2012). Ao comparar mulheres jovens com mulheres mais velhas, Nixon e colaboradores (1994), em seu estudo realizado com 1.398 mulheres americanas, mostraram que a idade jovem (<35 anos) foi um importante preditor de mortalidade após o ajuste por fatores de confusão, com um risco relativo (RR) de 1,50 (IC 95% 1,02-2,21). Na França, De La Rochefordiere e colaboradores (1993) observaram que mesmo após o ajuste para o tamanho do tumor, status linfonodal, grau histológico, receptor hormonal, procedimento de tratamento loco-regional e terapia adjuvante sistêmica, tanto a sobrevida global quanto a sobrevida livre de doença continuou a ser menor no grupo etário mais jovem. Outro estudo de coorte prospectiva de base populacional, realizado por Gnerlich e colaboradores (2011) nos Estados Unidos, analisou 243.012 pacientes com câncer de mama no período de 1988-2003. Nele, as mulheres jovens com menos de 40 anos tiveram uma maior taxa de mortalidade por câncer da mama (18,3% vs. 12,1%; $p=0,001$) comparado com aquelas de mais de 40 anos. Quando a análise foi ajustada para outros fatores prognósticos e

estratificada por faixa etária, as mulheres mais jovens eram mais propensas a morrer de câncer de mama, em comparação com mulheres mais velhas, se diagnosticadas com estágio I da doença (RR 1,44; IC 95% 1,27-1,64) ou estágio II (RR 1,09; 95% CI 1,03-1,15).

2.2 FATORES DE RISCO ASSOCIADOS AO CÂNCER DE MAMA

2.2.1. Variáveis Reprodutivas e Exposição Hormonal

O fato de pertencer ao sexo feminino constitui o fator de risco mais importante para o desenvolvimento do câncer de mama (Batiston *et al.*, 2011). Embora homens possam apresentar este tipo de câncer, a doença é pelo menos 100 a 150 vezes mais frequente entre as mulheres. Isto se deve à maior quantidade de tecido mamário e à sua exposição ao estrogênio (Fletcher, 2003).

Grande parte dos fatores de riscos para cânceres de mama estão relacionados à vida reprodutiva da mulher. Esses fatores incluem história de menarca precoce (idade da primeira menstruação menor que 12 anos), menopausa tardia (após os 55 anos), primeira gravidez após os 30 anos, nuliparidade, não amamentação ou menor duração da amamentação, uso de contraceptivos orais (estrogênio-progesterona) e terapia de reposição hormonal pós-menopausa (estrogênio-progesterona) (Lodha *et al.*, 2011; Urban *et al.*, 2012; Msolly *et al.*, 2013; Rozenberg *et al.*, 2013; Shamsi *et al.*, 2013; IARC, 2016). Todos esses fatores contribuem para a exposição excessiva ao hormônio estrogênio durante a vida, o que indica que esta exposição tem um papel importante na etiologia do câncer de mama (Yager, 2000).

Sabe-se que o estrogênio tem um importante papel no desenvolvimento do câncer de mama ao estimular os receptores de estrogênio, induzindo as divisões celulares e o crescimento do tecido mamário. 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. Por isso, qualquer fator que leve a um aumento nos níveis de estrógenos poderá levar também ao aumento no risco de desenvolvimento de câncer de mama (Feigelson e Henderson, 1996).

2.2.2 Desreguladores Endócrinos

Compostos químicos xenobióticos que podem interagir e alterar o funcionamento do

sistema endócrino são chamados de disruptores ou interferentes endócrinos (De Coster *et al.*, 2012). Com base em informações disponíveis na literatura, foram elaboradas, por várias organizações mundiais, listas de substâncias químicas suspeitas de causar desregulação do sistema endócrino (CEC, 2007; OMS, 2013). Entre estas substâncias estão numerosos pesticidas, como os organoclorados, as bifenilas policloradas (PCBs), bisfenol-A (BPA) e outros compostos fenólicos, ftalatos, dioxinas, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, solventes, tinturas de cabelo, parabenos, filtros solares, alguns metais, detergentes, alguns aditivos, etc. (De Coster *et al.*, 2012; UNEP, 2012). Muitas destas substâncias podem interferir na síntese e ação dos estrogênios endógenos, e por isso acredita-se que possam contribuir para o desenvolvimento do câncer de mama (Jenkins *et al.*, 2012). Entretanto, ainda existem lacunas na literatura que limitam o entendimento do impacto dos disruptores endócrinos no sistema reprodutivo humano (Gray *et al.*, 1997; Crain *et al.*, 2008).

2.2.3. Dieta e Obesidade

A dieta composta por alto consumo de gorduras saturadas e gorduras totais de origem animal, rica em carnes, álcool e baixo consumo de frutas, verduras e legumes têm sido considerados fatores de risco para o desenvolvimento da neoplasia de mama. No entanto, os resultados encontrados nos estudos epidemiológicos que investigaram a associação entre dieta e o câncer de mama são controversos (Willet, 2001; Xia *et al.*, 2015). 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 (Kotepui, 2016).

Quanto à associação entre a obesidade e o câncer de mama, a *World Cancer Research Fund e American Institute for Cancer Research* estabelecem que a gordura corporal total é um convincente fator de risco para mulheres na pós-menopausa, enquanto a gordura abdominal e o ganho de massa corporal na idade adulta são prováveis fatores de risco (WCRF; AICR, 2010). Além disso, mulheres obesas na pós-menopausa, são mais propensas a apresentarem tumores de maior grau, com envolvimento dos linfonodos axilares e pior prognóstico, com risco 30,0% maior de mortalidade (Park *et al.*, 2014; Song *et al.*, 2008). Todavia, na pré-menopausa, a gordura corporal total é reconhecida como provável fator de proteção (WCRF; AICR, 2010), porém os mecanismos para explicar essa associação ainda não estão claros. Estudos sugerem que há uma tendência de mulheres jovens obesas terem ciclos menstruais

mais longos e anovulatórios, reduzindo os níveis de estrogênios e progesterona circulatórios, o que acarretaria menor exposição a esses hormônios que possuem toxicidade à glândula mamária e estimulam a carcinogênese (James *et al.*, 2015).

Os mecanismos pelos quais a obesidade influencia o risco de câncer de mama, na pós-menopausa, ainda não estão totalmente estabelecidos (Calle e Kaaks, 2004), mas existem vários mecanismos propostos para explicar essa associação. Pesquisadores atribuem essa associação à maior expressão da enzima aromatase no tecido adiposo, a qual se torna a principal fonte de estrogênio, após a menopausa, por converter precursores androgênicos em estrogênio livre bioativo e possuir efeito anti-apoptótico, pró-angiogênico e indutor da proliferação celular em células tumorais, via ligação com o receptor de estrogênio (ER) nas células mamárias (Costa-Osório *et al.*, 2009; Le *et al.*, 2012; Amadou *et al.*, 2013; Gallagher e Leroith, 2013; Pergola e Silvestris, 2013; Rohan *et al.*, 2013).

O consumo de álcool, como citado anteriormente, inclusive em quantidades moderadas, tem sido igualmente associado ao risco de câncer de mama. Em um estudo prospectivo multicêntrico, Park e colaboradores (2013) demonstraram uma associação entre o consumo moderado de álcool e o risco de câncer de mama em diversos grupos étnicos, incluindo afro-americanos (*Hazard Ratio*, HR 1,04; IC 95% 1,01-1,07), japoneses americanos (HR 1,08; IC 95% 1,01-1,15), latinos (HR 1,05; IC 95% 1,00-1,11) e brancos (HR 1,04; IC 95% 1,02-1,07), porém, não em nativos havaianos (HR 0,98; IC 95% 0,91-1,05). Nos Estados Unidos, um estudo realizado numa coorte de enfermeiras encontrou associação entre o consumo de álcool entre a menarca e a primeira gravidez e maior risco de câncer de mama (Liu *et al.*, 2013). A ingestão de álcool tem sido associada ao aumento da concentração sérica do estrogênio endógeno circulante. Uma vez que a exposição ao estrogênio estimula os receptores hormonais das glândulas mamárias a entrarem em processo mitótico, acredita-se que a ingestão de álcool pode contribuir diretamente para o aumento do risco de desenvolvimento do câncer de mama (Singletary e Gapstur, 2001; Dorgan *et al.*, 2001).

2.2.4. Outros Fatores de Risco não Genéticos

De acordo com a maioria dos estudos epidemiológicos, o fumo parece não ser um fator de risco para o desenvolvimento do câncer de mama. No entanto, alguns estudos apontam o risco de câncer de mama na pré-menopausa como sendo maior em mulheres que começaram a fumar antes dos 18 anos, quando comparado às não fumantes (Nyante *et al.*,

2014, Rosenberg *et al.*, 2013).

A história progressiva de doença benigna da mama é um fator independente de risco para câncer de mama (Hartmann *et al.*, 2005). O risco varia conforme a presença ou não de alterações de tipo proliferativo na histopatologia. Na presença de hiperplasia atípica o risco aumenta consideravelmente, podendo ser até cinco vezes maior, quando associado à densidade mamária alta, e podendo também estar aumentado com hiperplasia sem a presença de atipia (Tice *et al.*, 2013).

Há uma associação bem estabelecida entre exposição à radiação ionizante e câncer de mama. O risco de câncer de mama é inversamente proporcional à idade da exposição à radiação, e o aparecimento do mesmo pode acontecer tanto na pré-menopausa, nas mulheres tratadas para linfoma de Hodgkin, quanto na pós-menopausa, com a maioria das exposições (Carmichael *et al.*, 2003, Bhatia *et al.*, 1996). O risco aumenta com exposição a doses altas e menor idade e o risco permanece por tempo prolongado, mais de 25 anos, após o tratamento (Bhatia *et al.*, 1996, Travis *et al.*, 2003).

Os campos eletromagnéticos de muito baixa frequência (ELF-EMF) são campos gerados onde existe produção, distribuição e utilização de energia elétrica. A provável associação entre os ELF-EMF e diversos tipos de neoplasia como câncer de cérebro, leucemia e câncer de mama tem sido discutida desde os anos 80 (Li *et al.*, 2013). Numa meta-análise com 23 estudos publicados entre 1990 e 2010, foi sugerida uma associação entre a exposição a ELF-EMF e câncer de mama em mulheres pré-menopáusicas (*odds ratio*, OR 1,11; IC 95% 1,00-1,23) e com receptores de estrogênios positivos (OR 1,11; IC 95% 1,03-1,20) (Chen *et al.*, 2006). Entretanto, um estudo caso-controle dentro de uma coorte de 267.400 trabalhadores da área têxtil na China, não encontrou associação entre exposição a campos eletromagnéticos e câncer de mama (HR 1,03; IC 95% 0,87-1,21) (Li *et al.*, 2013).

2.2.5. Fatores de Risco Genéticos

2.2.5.1 Câncer de Mama Hereditário

Atualmente, estima-se que apenas 5-10% do número total dos casos de câncer de mama sejam hereditários (Lynch *et al.*, 2013). Em estudo de revisão realizado pelo *Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer* (2001), verificou-se que oito em

cada nove mulheres diagnosticadas não apresentavam antecedentes familiares de neoplasia de mama. Ortega-Jácome e colaboradores (2010) realizaram um estudo exploratório sobre câncer de mama em mulheres jovens no Rio de Janeiro. Em uma série de 110 casos diagnosticados em mulheres com idade compreendida entre 20 a 35 anos, cerca de 71% dos casos foram classificados como esporádicos por não relatarem antecedentes familiares de câncer de mama, ovário ou próstata.

No caso dos cânceres hereditários, apesar de serem responsáveis por uma pequena parcela dentre todos os casos de câncer de mama, os indivíduos afetados podem ter um risco de 40% a 68% maior de desenvolverem a referida neoplasia (alta penetrância). Este é o caso dos indivíduos que possuem mutações nos genes *BRCA1* ou *BRCA2*, fazendo com que estas variáveis genéticas sejam consideradas os fatores de risco hereditários de maior magnitude para o câncer de mama que se conhecem nos dias de hoje (Fernandes *et al.*, 2016; Antoniou, 2003; Chen *et al.*, 2006).

BRCA1 e *BRCA2* são genes supressores tumorais, pois a plena atividade das proteínas codificadas por estes genes estão relacionadas a vias importantes de reconhecimento de danos no DNA, reparo de DNA, controle do ciclo celular, regulação da transcrição e remodelação da cromatina. Assim, mutações ocorridas nestes genes podem, dentre outras alterações celulares, acarretar o surgimento e o desenvolvimento da neoplasia de mama (Friedenson, 2005), sendo 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).

Outros genes supressores de tumor de alta penetrância foram identificados e são igualmente importantes no risco para o câncer de mama hereditário, embora correspondam a uma parcela menor dos casos. Dentre esses estão *TP53* (Malkim, 1990), *PTEN* (Lynch *et al.*, 1997), *STK11* (Hemminki *et al.*, 1998; Jenne *et al.*, 1998), *LKB1* e *MSH2* ou *MLH1* (Szpirer e Szpirer, 2007).

O gene *TP53* é um importante gene supressor tumoral envolvido na regulação do ciclo celular, resposta celular a estresse genotóxico e não-genotóxico, além de inibir a proliferação de células em tais condições. Os padrões de mutações germinativas do gene *TP53* estão associados 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 (Moura-Gallo *et al.*, 2005; Petitjean *et al.*, 2007).

No gene *PTEN* as mutações são raras, no entanto são associadas com a Síndrome de Cowden (Hobert e Eng, 2009). Aproximadamente 30% das mulheres portadoras de mutação

no gene *PTEN* desenvolvem câncer de mama (risco cumulativo de 25 a 50% na segunda década de vida). Outros tumores frequentemente diagnosticados em mulheres com mutação nesse gene são o adenocarcinoma de endométrio e os carcinomas de tireóide (CGAN, 2012). O gene *PTEN* é um supressor tumoral que codifica para uma tirosina fosfatase que atua na manutenção do controle de proliferação celular (Wang e Jiang, 2008).

O *LKB1* é um gene de alta penetrância que funciona principalmente na inibição da via mTOR. O mTOR é uma proteína serina-treonina quinase que regula o crescimento, proliferação, motilidade, sobrevivência celular, síntese de proteínas, autofagia e transcrição. Quando ocorrem mutações germinativas neste gene caracteriza-se a Síndrome de Peutz-Jeghers, associado a um risco 30%-50% maior de desenvolvimento do câncer de mama (Armes *et al.*, 1999; Szpirer e Szpirer, 2007)

Os genes *MLH1* e *MSH2* são genes de reparo celular que estão relacionados à Síndrome de Lynch. Estudos epidemiológicos sugerem que o câncer de mama hereditário faz parte dessa síndrome que parece estar relacionada com a ausência das proteínas MSH2 e MLH1 (Shanley *et al.*, 2009).

Alguns genes supressores de tumor foram associados ao câncer de mama hereditário, embora apresentem uma menor penetrância, são eles: *ATM* (Savitsky *et al.*, 1995) e *CHEK2* (Bell *et al.*, 2000; Meijers-Heijboer *et al.*, 2002). O gene *ATM* desempenha um papel na reparação do DNA. Mutações somáticas neste gene estão ligadas a desordens classificadas como ataxia-telangiectasia, que está associada com instabilidade genômica e um risco aumentado para diversas neoplasias, incluindo o câncer de mama (Savitsky *et al.*, 1995). Por ser uma síndrome recessiva, uma mutação heterozigótica não conduz à ataxia-telangiectasia, mas, ainda assim, leva a um risco 2-5 vezes maior de desenvolver o câncer de mama (Renwick *et al.*, 2006; Thompson *et al.*, 2005).

O *CHEK2* é um gene supressor de tumor que codifica uma proteína quinase envolvida na reparação de danos no DNA. A mutação *CHEK2*1100delC* leva a síntese de uma proteína não funcional, permitindo a multiplicação celular mesmo em presença de danos na molécula de DNA. O risco de desenvolver câncer de mama em decorrência da mutação nesse gene é 2 vezes maior para as mulheres que têm tanto a mutação quanto história familiar da neoplasia, quando comparado a população em geral (Cybulski *et al.*, 2011).

Por fim, outra classe de genes de alta penetrância que podem causar cânceres hereditários é a classe dos proto-oncogenes (Sahlin *et al.*, 2007). Nesta classe, primariamente conhecida como importante no controle da embriogênese, está o gene *TWIST1* responsável

pela síndrome de Saethre-Chotzen, associado a uma alta incidência de câncer de mama (Sahlin *et al.*, 2007).

2.2.5.2 Polimorfismos Genéticos

A maioria das variações genéticas dos genes de baixa penetrância que contribuem para o câncer de mama esporádico é desconhecida (Balmain *et al.*, 2003) e mesmo nos casos de câncer de mama hereditários, embora os determinantes genéticos para o desenvolvimento dessas neoplasias possam ser identificados através de uma mutação germinativa, os fatores determinantes para a idade de início da doença e a variabilidade clínica existente entre indivíduos com essas mutações ainda são ignorados (Punales *et al.*, 2003). Provavelmente, mutações, polimorfismos e fatores ambientais interagem entre si e interferem no risco de desenvolvimento do câncer de mama (Balasubramanian *et al.*, 2004; Alberg *et al.*, 2005; Huang *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*, *MnSOD*, *SULT1A1*, *NQO1* e *PON1* por exemplo), controle do ciclo celular ou reparo de DNA (TP53), dentre outros (como o gene do receptor da vitamina D). Entretanto, os achados para a maioria destes polimorfismos ainda são inconclusivos (Low *et al.*, 2006).

Entre os genes polimórficos que codificam enzimas envolvidas no metabolismo de xenobióticos está o *PON1*. Os polimorfismos funcionais Leu⁵⁵Met e Gln¹⁹²Arg no gene já foram estudados em relação ao risco de câncer de mama, no entanto, os resultados ainda são conflitantes (Stevens *et al.*, 2006; Hussein *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2013). A enzima PON1, seus polimorfismos genéticos e suas implicações no desenvolvimento de câncer de mama serão abordados a seguir.

3 PARAOXONASE 1

A paraoxonase 1 (PON1) é uma enzima que contribui para a detoxificação de compostos organofosforados, hidrolisa peróxidos lipídicos, catalisa a quebra de fosfolipídeos oxidados desempenhando um importante papel na degradação de lipídeos e apresenta características antioxidantes, participando da eliminação de espécies reativas de oxigênio (Shih *et al.*, 1998; Humbert *et al.*, 1993). Sabe-se que a não detoxificação de compostos potencialmente cancerígenos e de espécies reativas de oxigênio, ao oxidar bases nitrogenadas no DNA, pode gerar mutações ou aberrações cromossômicas associadas a diversos tipos de neoplasias (Klaunig *et al.*, 2004; Cejas *et al.*, 2004).

Inicialmente, estudos moleculares demonstraram que a enzima PON1 era responsável pela hidrólise do paraoxon, produto do catabolismo do inseticida organofosforado parationa. Atualmente sabe-se que esta enzima também é capaz de hidrolizar outros substratos metabólitos de compostos organofosforados como oxon, diazon, ésteres aromáticos e lactonas aromáticas (Costa *et al.*, 2003; khersonsky *et al.*, 2005).

A PON1 é uma proteína esterase cálcio-dependente que circula na corrente sanguínea associada com a apolipoproteína A1 (apo-A1), o que indica uma interação específica com a HDL, e ainda desempenha o papel fisiológico de proteger a LDL contra modificações oxidativas (Primo-Parma *et al.*, 1996; Aviram *et al.*, 1998; Aviram *et al.*, 2004). Constitui-se de 355 aminoácidos, com massa molecular de 43-45 kDa e possui três cadeias de carboidratos correspondentes a 15,8% do seu peso (Da Lu, 1996; Mackness *et al.*, 1998; Lu *et al.*, 2006; Marsillach *et al.*, 2008). O centro da enzima apresenta dois íons de cálcio necessários para a estabilização da estrutura da molécula e atividade catalítica frente aos substratos (Harel *et al.*, 2004). O estudo do modelo tridimensional da enzima indica que a PON1 seria uma enzima ativada de modo interfacial e que partículas de HDL possuidoras de apo-A1 ligam-se à PON1 com maior afinidade, promovendo sua melhor estabilização (mais de 100 vezes) além de estimularem a sua atividade lipolactonase (Harel *et al.*, 2004; Gaidukov *et al.*, 2006).

Em humanos, a PON1 exibe uma ampla variação interindividual, de aproximadamente 10 a 40 vezes, na sua expressão e atividade entre os indivíduos saudáveis e estas variações podem ser explicadas por influências genéticas e ambientais (Costa *et al.*, 2005; Bhattacharyya *et al.*, 2008; Camps *et al.*, 2009). Os polimorfismos nas regiões codificadoras do gene são os principais fatores que afetam a atividade da PON1, sendo responsáveis por cerca de 12% da variação da atividade sérica entre os indivíduos (Kim *et al.*, 2012; Leviev *et*

al., 2000). No entanto, fatores como sexo, idade, fatores ambientais, incluindo dieta rica em alimentos gordurosos, obesidade, tabagismo, álcool, patologias (como doença renal, diabetes *mellitus*, doença cardiovascular, cirrose do fígado) e terapias farmacológicas com sinvastatina ou terapia de reposição hormonal, por exemplo, têm sido associados com a variação da atividade da PON1 (Costa *et al.*, 2003; Sutherland *et al.*, 2001; Tomas *et al.*, 2000).

O uso do tabaco tem sido apontado como um fator que contribui para a baixa concentração sérica e da atividade da enzima PON1 (James *et al.*, 2000). O consumo moderado de álcool (40 g por dia) aparentemente provoca um aumento na atividade da PON1, enquanto o consumo exacerbado (> 80 g por dia) tem efeito oposto (van der Gaag *et al.*, 1999; Rao *et al.*, 2003; Marsillach *et al.*, 2007). No que diz respeito à dieta, alimentos ricos em gorduras saturadas reduziram a atividade da PON1, enquanto as dietas ricas em azeite de oliva e gorduras monoinsaturadas aumentaram a atividade da PON1 no período pós-prandial (Sutherland *et al.*, 1999; Tomás *et al.*, 2000; Wallace *et al.*, 2001; Tomás *et al.*, 2001).

Estudos epidemiológicos sugerem que indivíduos com menor atividade da PON1 podem ter maior risco de desenvolvimento de doenças em que os danos oxidativos e a peroxidações lipídicas estão envolvidos, quando comparado com indivíduos que apresentam maior atividade da mesma (Ferretti *et al.*, 2005; Ferretti *et al.*, 2004). Além disso, estudos anteriores mostraram uma relação positiva entre a atividade da PON1 e as propriedades antioxidantes da HDL e que frente à baixa atividade da PON1, a HDL se comporta como partícula aterogênica e pró-inflamatória (Jaouad *et al.*, 2003; Navab *et al.*, 2006).

Estudos experimentais realizados com animais obesos demonstraram que a oxidação de LDL está associada com a baixa atividade antioxidante do conjunto enzima PON1/HDL (HDL-PON) e que as LDL podem ser internalizadas pelos adipócitos, o que contribui para o crescimento e aumento da massa do tecido adiposo (Mertens *et al.*, 2003; Marsella *et al.*, 2006;). Assim, sugere-se que os polimorfismos do gene PON1 que afetem a capacidade antioxidante da PON1 e da HDL, podem estar associados com a obesidade e com o desenvolvimento de doenças relacionadas ao estresse oxidativo (Salazar *et al.*, 2010).

3.1 O GENE *PON1*

O gene *PON1* pertence a uma família multigênica que inclui *PON2* e *PON3*, está localizado no braço longo do cromossomo 7 humano (7q21-23), possui nove éxons, oito introns e vários polimorfismos têm sido identificados nas suas regiões promotora e

codificante (Da Lu *et al.*, 1999; Mackness *et al.*, 2002; Campo *et al.*, 2004). Os polimorfismos da região codificante do gene *PON1* mais estudados encontram-se no códon 55, onde a Leucina é substituída por Metionina (Leu⁵⁵Met) e no códon 192, onde há uma substituição dos aminoácidos Glutamina por Arginina (Gln¹⁹²Arg) (Li *et al.*, 2003; Deakin *et al.*, 2004; Ng *et al.*, 2005; Dai-Hua Fang *et al.*, 2012).

O polimorfismo Leu⁵⁵Met está associado a alterações na concentração sérica da PON1 (Costa *et al.*, 2005). No entanto, tais alterações afetam de modo menos intenso e independente a atividade desta enzima quando comparado ao polimorfismo Gln¹⁹²Arg (Mackness *et al.*, 2003; Mackness *et al.*, 2000). Foi observado que portadores do alelo Leu⁵⁵ apresentaram maior atividade plasmática da PON1 quando comparado aos portadores do alelo ⁵⁵Met. A atividade mais baixa da PON1 pode ter sido causada por uma diminuição da estabilidade da proteína polimórfica (Dai-Hua Fang *et al.*, 2012).

A variação polimórfica Gln¹⁹²Arg influencia a atividade da enzima por estar associada com a eficiência catalítica diante de alguns substratos (Rainwater *et al.*, 2009; Richter *et al.*, 2009). Em alguns estudos foi demonstrado que os substratos soman, sarin e diazoxon são rapidamente hidrolizados pela aloenzima Gln¹⁹², entretanto, a aloenzima polimórfica ¹⁹²Arg teve uma ação de hidrólise do substrato paraoxon mais eficiente, quando comparada à forma selvagem. Também foi relatado que estes polimorfismos afetam a capacidade da enzima PON1 de hidrolisar lipídeos oxidados (Li *et al.*, 2000; Draganov e La Du, 2004; Humbert *et al.*, 1993; Richter *et al.*, 2009).

A presença de cada um destes polimorfismos no gene *PON1* tem mostrado diferentes fenótipos. Estas alterações fenotípicas têm sido relacionadas a várias patologias, tais como diabetes *mellitus* tipo 2, doença coronariana, acidente vascular cerebral, síndromes metabólicas, e distúrbios neurológicos, entre outras (Mackness *et al.*, 2001; Hofer *et al.*, 2006; Schiavon *et al.*, 2007; Can *et al.*, 2008; Flekac *et al.*, 2008; Shin, 2009; Regieli *et al.*, 2009). Além disso, devido às características antioxidantes e a contribuição na detoxificação de compostos xenobióticos potencialmente cancerígenos da enzima PON1, os polimorfismos genéticos do gene *PON1* podem contribuir para o aumento da susceptibilidade ao desenvolvimento de vários tipos de câncer, dentre eles o câncer de próstata, cérebro, colorretal, ovário e mama (Goswami *et al.*, 2009; Hussein *et al.*, 2011; Dai-Hua Fan *et al.*, 2011).

3.2. EVIDÊNCIAS EPIDEMIOLÓGICAS DE ASSOCIAÇÃO DOS POLIMORFISMOS *LEU⁵⁵MET* E *GLN¹⁹²ARG* DO GENE *PONI* COM CÂNCER DE MAMA

Nas últimas décadas alguns estudos epidemiológicos investigaram a associação entre os polimorfismos *Leu⁵⁵Met* e *Gln¹⁹²Arg* do gene *PONI* e o risco de câncer de mama (Stevens *et al.*, 2006; Antognelli *et al.*, 2009; Naidu *et al.*, 2010; Hussein *et al.*, 2011; Saadat *et al.*, 2011) (Tabela 1).

No que se refere ao polimorfismo *Leu⁵⁵Met*, seis estudos e uma meta-análise que contempla esses mesmos estudos, apontaram para uma associação positiva, estatisticamente significativa, e com diferenças discretas nas estimativas de risco de câncer de mama. O estudo caso-controle de base hospitalar no Egito com 100 pacientes e 100 controles, com idade entre 40 e 60 anos, identificou um aumento de risco para o genótipo *Met/Met* (OR 2,07; IC 95% 1,17-3,64) (Hussein *et al.*, 2011). Em um estudo de coorte realizado na América do Norte, foi observado um aumento no risco de câncer de mama associado ao genótipo *Met/Met* entre mulheres de 50 a 74 anos (OR 1,58; IC 95% 1,05-2,37) (Steven *et al.*, 2006). Na Malásia uma análise incluindo 387 pacientes com câncer de mama e 252 controles, de faixas etárias variadas, observou que as mulheres com o genótipo *Met/Met* tinham maior risco de câncer de mama (OR 2,23; IC 95% 1,219-4,075) (Naidu *et al.*, 2010). Antognelli e colaboradores (2009), em estudo na Itália com 547 casos e 544 controles, observaram que o genótipo *Leu/Met* estava associado com aumento significativo do risco de câncer de mama (OR 1,80; IC 95% 1,36-2,56), particularmente nas mulheres na pós-menopausa (OR 2,23; IC 95% 1,39-3,40). Nesse mesmo estudo, o genótipo *Met/Met* também mostrou associação com o câncer de mama (OR 2,81; IC 95% 1,95-3,64), particularmente na pré-menopausa (OR 3,83; IC 95% 2,15-5,87). Stevens e colaboradores (2006), em um estudo caso-controle com mulheres americanas de 50 a 74 anos de idade, relataram que aquelas com genótipo *Met/Met* tinham maior risco de desenvolver câncer de mama (OR 1,58; IC 95% 1,05-2,37). Na china, pesquisadores realizaram um estudo incluindo 365 casos 378 controles e encontraram um aumento no risco de câncer de mama associado ao polimorfismo *Leu⁵⁵Met* para mulheres na pré e na pós-menopausa que apresentavam os genótipos *Leu/Met versus Leu/Leu*, *Met/Met versus Leu/Leu* e *Leu/Met e Met/Met versus Leu/Leu* (OR 2.92; IC 95% 1.86-4.60, OR 5.48; IC 95% 1.1825.58 e OR 3.08; IC 95% 1.99-4.78, respectivamente) (Wu *et al.*, 2017). Por fim, em um estudo de meta-análise incluindo os seis estudos anteriormente citados, Saadat e colaboradores (2011) encontraram o polimorfismo *Leu⁵⁵Met* associado ao aumento do risco

de câncer de mama para os genótipos Leu/Met *versus* Leu/Leu e Met/Met *versus* Leu/Leu (OR 1,32; IC 95% 1,10-1,58 e OR 2,16; IC 95% 1,75- 2,68, respectivamente).

Quanto ao polimorfismo Gln¹⁹²Arg e o risco de câncer de mama, alguns estudos epidemiológicos sugerem um efeito de proteção, porém sem significância estatística, o estudo conduzido por Wu e colaboradores (2017) não mostra associação, mas o estudo realizado por Antognelli e colaboradores (2009) e a meta-análise de Saadat e colaboradores (2011) sugerem associação entre o polimorfismo Gln¹⁹²Arg e câncer de mama com significância estatística. O primeiro estudo relatou risco de câncer de mama significativamente menor entre mulheres com os genótipos Gln/Arg e Arg/Arg (OR 0,55; IC 95% 0,30-0,95) em comparação com o Gln/Gln (Antognelli *et al.*, 2009). No estudo de meta-análise, o polimorfismo Gln¹⁹²Arg mostrou-se associado com uma redução significativa no risco de câncer de mama em todos os estudos analisados, e para todos os genótipos: Gln/Arg *versus* Gln/Gln (OR 0,88; IC 95% 0,42-0,69), Arg/Arg *versus* Gln/Gln (OR 0,60; IC 95% 0,46-0,79) e Gln/Arg + Arg/Arg *versus* Gln/Gln (OR 0,57; IC 95% 0,49-0,67) (Saadat *et al.*, 2011).

No estudo caso-controle de base hospitalar realizado no Egito foi encontrada uma estimativa de risco de 0,82, porém sem significância estatística (IC 95% 0,47-1,43), em mulheres que apresentavam o genótipo Gln/Arg ou Arg/Arg em comparação com Gln/Gln (Hussein *et al.*, 2011). No estudo caso-controle realizado na América do Norte, com mulheres de 50 a 74 anos, foram observadas estimativas de risco não estatisticamente significativas de 0,84 (IC 95% 0,63-1,10) e 0,81 (IC 95% 0,50-1,28) para os genótipos Gln/Arg e Arg/Arg, respectivamente, em comparação com o genótipo Gln/Gln (Stevens *et al.*, 2006). Wu e colaboradores (2017) na china, realizaram um estudo incluindo 365 casos 378 controles e encontraram um aumento no risco de câncer de mama associado ao polimorfismo Gln¹⁹²Arg para mulheres na pré e na pós-menopausa que apresentavam os genótipos Gln/Arg *versus* Gln/Gln, Arg/Arg *versus* Gln/Gln e Gln/Arg e Arg/Arg *versus* Gln/Gln (OR 1,08; IC 95% 0,79-1,47, OR 1,06; IC 95% 0,69-1,63 e OR 1,07; IC 95% 0,80-1,43, respectivamente). Ainda sobre o polimorfismo Gln¹⁹²Arg, no estudo caso-controle conduzido na Malásia, foi encontrado para os genótipos Gln/Arg e Arg/Arg, estimativas de risco, novamente sem significância estatística, de 0,79 (IC 95% 0,57-1,1) e 0,76 (IC 95% 0,41-1,38), respectivamente, comparado com o genótipo Gln/Gln (Naidu *et al.*, 2010).

Tabela 1: Estudos epidemiológicos que exploraram a associação entre os polimorfismos Leu⁵⁵Met e Gln¹⁹²Arg e do gene *PON1* e o risco de câncer de mama.

Estudo	Local	Tamanho (n)	Faixa etária	L ⁵⁵ M OR (IC 95%)	Observações	Q ¹⁹² R OR (IC 95%)	Observações
Stevens <i>et al.</i> , 2006	EUA	502 casos 502	50 a 74	1,23 (0,92-1,65)	Leu/Met <i>versus</i> Leu/Leu	0,81(0,63-1,10)	Gln/Arg <i>versus</i> Gln/Gln
Caso-controle		controles		1,58 (1,05-2,37)	Met/Met <i>versus</i> Leu/Leu	0,84 (0,63-1,10)	Arg/Arg <i>versus</i> Gln/Gln
Antognelli <i>et al.</i> , 2009	Itália	547 casos 544	Pré e Pós-menopausa	2,42 (1,73-2,99)	Met/Met e Leu/Met <i>versus</i> Leu/Leu; ajustado por: idade, idade na menarca, idade na primeira gravidez a termo, número de gravidezes a termo, história familiar de primeiro grau de câncer de mama, história de lesão benigna da mama, uso de contraceptivos orais, consumo de álcool, tabagismo, escolaridade e uso de estrogênio na pós-menopausa.	0,55 (0,30-0,95)	Arg/Arg e Gln/Arg <i>versus</i> Gln/Gln; ajustado por: idade, idade na menarca, idade na primeira gravidez a termo, número de gravidezes a termo, história familiar de primeiro grau de câncer de mama, história de lesão benigna da mama, uso de contraceptivos orais, consumo de álcool, tabagismo, escolaridade e uso de estrogênio na pós-menopausa.
Caso-controle		controles	Pré-menopausa	2,67 (1,62-4,15)	Met/Met e Leu/Met <i>versus</i> Leu/Leu	0,68 (0,47-1,47)	Arg/Arg e Gln/Arg <i>versus</i> Gln/Gln
			Pré-menopausa	1,26 (0,66-2,39)	Leu/Met <i>versus</i> Leu/Leu	0,73 (0,51-1,43)	Gln/Arg <i>versus</i> Gln/Gln
			Pré-menopausa	3,83 (2,15-5,87)	Met/Met <i>versus</i> Leu/Leu	0,64 (0,40-1,44)	Arg/Arg <i>versus</i> Gln/Gln
			Pós-menopausa	2,59 (1,35-3,06)	Met/Met e Leu/Met <i>versus</i> Leu/Leu	0,05 (0,02-0,12)	Arg/Arg e Gln/Arg <i>versus</i> Gln/Gln
			Pós-menopausa	2,23 (1,39-3,40)	Leu/Met <i>versus</i> Leu/Leu	0,12 (0,01-0,33)	Gln/Arg <i>versus</i> Gln/Gln
			Pós-menopausa	2,06 (1,30-2,97)	Met/Met <i>versus</i> Leu/Leu	0,08 (0,01-0,14)	Arg/Arg <i>versus</i> Gln/Gln
Naidu <i>et al.</i> , 2010	Malásia	387 casos 252	Várias faixas etárias	1,43 (1,04-1,97)	Met/Met e Leu/Met <i>versus</i> Leu/Leu.	0,79 (0,57-1,1)	Arg/Arg e Gln/Arg <i>versus</i> Gln/Gln
Caso-controle		controles		2,33 (1,28-4,24)	Leu/Met <i>versus</i> Leu/Leu	0,76 (0,57-1,10)	Gln/Arg <i>versus</i> Gln/Gln
				1,29 (0,93-1,81)	Met/Met <i>versus</i> Leu/Leu	0,76 (0,57-1,10)	Arg/Arg <i>versus</i> Gln/Gln

Tabela 1: Continuação.

Estudo	Local	Tamanho (n)	Faixa etária	L ⁵⁵ M OR (IC 95%)	Observações	Q ¹⁹² R OR (IC 95%)	Observações
Hussein <i>et al.</i> , 2011 Caso- controle	Egito	100 casos 100 controles	40 a 60	2,29 (1,20-4,38)	Met/Met e Leu/Met <i>versus</i> Leu/Leu	0,82 (0,47-1,43)	Arg/Arg e Gln/Arg <i>versus</i> Gln/Gln
				0,88 (0,45-1,73)	Leu/Met <i>versus</i> Leu/Leu	0,96 (0,55-1,68)	Gln/Arg <i>versus</i> Gln/Gln
				2,07 (1,17-3,64)	Met/Met <i>versus</i> Leu/Leu	0,64 (0,25-1,63)	Arg/Arg <i>versus</i> Gln/Gln
Wu <i>et al.</i> , 2017 Caso- Controle	China	365 casos 378 controles	Pré e Pós- menopausa	2,92(1,86-4,60)	Leu/Met <i>versus</i> Leu/Leu	1,08(0,79-1,47)	Gln/Arg <i>versus</i> Gln/Gln
				5,48(1,18-5,58)	Met/Met <i>versus</i> Leu/Leu	1,06(0,69-1,63)	Arg/Arg <i>versus</i> Gln/Gln
			Pré-menopausa	3,08(1,99-4,78)	Leu/Met e Met/Met <i>versus</i> Leu/Leu	1,07(0,80-1,43)	Gln/Arg e Arg/Arg <i>versus</i> Gln/Gln
				2,79(1,38-5,63)	Leu/Met <i>versus</i> Leu/Le	1,00(0,65-1,54)	Gln/Arg <i>versus</i> Gln/Gln
			Pré-menopausa	-	Met/Met <i>versus</i> Leu/Leu	1,04(0,57-1,90)	Arg/Arg <i>versus</i> Gln/Gln
				2,99(1,48-5,97)	Leu/Met e Met/Met <i>versus</i> Leu/Leu	1,01(0,68-1,51)	Gln/Arg e Arg/Arg <i>versus</i> Gln/Gln
			Pós-menopausa	3,16(1,74-5,76)	Leu/Met <i>versus</i> Leu/Leu	1,17(0,75-1,85)	Gln/Arg <i>versus</i> Gln/Gln
Pós-menopausa	4,74(0,97-3,24)	Met/Met <i>versus</i> Leu/Leu	1,09(0,59-2,03)	Arg/Arg <i>versus</i> Gln/Gln			
Pós-menopausa	3,32(1,88-5,88)	Leu/Met e Met/Met <i>versus</i> Leu/Leu	1,15(0,76-1,76)	Gln/Arg e Arg/Arg <i>versus</i> Gln/Gln			

3.3. *PON1* E OBESIDADE

A dislipidemia primária é uma doença relacionada à obesidade e se caracteriza por um distúrbio nos níveis de lipídeos e/ou lipoproteínas que desencadeiam o aumento de triglicerídeos, diminuição dos níveis de HDL e composição anormal de LDL (Howard *et al.*, 2003).

Vários estudos epidemiológicos já demonstraram que modificações no perfil lipídico e no metabolismo das lipoproteínas, hipercolesterolemia, altos níveis de triglicerídeos e de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e baixos níveis de lipoproteínas de alta densidade (HDL) são frequentemente observados em indivíduos obesos (Nieves *et al.*, 2003; Despres *et al.*, 1999). Também foram observadas alterações da heterogeneidade de lipoproteínas (Tchernof *et al.*, 1996) e na composição de lipoproteínas A e apolipoproteínas nesses indivíduos (James *et al.*, 1997).

A *PON1* é uma proteína que circula na corrente sanguínea associada com a apolipoproteína A1 (apo-A1) e isso indica que há uma interação específica desta com a HDL (Primo-Parma *et al.*, 1996; Aviram *et al.*, 1998; Aviram *et al.*, 1999; Noto *et al.*, 2001). Uma vez que os níveis séricos da HDL estejam diminuídos, a atividade da enzima *PON1* associada a HDL pode tornar-se menor em indivíduos obesos, comparado aos indivíduos saudáveis e conseqüentemente essa baixa atividade da *PON1* pode representar um risco maior para o desenvolvimento de doenças em que os danos oxidativos e a peroxidação lipídica estão envolvidas (Durrington *et al.*, 2001).

Usando modelos animais, demonstrou-se que a oxidação da LDL na obesidade está associada à insuficiência de defensas antioxidantes de HDL, como a diminuição da atividade do HDL associado a enzimas paraoxonases (HDL-*PON*) e lecitina: colesterol aciltransferase (Mertens *et al.*, 2003). Além disso, acredita-se que o aumento dos danos oxidativos também pode estar relacionado à diminuição de propriedades antioxidantes, uma vez que baixos níveis de β -caroteno e α -tocopherol foram observados no soro e em moléculas de LDL de pacientes obesos (Kuno *et al.*, 1998; Myara *et al.*, 2003).

Um estudo realizado por Ferret e colaboradores (2005), mostrou que a atividade da enzima paraoxonase associada a HDL isolada do plasma de indivíduos obesos é significativamente menor do que em indivíduos saudáveis. Além disso, os autores observaram modificações da composição lipídica nos obesos, com uma diminuição na porcentagem do conteúdo de proteínas, aumento da porcentagem de colesterol e proteína tireoglobulina / proteína e proporções de colesterol / proteína. Níveis mais elevados de hidroperóxidos lipídicos foram observados em HDL ou LDL de indivíduos

obesos em comparação com os indivíduos saudáveis. Alterações de composição em HDL e diminuição da atividade HDL-PON foram observadas em indivíduos obesos, mesmo na ausência de modificações do colesterol HDL (Mackness *et al.*, 1991).

Algumas hipóteses são consideradas para explicar a diminuição da atividade da PON1 associada a HDL em obesos comparado a indivíduos saudáveis. Sorenson e colaboradores (1990) demonstraram que a paraoxonase é uma enzima dependente de lipídios e a conformação da mesma dentro do ambiente hidrofóbico da HDL é crucial para sua atividade. Os fosfolipídios, especialmente aqueles com cadeias de ácidos graxos longos, estabilizam a enzima PON1 e são necessários para a ligação desta a superfície das lipoproteínas. Além disso, uma associação entre PON1, apolipoproteína A1 e clusterin foi demonstrado, sugerindo-se que essas apoproteínas também são necessárias para a sua estabilidade e atividade ótima (Blatter *et al.*, 1993).

Outra hipótese a ser considerada está relacionada a modificações significativas da composição química da HDL em indivíduos obesos. A Composição lipídica (percentagem de teor de lipídios e / ou produtos de peroxidação lipídica) e interações lipídicas-apoproteicas modulam as propriedades das lipoproteínas e a organização estrutural e fisicoquímica (Ferretti *et al.*, 2001). Portanto, modificações de composição na HDL de indivíduos obesos podem afetar a ligação da paraoxonase à superfície da HDL, resultando em diminuição da atividade enzimática (Sparks *et al.*, 1995).

Finalmente, a menor atividade da PON1 ligada à HDL em pacientes obesos poderia dever-se à presença de inibidores circulantes, tais como produtos de peroxidação lipídica. Esta hipótese é apoiada por estudos realizados por Aviram e colaboradores (1999), que utilizaram a proteína PON1 purificada, demonstrando que a LDL, a palmitoil araquidonil fosfatidilcolina, a lisofosfatidilcolina e o araquidonato de colesterilo oxidado comportaram-se como inativadores da atividade enzimática da PON1.

4 JUSTIFICATIVA

O câncer de mama é o tipo de câncer que mais acomete mulheres em todo mundo e nas últimas décadas. Estudos de tendência temporal têm sugerido aumento nas taxas de incidência e mortalidade por essa neoplasia entre mulheres jovens em várias partes do mundo, inclusive no Brasil. Além disso, relatos da literatura indicam que em mulheres jovens, as características clínico-patológicas e os prognósticos são menos promissores quando comparado a mulheres na pós-menopausa.

Por outro lado, os fatores de risco genéticos e ambientais que podem estar influenciando o desenvolvimento precoce do câncer de mama em mulheres jovens são pouco estudados. As mutações nos genes supressores de tumores ou nos proto-oncogenes, considerados eventos raros, são responsáveis por menos de 5% de todos os casos de câncer de mama. Já os 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 neoplasia. Entretanto, ainda hoje, são escassos os estudos que exploram a associação dos polimorfismos genéticos associados a neoplasia de mama em geral com câncer de mama em mulheres jovens. Alguns estudos epidemiológicos analisaram a associação dos polimorfismos Leu⁵⁵Met e Gln¹⁹²Arg do gene *PON1* com o câncer de mama, entretanto, existem controvérsias principalmente para o polimorfismo Gln¹⁹²Arg. Poucos estudos investigaram mulheres jovens, e nenhum estudo foi realizado na população brasileira. Ainda, o que se sabe em relação às interações desses polimorfismos com fatores de risco não genéticos, tais como obesidade e consumo de álcool, e o risco de câncer de mama é insuficiente. O gene *PON1* codifica a enzima paraoxonase 1 (PON1) que atua na detoxificação de compostos organofosforados, desempenha importante papel na degradação de lipídeos e apresenta características antioxidantes, participando desta forma da eliminação de espécies reativas de oxigênio. A não detoxificação de compostos potencialmente cancerígenos e de espécies reativas de oxigênio, ao oxidar bases nitrogenadas no DNA, pode gerar mutações ou aberrações cromossômicas associadas a diversos tipos de neoplasias, entre elas a neoplasia de mama. A PON1 apresenta uma ampla variação interindividual na sua expressão e atividade entre os indivíduos saudáveis e estas variações podem ser explicadas pela influência de seus polimorfismos genéticos e por variáveis ambientais.

Tendo em vista os aspectos mencionados, o presente estudo investigou a associação entre os polimorfismos Leu⁵⁵Met e Gln¹⁹²Arg do gene *PON1* e o risco de

câncer de mama em mulheres jovens brasileiras podendo contribuir para um melhor entendimento da etiologia do câncer de mama em mulheres jovens susceptíveis.

5 OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a magnitude de associação entre os polimorfismos genéticos Gln¹⁹²Arg e Leu⁵⁵Met no gene *PONI* e o risco de câncer de mama em mulheres jovens atendidas em hospitais públicos de referência na cidade do Rio de Janeiro.

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever a distribuição da frequência dos polimorfismos Leu⁵⁵Met e Gln¹⁹²Arg do gene *PONI* em casos de câncer de mama (<36 anos) e nos controles com patologias não neoplásicas, atendidas em hospitais públicos de referência, na cidade do Rio de Janeiro.
- Determinar a magnitude de associação entre os polimorfismos Leu⁵⁵Met e Gln¹⁹²Arg do gene *PONI* e o risco de câncer de mama em mulheres jovens (<36 anos) atendidas nos referidos hospitais.
- Determinar a magnitude de associação entre os polimorfismos Leu⁵⁵Met e Gln¹⁹²Arg do gene *PONI* e o risco de câncer de mama em mulheres jovens ajustado por fatores de risco ambientais selecionado

6 METODOLOGIA

6.1 ASPECTOS ÉTICOS

Este estudo faz parte de um projeto maior denominado “Fatores de risco associados a câncer de mama em mulheres jovens no Rio de Janeiro”, aprovado, pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca (ENSP) em nome do pesquisador Guillermo Patricio Ortega Jácome que realizou a coleta de casos e controles. Assim, todas as participantes do estudo foram entrevistadas, e forneceram uma amostra de sangue, após a leitura e assinatura do termo de Consentimento Livre e Esclarecimento (TCLE) (Ortega Jacome *et al.*, 2010). Posteriormente, com mudança do pesquisador responsável para o Dr. Sergio Koifman e da equipe (Rosalina Jorge Koifman, Leticia Rodrigues Melo e Sabrina da Silva Santos), em 2010, o CEP autorizou a análise de alguns polimorfismos genéticos: C609T do gene NQO1, CYP 17, CYP 19 (Santos 2013) e Leu⁵⁵Met e Gln¹⁹²Arg do gene *PONI*.

Seguindo as normas da Pós-graduação em Saúde Pública e Meio Ambiente, este projeto foi submetido ao CEP da ENSP e aprovado (parecer 1.880.197; CAAE 58868216.3.0000.5240); (Anexo 1). A partir da aprovação deste projeto foram, então, realizadas as genotipagens dos polimorfismos Leu⁵⁵Met e Gln¹⁹²Arg do gene *PONI*, no laboratório de Epidemiologia Molecular do Câncer da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca/ ENSP e análise estatística dos dados gerados.

6.2 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Este é um estudo analítico observacional do tipo caso-controle de base hospitalar.

6.3 POPULAÇÃO DE ESTUDO

A base de estudo é composta pela população de mulheres com 35 anos de idade ou menos que viviam na cidade do Rio de Janeiro/Brasil no período de 1/1/1999 a 31/12/2009. A amostra inicial para esta investigação foi composta por 266 mulheres com câncer de mama diagnosticado em idade menor que 36 anos, e igual número de controles sem antecedentes pessoais de câncer.

Entre os casos de câncer de mama elegíveis, aproximadamente, 49% foram

incluídos no estudo, 14,3% morreram logo após o diagnóstico em estágios avançados, 22,8% não puderam ser contatados por causa de mudança de endereço ou de número de telefone, 6,7% não apareceram para a entrevista agendada, 4,5% não estavam disponíveis como consequência do tratamento em curso e 2,7% não estavam dispostos a participar ou doar uma amostra de sangue.

Os controles foram selecionados nos hospitais Lagoa, Pró-Matre e INTO. Entre todas as mulheres convidadas, 66% (277) aceitaram participar no estudo como controle.

6.3.1 Definição de Casos

Foram definidos como casos de câncer de mama pacientes com neoplasia nas seguintes localizações anatômicas de acordo com a CID-O (Percy *et al.*, 1990): mamilo e aréola (C50.0), porção central da mama (C50.1), quadrante superior interno da mama (C50.2), quadrante inferior interno da mama (C50.3), quadrante superior externo da mama (C50.4), quadrante inferior externo da mama (C50.5), porção axilar da mama (C50.6), mama com lesão invasiva (C50.8) e neoplasia maligna da mama não especificada (C50.9). Os casos foram selecionados no Instituto Nacional de Câncer (INCA) no Rio de Janeiro. Por meio do serviço de arquivo médico e estatística foram identificadas as pacientes com idade de 18 a 35 anos, diagnosticadas e confirmadas microscopicamente com câncer de mama (CID C50.0 a C50.9) nos anos de 1999 a 2009. As participantes elegíveis foram contatadas por telefone, e agendada uma entrevista no hospital.

6.3.2 Definição de Controles

Os controles foram recrutados dentre pacientes internadas ou em atendimento ambulatorial e acompanhantes de três hospitais não oncológicos da rede pública de saúde da cidade do Rio de Janeiro: Hospital Pró-Matre, INTO e Hospital Federal da Lagoa. As mulheres que apresentaram história pregressa de câncer ou patologias associadas a disfunções endócrinas vinculadas a produção excessiva de estrogênio não foram elegíveis. Os controles foram pareados por frequência em relação à idade dos casos.

6.3.3 Critérios de Exclusão

Foi considerado critério de exclusão a incapacidade cognitiva para responder ao questionário.

6.4 COLETA DE DADOS

As variáveis que foram utilizadas neste estudo (Tabela 3) tiveram origem no questionário que foi desenvolvido e aplicado como parte do estudo maior, que contemplou indicadores antropométricos, informações sociodemográficas, histórico ocupacional, atividade física, questões sobre hábitos dietéticos, história de doença benigna na mama, história familiar de câncer, história reprodutiva, tabagismo, consumo de álcool, história de exposição à radiação ionizante, exposição a disruptores endócrinos e história clínica. O questionário foi padronizado, validado e aplicado por entrevistadores em casos e controles. A duração média de cada entrevista foi de 50 minutos.

6.5 VARIÁVEIS DO ESTUDO

Variável dependente: Diagnóstico de neoplasia maligna de mama.

Variáveis independentes:

- Variável de exposição de interesse: Polimorfismos Leu⁵⁵Met e Gln¹⁹²Arg do gene *PON1* (Tabela 2).

Tabela 2: Variáveis de exposição de interesse.

Variável	Tipo de variável / Observações
Variável	Tipo de variável / Observações
Polimorfismo PON1 55	Categórica: <i>Leu/Leu, Leu/Met e Met/Met</i>
Polimorfismo PON1 192	Categórica: <i>Gln/Gln, Gln/Arg e Arg/Arg</i>
Polimorfismo PON1 55 recessivo	Dicotômica: <i>Leu/Leu e Leu/Met / Met/Met</i>
Polimorfismo PON1 55 dominante	Dicotômica: <i>Leu/Leu / Leu/Met e Met/Met</i>
Polimorfismo PON1 192 recessivo	Dicotômica: <i>Gln/Gln e Gln/Arg / Arg/Arg</i>
Polimorfismo PON1 192 dominante	Dicotômica: <i>Gln/Gln /Gln/Arg e Arg/Arg</i>

Covariáveis coletadas (Tabela 3).

Tabela 3: Covariáveis utilizadas no presente estudo

Variável	Tipo de variável / Observações
Idade	Contínua (anos)
Cor	Dicotômica: branco ou não- branco
Etnia	Catagórica: Catagórica: branca, parda, mulata, negra, índia e outras
Escolaridade	Catagórica: analfabeta, 1º grau incompleto, 1º grau completo, 2º grau incompleto, 2º grau completo, nível superior
IMC aos 18 anos	Contínua
Gravidez	Dicotômica: sim ou não
Idade da primeira gravidez	Contínua
Gravidez a termo	Contínua
Amamentação	Dicotômica: sim ou não
Amamentação em meses	Contínua
Idade da menarca	Contínua
Fumo	Dicotômica: sim ou não
Idade que começou a fumar	Contínua (anos)
Idade que parou de fumar	Contínua (anos)
Quantidade de fumo	Contínua
História de câncer familiar	Dicotômica: sim ou não
História familiar de câncer de próstata	Dicotômica: sim ou não
História familiar de câncer de mama/ovário	Dicotômica: sim ou não
Uso de contraceptivos	Dicotômica: sim ou não
Idade que iniciou uso de contraceptivo	Contínua (anos)
Idade que parou uso de contraceptivo	Contínua (anos)
Tempo que usou contraceptivo	Contínua (meses)
Uso de bebida alcoólica	Dicotômica: sim ou não

6.6 GENOTIPAGEM DOS POLIMORFISMOS LEU⁵⁵MET E GLN¹⁹²ARG DO GENE *PONI*

Após a entrevista foram coletadas amostras de sangue periférico com anticoagulante (EDTA), que foram utilizadas para a extração de DNA através da técnica de “*Salting out*” (Miller *et al.*, 1988). Para a investigação dos polimorfismos Leu⁵⁵Met e Gln¹⁹²Arg do gene *PONI* foi adotada a metodologia utilizada por Humberto e colaboradores (1993), com pequenas modificações.

A PCR foi realizada com volume final de 25 µL, utilizando-se os oligonucleotídeos iniciadores descritos na Tabela 4. O produto da PCR foi submetido à eletroforese em gel de agarose 2% em solução Tris-borato de EDTA (TBE 1x). Os géis foram corados com GelredTM (0,07 µg/mL) e visualizados com a utilização de transiluminador de luz ultravioleta. Os fragmentos amplificados foram digeridos com 2U de enzima (*NlaIII* para análise da posição 55 e *AlwI* para análise da posição 192) por no mínimo 8 horas à 37°C. A análise dos produtos da digestão foi realizada em gel de agarose 3%, após a eletroforese, foi realizada a visualização dos fragmentos de DNA, através da utilização de transiluminador de luz ultravioleta.

Tabela 4: Sequência dos oligonucleotídeos iniciadores e tamanho dos fragmentos amplificados.

Primer	Sequência (5' – 3')	Tamanho do produto
Q ¹⁹² R forward (F)	TATTGTTGCTGTGGGACCTGAG	99 pb
Q ¹⁹² R reverse (R)	CACGCTAAACCCAAATAATCTC	
L ⁵⁵ M forward (F)	GAAGAGTGATGTATAGCCCCAG	170 pb
L ⁵⁵ M reverse (R)	TTTAATCCAGAGCTAATGAAAGCC	

Para o polimorfismo do códon 55 do gene *PONI*, após a digestão, pôde ser gerado até três fragmentos distintos. Um de 170 pb, que se refere ao alelo selvagem, ou seja, sem o polimorfismo, e outros dois fragmentos de 127 e 43 pb, resultado da digestão do alelo polimórfico. Desta forma, cada paciente analisado, pôde ser considerada como homozigota para a forma selvagem (Leu/Leu), heterozigoto

(Leu/Met) ou homozigota polimórfica (Met/Met). Para o polimorfismo do códon 192, após a digestão, também, pôde ser gerado até três fragmentos distintos. Um de 99 pb, se refere ao alelo selvagem e outros dois fragmentos de 36 e 63 pb, resultado da digestão do alelo polimórfico. Cada paciente, foi, então, considerada homozigota selvagem (Gln/Gln), heterozigota (Gln/Arg) ou homozigota polimórfica (Arg/Arg).

6.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

A caracterização da população do estudo foi realizada por meio do cálculo das frequências absolutas e relativas nos grupos de casos e controles, para as variáveis categóricas (frequências genótípicas e variáveis ambientais). A comparação da distribuição dessas características foi realizada, então, através do teste de qui-quadrado. Para as variáveis discretas e contínuas, foram calculadas médias e desvios padrão. O teste de Shapiro-Wilk foi realizado para verificar a normalidade da distribuição dos dados. Visto que, as variáveis estudadas não apresentavam distribuição normal, a comparação das distribuições, entre os grupos de casos e controles, foi realizada através do Teste U de Mann-Whitney.

Para determinar a magnitude de associação entre os polimorfismos do gene *PON1* e o risco de câncer de mama foram calculadas razões de chances (*Odds ratio* - OR) brutas e ajustadas por potenciais confundidores, por meio da técnica de regressão logística. Nestas análises foram calculados os intervalos de confiança das estimativas utilizando um nível de significância de 5%.

As análises foram realizadas utilizando-se o pacote estatístico IBM SPSS Statistic 20.0.

Para verificar se a distribuição genotípica dos polimorfismos no grupo controle segue a distribuição de Hardy-Weinberg, foi utilizado o teste do qui-quadrado, através do pacote 'HardyWeinberg' (versão 1.4.1) do *software* R 3.3.3.

6.8 TAMANHO DA AMOSTRAL

Não foi possível obter resultados de genotipagem para 8 dos 266 casos e 3 dos 277 controles do polimorfismo Gln¹⁹²Arg e 27 dos 266 casos e 43 dos 277 controles do polimorfismo Leu⁵⁵Met. Sendo assim, para as análises da distribuição genótípicas e magnitudes de associação dos polimorfismos com desenvolvimento de câncer de mama, foram considerados 239 casos e 234 controles para o polimorfismo Leu⁵⁵Met do gene

PONI e 258 casos e 274 controles para o polimorfismo Gln¹⁹²Arg do gene *PONI*. Com esse tamanho amostral, considerando um nível de significância de 95% e uma prevalência de exposição ao polimorfismo Leu⁵⁵Met (genótipo Met/Met) em controles de 6,8%, este estudo tem um poder de 80% para detectar uma OR de 2,4 entre esse polimorfismo e o desenvolvimento de câncer de mama. Para o polimorfismo Gln¹⁹²Arg, um estudo com o esse tamanho amostral, possui um poder de 80% para detectar uma OR de 0,53 entre esse polimorfismo e o desenvolvimento de câncer de mama (nível de significância de 95% e prevalência de 25,5% do genótipo Arg/Arg em controles).

7 RESULTADOS

A caracterização da população de estudo encontra-se na Tabela 5. A média da idade dos casos de câncer de mama foi de 31,5 (DP: 3,37) anos e dos controles de 29,8 (DP: 4,43), $P=0,000$. Em relação à cor da pele, as mulheres brancas representaram 30,1% dos casos e 31,8% dos controles, $P = 0,67$. Os controles possuem mais anos de escolaridade do que os casos, 61,0% dos primeiros estudaram mais de 8 anos, comparado aos 27,8% dos últimos, $P=0,000$. A história familiar de câncer de mama e ovário foi relatada por 62% dos casos e 47,3% dos controles, $P=0,002$. 24,4% dos casos e 15,5% dos controles informaram ter o hábito de fumar, $P=0,009$. O hábito de ingerir bebidas alcólicas foi relatado por 77,4 % dos casos e 76,9% dos controles, $P=0,89$. A média do IMC aos 18 anos dos casos foi de 21,21 (DP: 0,76) e dos controles 20,45 (DP: 0,76), $P=0,04$. A média da idade da menarca dos casos foi de 12,7 (DP: 2,1) anos e dos controles de 12,7 (DP: 1,6) e a média do tempo uso de contraceptivos orais em anos foi de 5,3 (DP: 0,85) anos entre os controles e 5,5 (DP: 0,81) anos entre os casos. 21,8% dos caoss e 14,8% dos controles relatam não ter engravidado. Por fim, a média da idade que teve o primeiro filho foi de 22 anos (DP: 5,4) entre os controles e 21 anos (DP: 4,7) entre os casos.

Tabela 5: Distribuição dos casos (n=266) de câncer e controles (n=277) de acordo com a variável selecionada, Rio de Janeiro, Brasil, 1999-2012.

Variáveis	Controles N(%)	Casos N(%)	OR (IC 95%)	P valor
Idade (anos)				
Media ± DP	29,8±4,43	31,5±3,37		0,000*
Estratos:				
18–23	32 (11,6)	7 (2,6)	1,00	0,000**
24–29	67 (24,2)	59 (22,2)	4,03 (1,65-9,79)	
30–35	178 (64,3)	200 (75,2)	5,14 (2,21-11,93)	
Cor da pele				
Branco	88 (31,8)	80 (30,1)	1,00	0,67**
Não- branco	189 (68,2)	186 (69,9)	1,08 (0,75-1,56)	
Escolaridade				
<8	47 (17,0)	90 (33,8)	1,00	<0,00**
8	61 (22,0)	102 (38,3)	0,75 (0,50-1,13)	
>8	169 (61,0)	74 (27,8)	1,11 (0,74-1,67)	
História familiar de câncer de mama e ovário				
Não	146 (52,7)	101(38,0)	1,00	0,002**
Sim	131 (47,3)	165 (62,0)	2,12 (1,32-3,35)	
Consumo de fumo				
Não	234(84,5)	201 (75,6)	1,00	0,009**
Sim	43 (15,5)	65 (24,4)	1,76 (1,15-2,70)	
Consumo de álcool				
Não	64 (23,1)	60 (22,6)	1,00	0,89**
Sim	213 (76,9)	206 (77,4)	1,03 (0,69-1,54)	
IMC aos 18 anos				
Média ± DP	20,45±0,76	21,21±0,76		0,04*
< 25	121 (92,4)	180 (90,5)	1,00	0,55**
≥ 25	10 (7,6)	19 (9,5)	1,28 (0,58-2,84)	

Tabela 5: Continuação

Variáveis	Controles N(%)	Casos N(%)	OR (IC 95%)	P valor
Idade da menarca (anos)				
Média ± DP	12,7±1,6	12,7±2,1		0,74*
Estratos:				
<12	62 (11,4)	66 (12,2)	1,00	0,01**
12-14	178 (32,8)	163 (30,0)	0,86 (0,57-1,29)	
>14	37 (6,8)	37 (6,8)	0,94 (0,53-1,66)	
Uso de contraceptivos (anos)				
Média ± DP	5,3±0,85	5,5±0,81		0,69*
Estratos:				
0-1	86 (31)	66 (24,8)	1,00	
1-5	71 (25,8)	80 (30,1)	1,46 (0,93-2,30)	0,22**
>5	118 (42,9)	120 (45,1)	1,32 (0,88-1,99)	
Gestação				
Não	41 (14,8)	58 (21,8)	1,00	0,89**
Sim	236 (85,2)	208 (78,2)	0,62 (0,40- 0,97)	
Idade em que teve o primeiro filho				
Media ± DP	22,03±5,4	21,83±4,7		0,87*
≤30	208 (88,5)	180 (90,5)	1,00	0,003**
≥31	200(96,2)	8 (3,8)	0,31 (0,14-0,69)	

*Teste U de Mann-Whitney

** χ^2 test

O grupo controle encontra-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg para os polimorfismos Leu⁵⁵Met e Gln¹⁹²Arg do gene *PONI*, P=0,92 e P=0,18, respectivamente.

A distribuição genotípica dos polimorfismos Leu⁵⁵Met e Gln¹⁹²Arg do gene *PONI* e a magnitude de associação com câncer de mama em mulheres jovens são apresentadas nas tabelas 6. A frequência do polimorfismo Leu⁵⁵Met do gene *PONI* foi maior nos casos que nos controles, mas não houve significância estatística (P = 0,96). Em relação ao polimorfismo Gln¹⁹²Arg do gene *PONI*, ainda que sem significância estatística (P = 0,49), a frequência foi maior nos controles que nos casos. De acordo

com as análises que mensuraram a magnitude de associação, não houve associação estatisticamente significativa entre o polimorfismo Leu⁵⁵Met do gene *PON1* e câncer de mama em mulheres jovens (OR = 1,01, IC 95% 0,69-1,47 para *Leu/Met*; OR = 1,12, IC 95% 0,55-2,29 para *Met/Met*). Quando ajustado pelos fatores de confusão idade, e IMC aos 18 anos a OR para o genótipo *Leu/Met* mostrou OR de 1,3 (IC 95% = 0,80-2,13) e para o genótipo *Met/Met* mostrou OR de 1,8 (IC 95% 0,67-4,7), ambas sem significância estatística. Também não houve associação estatisticamente significativa entre o polimorfismo Gln¹⁹²Arg do gene *PON1* e câncer de mama em mulheres jovens de acordo com a OR bruta (OR = 0,88; IC 95% 0,59-1,32 para o genótipo *Gln/Arg*; OR = 0,75; IC 0,47-1,20 para o genótipo *Arg/Arg*). Quando ajustado pelos fatores de confusão idade e IMC aos 18 a OR para o genótipo *Gln/Arg* foi igual a 0,97 (IC 95% 0,56-1,69) e para o genótipo *Arg/Arg* foi igual a 0,79 (IC 95% 0,42-1,05), ambas, sem significância estatística.

As magnitudes de associação entre os polimorfismos Leu⁵⁵Met e Gln¹⁹²Arg do gene *PON1* e o câncer de mama em mulheres jovens, utilizando-se dois modelos genéticos distintos (recessivo e dominante) também são apresentadas na tabela 6.

Para o polimorfismo Leu⁵⁵Met, o modelo recessivo (genótipos *Leu/Met* e *Met/Met* versus *Leu/Leu*) não mostrou associação entre o polimorfismo Leu⁵⁵Met e câncer de mama em mulheres jovens (OR = 1,03; IC 95% 0,72-1,48). Quando ajustada para os fatores de confusão selecionados (idade e IMC aos 18 anos) verificou-se uma associação sem significância estatística (OR = 1,37; IC 95% 0,86-2,19). Quando analisada a associação pelo modelo dominante (genótipo *Met/Met* versus *Leu/Met* e *Leu/Leu*) a OR também não se encontrou associação (OR = 1,11; IC 95% 0,55-2,23). Entretanto, quando ajustada pelos fatores de confusão idade e IMC aos 18 anos, o modelo dominante mostrou associação, mas sem significância estatística (OR = 1,59; IC 95% 0,61-4,14).

Em relação ao polimorfismo Gln¹⁹²Arg do gene *PON1*, com o modelo recessivo, houve associação, sem significância estatística (OR = 0,84; IC 95% 0,58-1,21), após o ajuste para os fatores de confusão selecionados (idade e IMC aos 18 anos) a magnitude de associação foi menor e ainda sem significância estatística (OR = 0,91; IC 95% 0,54-1,52). A análise com o modelo dominante, demonstrou associação, sem significância estatística tanto na regressão logística simples (OR = 0,83; IC 95% 0,55-1,25) quanto na regressão multivariada, quando ajustada pelos fatores de confusão idade e IMC aos 18 anos (OR = 0,81; IC 95% 0,47-1,37).

Tabela 6: Distribuição genotípica dos polimorfismos Leu⁵⁵Met (casos n=239 e controles n=234) e Gln¹⁹²Arg (casos n=258 e controles n=274) e magnitude de associação do polimorfismo Leu⁵⁵Met do gene *PON1* com o desenvolvimento de câncer de mama em mulheres jovens (modelo recessivo e modelo dominante).

<i>PON1</i>	Caso (n%)	Controle (n%)	OR bruta (IC 95%)	OR ajustada * (IC 95%)	Pearson n χ^2
Leu⁵⁵Met					
(Leu/Leu)	126 (52,7)	125 (53,4)	1,00	1,00	P = 0,96
(Leu/Met)	95 (39,7)	93 (39,7)	1,01 (0,69- 1,47)	1,3 (0,80- 2,13)	
(Met/Met)	18 (7,5)	16 (6,8)	1,12 (0,55- 2,29)	1,8 (0,67-4,7)	
Total	239 (100)	234 (100)			
Modelo Recessivo					
(Leu/Leu)	126	125	1,00	1,00	
(Leu/Met+Met/Met)	113	109	1,03 (0,72- 1,48)	1,37 (0,86- 2,19)	
Modelo Dominante					
(Leu/ Leu+Met/Met)	221	218	1,00	1,00	
(Met/Met)	18	16	1,11 (0,55- 2,23)	1,59 (0,61- 4,14)	
Gln¹⁹²Arg					
(Gln/Gln)	84 (32,6)	79 (28,8)	1,00	1,00	P = 0,49
(Gln/Arg)	118 (45,7)	125 (45,6)	0,88 (0,59- 1,32)	0,97 (0,56- 1,69)	
(Arg/Arg)	56 (21,7)	70 (25,5)	0,75 (0,47- 1,20)	0,79 (0,42- 1,05)	
Total	258 (100)	274 (100)			
Modelo Recessivo					
(Gln/Gln)	84	79	1,00	1,00	

(<i>Gln/Arg+Arg/Arg</i>)	174	195	0,84 (0,58- 1,21)	0,91 (0,54- 1,52)
Modelo Dominante (<i>Gln/Gln+Gln/Arg</i>)	202	204	1,00	1,00
(<i>Arg/Arg</i>)	56	70	0,83 (0,55- 1,25)	0,81 (0,47- 1,37)

*Ajustada por: idade e IMC aos 18 anos.

Tendo em vista que, para os dois polimorfismos estudados, as maiores magnitudes de associação foram obtidas com o modelo genético dominante, construiu-se um modelo estatístico final com os dois polimorfismos e com esse padrão genético. A estimativa da magnitude de associação entre os polimorfismos Leu⁵⁵Met e Gln¹⁹²Arg do gene *PONI* e o câncer de mama em mulheres jovens, para esta análise, são apresentados na tabela 10.

Para o polimorfismo Leu⁵⁵Met, o modelo dominante (genótipos *Met/Met versus Leu/Met e Leu/Leu*) não mostrou associação com o câncer de mama em mulheres jovens quando ajustado pelo polimorfismo Gln¹⁹²Arg (OR = 1,11; IC 95% 0,55-2,23). No entanto, quando ajustada pelo polimorfismo Gln¹⁹²Arg, idade e IMC aos 18 anos, verificou-se uma associação, sem significância estatística (OR = 1,59; IC 95% 0,61-4,14).

Com relação ao polimorfismo Gln¹⁹²Arg do gene *PONI*, o modelo dominante (genótipos *Arg/Arg versus Gln/Gln+Gln/Arg*) mostrou que o genótipo *Arg/Arg* está associado a um menor risco de desenvolvimento de câncer de mama em mulheres jovens, porém sem significância estatística (OR = 0,81; IC 95% 0,54-1,21), quando ajustado pelo polimorfismo Leu⁵⁵Met. Quando ajustado pelo polimorfismo Leu⁵⁵Met, idade e IMC aos 18 anos, o modelo dominante continuou mostrando associação com câncer de mama em mulheres jovens, mas ainda sem significância estatística (OR = 0,81; IC 95% 0,47-1,37).

Tabela 7: Magnitude de associação do polimorfismo Leu⁵⁵Met e Gln¹⁹²Arg do gene *PON1* no risco de câncer de mama em mulheres jovens - Modelo Final (193 casos e 123 controles).

<i>PON1</i>	Casos	Controles	OR ajustada* (IC 95%)	OR ajustada** (IC 95%)
Leu⁵⁵Met				
TT/TA (<i>Leu/Leu+ Leu/Met</i>)	221	218	1,00	1,00
AA (<i>Met/Met</i>)	18	16	1,11 (0,55-2,23)	1,59* (0,61-4,14)
Gln¹⁹²Arg				
AA/AG (<i>Gln/Gln+Gln/Arg</i>)	118	125	1,00	1,00
GG (<i>Arg/Arg</i>)	56	70	0,81 (0,54-1,21)	0,81 (0,47-1,37)

* Ajustada por: polimorfismos Leu⁵⁵Met e Gln¹⁹²Arg do gene *PON1*.

**Ajustada por: polimorfismos Leu⁵⁵Met e Gln¹⁹²Arg do gene *PON1*, idade e IMC aos 18 anos.

8 DISCUSSÃO

Exposição a estrogênio, fatores alimentares, vida reprodutiva, produtos químicos com potencial carcinogênico presentes no meio ambiente, bem como o estresse oxidativo desempenham um importante papel relacionados à etiologia e desenvolvimento de diversos tipos de câncer, entre eles o câncer de mama (Geneviene e Britt, 2017; Gurer-Orhan *et al.*, 2017; Shrivastava *et al.*, 2017; Soto e Sonnenschein, 2015, Ritte *et al.*, 2013). O corpo humano dispõe de uma série de sistemas enzimáticos que, entre outras funções, o protegem contra danos genotóxicos agindo diretamente através da detoxificação de radicais livres, como a enzima PON1 ou indiretamente através da redução de substratos potenciais que dão origem a produção de radicais livres, como o citocromo P450 (Hawk, 2016). Portanto, é plausível que os polimorfismos dos genes que codificam tais enzimas sejam reconhecidos como fatores que podem alterar a susceptibilidade a produtos químicos genotóxicos e consequentemente ao câncer (Kaur *et al.*, 2017).

Vários polimorfismos genéticos têm sido identificados nas regiões promotora e codificante do gene *PON1*. Estudos epidemiológicos e moleculares identificaram dois importantes polimorfismos na região de codificação do gene nas posições 192 (Gln¹⁹²Arg) e 55 (Leu⁵⁵Met) (Humbert *et al.*, 1993).

Portadores do alelo Leu⁵⁵ apresentam maior atividade plasmática da PON1 quando comparado aos portadores do alelo ⁵⁵Met. Desta forma, os portadores do alelo Leu⁵⁵, provavelmente, são mais vulneráveis a potenciais agentes carcinogênicos químicos e ambientais e as espécies reativas do oxigênio (Chen *et al.*, 2016; Dai-Hua Fang *et al.*, 2012; Dai-Hua Fan *et al.*, 2011). Portanto, o polimorfismo Leu⁵⁵Met pode estar associado a um aumento no risco de câncer de mama (Dai- Hua Fang *et al.*, 2012). Já o polimorfismo Gln¹⁹²Arg do gene *PON1* influencia a atividade da enzima por estar associado com a eficiência catalítica frente a alguns substratos, além de afetar a capacidade da enzima PON1 de hidrolisar lipídeos oxidados (Rainwater *et al.*, 2009; Richter *et al.*, 2009; Humbert *et al.*, 1993). Estudos anteriores sugeriram que a atividade da PON1 nos portadores do alelo ¹⁹²Arg seria mais eficiente quando comparado aos portadores do alelo ¹⁹²Gln e associam o polimorfismo Gln¹⁹²Arg a um risco diminuído para o desenvolvimento do câncer, particularmente para o câncer de mama (Li *et al.*, 2000; Zhang *et al.*, 2015). Portanto, a presença dos polimorfismos Leu⁵⁵Met e Gln¹⁹²Arg pode estar associada a alterações no risco de desenvolvimento do câncer de mama (Dai- Hua Fang *et al.*, 2012).

No presente estudo, o genótipo homocigoto polimórfico (*Met/Met*) do polimorfismo $Leu^{55}Met$ do gene *PONI* teve associação, sem significância estatística, ao risco aumentado de câncer de mama em mulheres com menos de 36 anos, ajustado por idade e IMC aos 18 anos e pelo polimorfismo $Gln^{192}Arg$ (OR = 1,59; IC 95% 0,61-4,14 *versus Leu/Leu+ Leu/Met*). Estudos anteriores encontraram associação semelhante para esse polimorfismo, no entanto alguns deles combinaram mulheres em diferentes faixas de idade, e a maior parte deles encontraram resultados com significância estatística (Liu *et al.*, 201; Saadat *et al.*, 2011, Chen *et al.*, 2016, Peizeng *et al.*, 2017).

Um estudo caso-controle realizado no Egito com mulheres entre 40 a 60 anos identificou um aumento do risco de câncer de mama para mulheres que apresentaram o genótipo polimórfico *Met/Met e Leu/Met versus Leu/Leu* (OR = 2,29; IC 95% 1,20-4,38; ajustado por idade) e *Met/Met versus Leu/Leu* (OR = 2,07; IC 95% 1,17-3,64); (Hussein *et al.*, 2011). Outro estudo caso-controle realizado na Malásia, incluindo mulheres de faixas etárias variadas, também observou maior risco de câncer de mama para mulheres com genótipos polimórficos *Met/Met e Leu/Met versus Leu/Leu* (OR = 1,43; IC 95% 1,04-1,97; ajustado por idade e etnia); *Leu/Met versus Leu/Leu* (OR = 2,33; IC 95% 1,28-4,24) e *Met/Met versus Leu/Leu* (OR = 1,29; IC 95% 0,93-1,81); (Naidu *et al.*, 2010). Stevens e colaboradores (2006), em um estudo caso-controle com mulheres americanas de 50 a 74 anos identificaram um maior risco de desenvolver câncer de mama para as mulheres que apresentavam os genótipos *Leu/Met versus Leu/Leu* (OR = 1,23; IC 95% 0,92-1,65) e *Met/Met versus Leu/Leu* (OR = 1,58; IC 95% 1,05-2,37). Finalmente, em um estudo de meta-análise incluído 7 estudos, Wen e colaboradores (2015) encontraram o polimorfismo $Leu^{55}Met$ associado ao aumento do risco de câncer de mama para o genótipo *Met/Met versus Leu/Leu versus Leu/Met* (OR = 1,74; IC 95% 1,46-2,06).

O nosso estudo, assim como os estudos citados, sugere que o genótipo homocigoto polimórfico do polimorfismo $Leu^{55}Met$ do gene *PONI* aumenta o risco de desenvolvimento do câncer de mama, entretanto provavelmente por trabalhar com uma pequena amostra não obtivemos significância estatística. Adicionalmente, essa falta de significância estatística pode ser devida à diferença na importância do polimorfismo $Leu^{55}Met$ na etiologia do câncer de mama em mulheres jovens, quando comparado à mulheres de outras faixas etárias, tendo em vista que nenhum dos estudos citados acima analisou exclusivamente mulheres jovens. Contudo, o estudo caso-controle desenvolvido na Itália por Antognelli e colaboradores (2009) também analisou mulheres na pré-menopausa e encontrou uma associação estatisticamente significativa entre os genótipos

Met/Met e Leu/Met versus Leu/Leu (OR = 2,67; IC 95% 1,62-4,15) e *Met/Met versus Leu/Leu* (OR = 3,83; IC 95% 2,15-5,87) e câncer nesta população. Ainda assim, apesar do cuidado dos autores em analisar as mulheres na pré-menopausa, de forma separada, pois sabe-se que alguns fatores de risco atuam de forma distinta em mulheres na pré e na pós -menopausa, em geral, a pré-menopausa inclui mulheres até 50 anos, enquanto o nosso trabalho incluiu mulheres até 35 anos de idade.

Para o polimorfismo Gln¹⁹²Arg, em nosso estudo o genótipo homozigoto polimórfico (*Arg/Arg*), foi associado sem significância estatística a um risco reduzido para o desenvolvimento de câncer de mama em mulheres com menos de 36 anos, quando ajustado por idade, IMC aos 18 anos e pelo polimorfismo Leu⁵⁵Met (OR = 0,81; IC 95% 0,47-1,37). De forma semelhante, estudos anteriores também encontraram esse efeito protetor do polimorfismo Gln¹⁹²Arg para o desenvolvimento de câncer de mama, alguns também sem significância estatística (Hussein *et al.*, 2011; Naidu *et al.*, 2010; Stevens *et al.*, 2006), e dois estudos, o de Antognelli e colaboradores (2009) e a meta-análise de Saadat e colaboradores (2011) foram estatisticamente significativos, no entanto, os estudos foram realizados incluindo mulheres com faixas etárias distintas (Peizeng *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2015).

Antognelli e colaboradores (2009) em um estudo caso-controle realizado com mulheres italianas na pré e pós-menopausa identificaram que as mulheres, na pós-menopausa, que apresentaram os genótipos *Arg/Arg e Gln/Arg versus Gln/Gln* (OR = 0,05; IC 95% 0,02-0,12), *Gln/Arg versus Gln/Gln* (OR = 0,12; IC 95% 0,01-0,33) e *Arg/Arg versus Gln/Gln* (OR = 0,08; IC 95% 0,01-0,14) apresentaram um risco reduzido para o câncer de mama. Na pré-menopausa também foi identificada redução do risco de câncer de mama para as mulheres que apresentaram os genótipos *Arg/Arg e Gln/Arg versus Gln/Gln* (OR = 0,68; IC 95% 0,47-1,47), *Gln/Arg versus Gln/Gln* (OR = 0,73; IC 95% 0,51-1,43) e *Arg/Arg versus Gln/Gln* (OR = 0,64; IC 95% 0,40-1,44), no entanto, não houve significância estatística. No estudo de meta-análise conduzido por Saadat e colaboradores (2011), encontrou-se uma redução significativa no risco de câncer de mama, para os genótipos *Arg/Arg e Gln/Arg versus Gln/Gln* (OR = 0,57; IC 95% 0,49-0,67), *Gln/Arg versus Gln/Gln* (OR = 0,88; IC 95% 0,49-0,67) e *Arg/Arg versus Gln/Gln* (OR = 0,60; IC 95% 0,46-0,79). No Egito, um estudo caso-controle com mulheres de 40 a 60 anos encontrou uma redução do risco de câncer de mama, sem significância estatística, para as mulheres que apresentaram os genótipos *Met/Met e Arg/Arg versus Gln/Arg* (OR = 0,82; IC 95% 0,47-1,43), *Gln/Arg versus Gln/Gln* (OR = 0,96; IC 95% 0,55-1,68) e *Arg/Arg versus Gln/Gln* (OR 0,64; IC 95% 0,25-1,63)

(Hussein *et al.*, 2011). Na América do Norte, em um estudo caso-controle realizado com mulheres de 50 a 74 anos, observou-se uma redução do risco de câncer de mama, sem significância estatística para o genótipo *Gln/Arg versus Gln/Gln* (OR = 0,81; IC 95% 0,63-1,10) e *Arg/Arg versus Gln/Gln* (OR = 0,84; IC 95% 0,63-1,10); (Stevens *et al.*, 2006). Enfim, em um estudo caso-controle realizado na Malásia, foi encontrado para os genótipos *Arg/Arg e Gln/Arg versus Gln/Gln* (OR = 0,79; IC 95% 0,57-1,1), *Gln/Arg versus Gln/Gln* (OR 0,76; IC 95% 0,57-1,10) e *Arg/Arg versus Gln/Gln* (OR = 0,76; IC 95% 0,57-1,10) uma redução do risco de câncer de mama, sem significância estatística (Naidu *et al.*, 2010). Os dados do presente estudo, assim como os citados anteriormente, sugerem que o polimorfismo Gln¹⁹²Arg está associado a redução do risco para o desenvolvimento do câncer de mama.

Em nosso estudo, a OR bruta sofreu alterações após o ajuste pelo IMC aos 18 anos para o genótipo *Met/Met* e para o genótipo *Arg/Arg* dos polimorfismos Leu⁵⁵Met e Gln¹⁹²Arg, respectivamente, e foi identificado que as mulheres cujo valor de IMC aos 18 anos refletia sobrepeso ou obesidade mostraram um aumento na estimativa de risco para o desenvolvimento do câncer de mama comparado as mulheres em faixa de valores normais (OR = 1,59 IC 95% 0,58-2,84).

A dislipidemia primária relacionada à obesidade é caracterizada por um distúrbio nos níveis de lipídeos e/ou lipoproteínas que desencadeia o aumento de triglicerídeo, diminuição dos níveis de HDL e composição anormal de LDL (Howard *et al.*, 2003). Sabe-se que a PON1 é uma proteína que circula na corrente sanguínea associada com a apolipoproteína A1 (apo-A1) o que indica uma interação específica com a HDL (Primo-Parma *et al.*, 1996; Aviram *et al.*, 1998; Aviram *et al.*, 1999; Noto *et al.*, 2001). Uma vez que os níveis séricos da HDL estejam diminuídos, a atividade da enzima PON1 associada a HDL em indivíduos obesos pode se tornar significativamente menor do que em indivíduos saudáveis e conseqüentemente essa baixa atividade da PON1 pode representar um risco maior para o desenvolvimento de doenças em que os danos oxidativos e a peroxidação lipídica estão envolvidas (Durrington *et al.*, 2001; Ferret *et al.*, 2004).

Sorenson e colaboradores (1999) já haviam demonstrado que, por ser uma enzima dependente do HDL, a conformação da PON1 dentro do ambiente hidrofóbico da HDL é crucial para sua atividade. Os fosfolipídios, especialmente aqueles com cadeias de ácidos graxos longos, estabilizam a enzima PON1 e são necessários para a ligação da mesma na superfície das lipoproteínas (Gaillard *et al.*, 2001). Outra hipótese considerada, para explicar a diminuição na atividade PON1 em pessoas obesas, está

relacionada a modificações significativas da composição química de HDL em indivíduos obesos. A Composição lipídica (teor de lípidos e /ou produtos de peroxidação lipídica) e as interações lipídicas-apoproteicas modulam a organização estrutural e as propriedades físicoquímica das lipoproteínas (Mackness *et al.*, 2015). Portanto, acredita-se que modificações na composição do HDL de indivíduos obesos podem afetar a ligação da PON1 à superfície da HDL, resultando em diminuição da atividade enzimática (Macharia *et al.*, 2014).

E por último, a menor atividade de PON1 em obesos pode estar relacionada à presença de inibidores circulantes, tais como produtos de peroxidação lipídica. Esta hipótese é apoiada por um estudo realizado por Aviram e colaboradores (1999) no qual, usando a enzima PON1 purificada, demonstrou-se que produtos resultantes da oxidação da LDL, tais como palmitoil araquidonil fosforilcolina, lisofosfatidilcolina e araquidonato se comportam como inativadores da atividade enzimática da enzima PON1.

Em resumo, quaisquer que sejam os mecanismos envolvidos nas modificações da composição lipídica da HDL e da atividade da PON1 em mulheres obesas, é importante ressaltar que os polimorfismos genéticos não são os únicos responsáveis pela determinação da atividade enzimática da PON1 no organismo humano e, por isso o ajuste da medida de associação entre os polimorfismos da *PON1* e o câncer de mama, pelos valores de IMC aos 18 anos tenha demonstrado que essa variável é um fator de confundimento da associação estudada, para polimorfismo Leu⁵⁵Met.

Por fim, embora tenha sido feito um grande esforço na coleta de pacientes dessa faixa etária, a limitação de nosso estudo é o tamanho da amostra, de modo que o papel do acaso não pode ser excluído.

9 CONCLUSÃO

Este estudo sugere que os polimorfismos Leu⁵⁵Met e Gln¹⁹²Arg do gene *PON1* podem alterar o risco para a carcinogênese mamária em mulheres jovens, principalmente quando outros fatores de risco são considerados. No entanto, estudos adicionais são necessários para elucidar o papel dos polimorfismos do gene *PON1* na etiologia do câncer de mama em mulheres jovens.

REFERÊNCIAS

Alberg AJ, Brock MV, Samet JM. Epidemiology of lung cancer: looking to the future. *J Clin Oncol.* 2005;23:75-85.

Allebrandt KV, Souza RLR, Chautard-Freire-Maia, EA. Variability of the paraoxonase gene (PON1) in Euro and Afro- Brazilians. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2002;180:151-6.

Aliasghar K, Seyed-Houssein M, Mohsen H, Alireza M. Trends in Incidence of Breast Cancer among Women under 40 in Asia. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014; 15(3): 1387-1390.

Alvarado-Cabrero IV CR, Barroso-Bravo S. Breast cancer in Mexican women younger than age 45 years: a clinicopathologic study of 1, 320 cases. *Mod Pathologic.* 2011;24:26A.

Amadou, A; Hainaut, P; Romieu, I. Role of Obesity in the Risk of Breast Cancer: Lessons from Anthropometry. *Journal of Oncology.* New York. 2013; (2)1-19.

Anders CK, Johnson R, Litton J. Breast cancer before age 40 years. *Semin Oncol.* 2009;36:237-49.

Antognelli C, Buono CD, Ludovini V. YP17, GSTP1, PON1, and GLO1 gene polymorphisms as risk factors for breast cancer: an Italian case-control study. *BMC Cancer.* 2009; 9:115–128.

Antoniou A. Average risk of breast and ovarian cancer associated with BRCA1 or BRCA2 mutations detected in case Series unselected for Family history: a combined analysis of 22 studies. *Am J Hum Genet.* 2003;v.72, n.5,May, p.1117-30.

Armes JE, Trute L, White D , Southey MC, Hammet F, Tesoriero A, Hutchins AM, Dite GS, McCredie MR, Giles GG, Hopper JL, Venter DJ. Distinct molecular pathogeneses of earlyonset breast cancers in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: a population-based study. *Cancer Res.* 1999;59:2011–2017

Assi HA, Khoury KE, Dbouk H, Khalil LE, Mouhieddine TH, Saghir NS. Epidemiology and prognosis of breast cancer in young women. *J Thorac Dis.* 2013;5:S2-8.

Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, Newton RS, Primo-Parmo SL, La Du BN. Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and preserves its functions. *J. Clin. Invest.* 1998;101:1581–1590.

Aviram M, Rosenblat M, Billecke S, Eroglu J, Sorenson R, Bisgaier CL, Newton RS, La Du B. Human serum paraoxonase (PON 1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants. *Free Radical Biol Med.* 1999; 26:892–904.

Aviram M, Rosenblat M. Paraoxonases 1, 2, and 3, oxidative stress, and macrophage foam cell formation during atherosclerosis development. *Free Radic Biol Med.* 2004; 37:1304–1316.

Azim HA, Partridge AH. Biology of breast cancer in young women. *Breast Cancer Res.* 2014;16:42.

Balasubramanian SP, Cox A, Brown NJ, Reed MW. Candidate gene polymorphisms in solid cancers. *Eur J Surg Oncol.* 2004;30(6):593-601.

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

Barros ACS, Barros MAC. HER e câncer de mama: inter-relações biológicas, prognósticas e terapêuticas. São Paulo: Roche; 2006.

Batiston AP, Tamaki EM, Souza LA, Mara, Santos MLM. Conhecimento e prática sobre os fatores de risco para o câncer de mama entre mulheres de 40 a 69 anos. *Rev. Bras. Saude Mater. Infant.* 2011;11(2).

Bauer KR, Brown M, Cress RD, Parise CA, Caggiano V. Descriptive analysis of estrogen receptor (ER)-negative, progesterone receptor (PR)-negative, and HER2-negative invasive breast cancer, the so-called triple-negative phenotype: a populationbased study from the California Cancer Registry. *Cancer.* 2007;109:1721–

1728.

Bell DW, Varley JM, Szydlo TE, Kang DH, Wahrer DC, Shannon KE, Lubratovich M, Verselis SJ, Isselbacher KJ, Fraumeni JF, Birch JM, Li FP, Garber JE, Haber DA. Heterozygous germ line hCHK2 mutations in Li-Fraumeni syndrome. *Science*. 1999;286:2528-2531.

Bhatia S, Robison LL, Oberlin O. Breast cancer and other second neoplasms after childhood Hodgkin's disease. *N Engl J Med*. 1996;334(12): 745-51.

Bhattacharyya T, Nicholls SJ, Topol EJ, Zhang R, Yang X, Schmitt D, Fu X, Shao M, Brennan DM, Ellis SG, Brennan ML, Allayee H, Lysis AJ & Hazen SL. Relationship of paraoxonase 1 (PON1) gene polymorphisms and functional activity with systemic oxidative stress and cardiovascular risk. *Journal of the American Medical Association*. 2008; 299; 1265–1276.

Birkett JW, Lester JN. *Endocrine Disrupters in Wastewater and Sludge Treatment Process*. 1st ed Lewis Publishers. 2003.

Blatter MC, James RW, Messmer S, Barja F, Pometta D. Identification of a distinct human high-density lipoprotein subspecies defined by a lipoprotein-associated protein, K-45. Identity of K-45 with paraoxonase. *Eur J Biochem*. 1993; 211:871–879.

Brennan M, French J, Houssami N, Kirk J, Boyages J. Breast cancer in young women. *Australian Family Physician*. 2005; 34(10).

Brice L, Florence M, Brigitte T, Fabrizio S, Laetitia D. Trends in incidence of breast cancer among women under 40 in seven European countries: A greek cooperative study. *Cancer Epidemiology*. 2013; 37: 544–549.

Caldarella A, Crocetti E, Bianchi S. Female breast cancer status according to ER, PR and HER2 expression: a population based analysis. *Pathol Oncol Res*. 2011;17:7538.

Calle EE, Kaaks R. Overweight, obesity and cancer: epidemiological evidence and proposed mechanisms. *Nature Reviews Cancer*. 2004; 4(8):579–591.

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

Carey LA, Perou CM, Livasy CA, Dressler LG, Cowan D, Conway K. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. *Jama*. 2006;295(21):2492–2502.

Carmichael A, Sami AS, Dixon JM. Breast cancer risk among the survivors of atomic bomb and patients exposed to therapeutic ionising radiation. *Eur J Surg Oncol*. 2003;29(5):475-9.

Carvalho FM, Bacchi LM, Santos PP, Bacchi CE. Triplenegative breast carcinomas are a heterogeneous entity that differs between young and old patients. *Clinics (Sao Paulo)*. 2010;65(10):1033–1036.

CEC - Commission of the European communities. Community strategy for endocrine disrupters: a range of substances suspected of interfering with the hormone systems of humans and wildlife. Communication from the commission to the council and the European parliament, Brussels, COM (2007) 706 final, 2007.

CEC - Commission of the European communities. On the implementation of the Community strategy for endocrine disrupters - a range of substances suspected of interfering with the hormone systems of humans and wildlife. Communication from the commission to the council and the European parliament, Brussels, COM(2001) 262 final, 2001.

Cejas P, Casado E, Belda-Iniesta C, De Castro J, Espinosa E, Redondo A, Sereno M, Garcia-Cabezas MA, Vara JA, Dominguez-Caceres A, Perona R, Gonzalez-Baron M. Implications of oxidative stress and cell membrane lipid peroxidation in human cancer. *Cancer Causes Control*. 2004;15(7):707-719.

Cerqueira MB, Moreira R, Soares L, Ruffo F. Molecular subtypes of breast câncer. *FEMINA*. 2011; vol 39 nº 10.

Chander R, Kapoor NK. High-density lipoprotein is a scavenger of superoxide anions.

Biochem Pharmacol. 1999;40:1663–1665

Cheang MCU, Voduc D, Bajdik C, Leung S, McKinney S, Chia SK. Basallike breast cancer defined by five biomarkers has superior prognostic value than triple-negative phenotype. Clin Cancer Res. 2008;14(5):1368-76.

Cheang MCU, Chia SK, Voduc D, Gao D, Leung S, Snider J. Ki-67 Index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. J Natl Cancer Inst. 2009;101(10):736-50.

Chen S. Characterization of BRCA1 and BRCA2 mutations in a large United States sample. J Clin Oncol. 2006;v. 24, n.6, Feb 20, p. 863-71.

Chen L, Lu W, Fang L, Xiong H, Wu X, Zhang M, Wu S, Yu D. Association Between L55M polymorphism in Paraoxonase 1 and cancer risk: a meta- analysis based on 21 studies. Onco Targets and Therapy. 2016;9: 1151-1158.

Cianfrocca M, Goldstein LJ. Prognostic and predictive factors in early-stage breast cancer. Oncologist. 2004;9(6):606-16.

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.

Colleoni M, Rotmensz N, Robertson C. Very young women (<35 years) with operable breast cancer: features of disease at presentation. Ann Oncol 2002;13:273–9.

Collins Y. A single ataxia telangiectasia gene with a product similar to PI-3 kinase. Science. 1995;268:1749–1753.

Costa IG, Giordano G, Furlong CE. Paraoxonase 1 (PON1) as a genetic determinant of susceptibility to organophosphate toxicity. National Institute of the Health. 2003;54: 371-92.

Costa LG, Vitalone A, Cole TB & Furlong CE. Modulation of paraoxonase (PON1) activity. *Biochemical Pharmacology*. 2005; 69:541–550

Costa IG, Giordano G, Furlong CE, Toby B, Judit M, Clement E, Furlong N. Paraoxonase 1 (PON1) as a genetic determinant of susceptibility to organophosphate toxicity. *National Institute of the Health*. 2010; 307: 115-122.

Costa-Osório, F; Rocha, G; Dias, M M; Carvalheira, C. Epidemiological and molecular mechanisms aspects linking obesity and cancer. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia*. São Paulo. 2009: (53)2; 213-226.

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.

Cybulski C, Wokolorczyk D, Jakubowska A. Risk of breast cancer in women with a CHEK2 mutation with and without a family history of breast cancer. *J Clin Oncol*. 2011;29: 3747-52.

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.

Dai-Hua F, Cong-Hai F, Qiang J, Bo X, Juan L, Lu W. Differential effects of paraoxonase1 (PON1) polymorphisms on cancer risk: evidence from 25 published studies. *Mol Bio Rep*. 2012;39: 6801-6809.

Dall GV and Britt KL. Estrogen Effects on the Mammary Gland in Early and Late Life and Breast Cancer Risk. *Front. Oncol*. 2017; 7:110

Deakin SP, James RW. Genetic and environmental factors modulating serum concentrations and activities of the antioxidant enzyme paraoxonase-1. *Clinical Science*. 2004; 107: 435–447

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

Delimaris I, Faviou E, Antonakos G, Stathopoulou E, Zachari A, Dionyssiou-Asteriou A. Oxidized LDL, serum oxidizability and serum lipid levels in patients with breast or ovarian cancer. *Clin Biochem*. 2007;40:1129–1134 5.

DeRoo LA, Sophia C.E.Bolick, Zongli Xu Z, Umbach DM, Shore D, Weinberg CR, Sandler DP and Taylor JA. Global DNA methylation and one-carbon metabolism gene polymorphisms and the risk of breast cancer in the Sister Study. *Carcinogenesis*. 2014; 35(2): 333–338.

Despres JP, Moorjani S, Lupien PJ, Tremblay A, Nadeau A, Bouchard C. Regional distribution of body fat, plasma lipoproteins, and cardiovascular disease. *Arteriosclerosis*. 1990; 10:497–511.

Dorgan JF, Baer DJ, Albert PS, Judd JT, Brown ED, Corle DK, et al. Serum hormones and the alcohol-breast cancer association in postmenopausal women. *J Natl Cancer Inst* 2001;93(9):710-715.

Durrington PN, Mackness B, Mackness MI. Paraoxonase and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001. 2:473– 480.

Eccles B, Copson E, Maishman T. Breast cancer diagnosis and treatment in women aged 18-40 years in the UK: Prospective study of Outcomes in Sporadic versus Hereditary breast cancer (POSH). Liverpool, UK: In: 8th NCRI Cancer Conference, 2012.

Elsevier B.V.Marsella R, Vari R, D'Archivio M. Oxidised LDL modulate adipogenesis in 3T-L1 preadipocytes by affecting the balance between cell proliferation and differentiation. *FEBS Lett*. 2006; 580:2421–2429.

Egan KM, Stampfer MJ, Hunter D, Hankinson S, Rosner BA, Holmes M, Willett WC, Colditz GA. Nurses' Health Study: Active and passive smoking in breast cancer:

prospective results from the Nurses' Health Study. *Epidemiology*. 2002;13(2):138-145.

El Saghir NS, Seoud M, Khalil MK. Effects of young age at presentation on survival in breast cancer. *BMC Cancer*. 2006;6:194.

Fattahi MJ, Mojtahedi Z, Karimaghaee N, Talei AR, Ranani SJ, Ghaderi A. Analysis of BRCA1 and BRCA2 mutations in southern Iranian breast cancer patient. *Arch Iran Med*. 2009; 12;584–587

Feigelson H.S. and Henderson,B.E. (1996) Estrogens and breast cancer. emphasis added of these risk factors and protective factors *Carcinogenesis*, 17, 2279–2284.

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.

Fernandes G, Michelli R, [Galvão H](#), [Paula A](#), [Pereira R](#), [Andrade C](#), [Felicio P](#), [Souza C](#), [Mendes D](#), [Volc S](#), [Berardinelli G](#), [Grasel R](#), [Sabato C](#), [Viana D](#), [Machado J](#), [Costa J](#), [Mauad E](#), [Scapulatempo-Neto C](#), [Arun B](#), [Reis R](#), [Palmero E](#). Prevalence of *BRCA1/BRCA2* mutations in a Brazilian population sample at-risk for hereditary breast cancer and characterization of its genetic ancestry. *Oncotarget*. 2016; 7(49): 80465-80481.

Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray, F. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet].

Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S.; Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray F. GLOBOCAN 2012: Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. **International Journal of Cancer**. 2015;136(5):e359-e386.

Fletcher SW, Elmore JG. Mammographic Screening for Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2003;348(17): 1672–1680.

Freitas-Junior R, Freitas NM, Curado MP, Martins E, Moreira MA, Silva CM. Tendência de incidência de câncer de mama entre mulheres jovens em Goiânia, Brasil. *São Paulo Med. J.* 2010; 128:81-84.

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

Fredholm H, Eaker S, Frisell J. Breast cancer in young women: poor survival despite intensive treatment. *PLoS One.* 2009;4:7695.

Ferretti G, Bacchetti T, Busni D, Rabini RA, Curatola G. Protective effect of paraoxonase activity in high-density lipoproteins against erythrocyte membranes peroxidation: a comparison between healthy subjects and type 1 diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004. 89:2957–2962.

Friedenson B. BRCA2 pathways and the risk of cancers others than breast or ovarian. *MedGenMed.* 2005; v.7, n.2,p.60.

Gaidukov L, Rosenblat M, Aviram M, Tawfik DS. 2006. The 192R/Q polymorphs of serum paraoxonase PON1 differ in HDL binding, lipolactonase stimulation, and cholesterol efflux. *J Lipid Res* 47:2492–2502.

Gaillard T, Parthasarathy S, Osei K. HDL Dysfunctionality (Paraoxonase) is worse in nondiabetic, postmenopausal African American than in white women. *Diabetes Care.* 2011;34:e19

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

Gallagher, E. J.; Leroith, D. Epidemiology and molecular mechanisms tying obesity, diabetes, and the metabolic syndrome with cancer. *Diabetes Care.* Indianapolis (36)2; 233-239.

Gallicchio L, McSorley MA, Newschaffer CJ, Huang HY, Thuita LW, Hoffman SC, et

al. Body mass, polymorphisms in obesity-related genes, and the risk of developing breast cancer among women with benign breast disease. *Cancer Detect Prev.* 2007;31:95–101.

Giardiello FM, Welsh SB, Hamilton SR, Offerhaus GJ, Gittelsohn AM, Booker SV, Krush AJ, Yardley JH, Luk GD. Increased risk of câncer in the Peutz-Jeghers syndrome. *N Engl J Med.* 1987;316: 1511-1514.

Gnerlich JL, Deshpande AD, Jeffe DB. Elevated breast cancer mortality in women younger than age 40 years compared with older women is attributed to poorer survival in early-stage disease. *J Am Coll Surg.* 2009;208:341.

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. In: XV

Guerer-Orhan H, Ince E, Konyar D, Saso L, Suzen S. The role of oxidative stress modulators in breast câncer. *Curr. Med. Chem.* 2017

Encontro Nacional de Estudos Populacionais; Belo Horizonte: Associação Brasileira de Estudos Populacionais; 2006. p. 1-15.

Goswami B, Tayal D, Gupta N, Mallika V. Paraoxonase: A multifaceted Biomolecule. *Clin Chim Act.* 2009; 410:1-12.

Gray LEJ, Kelce WR, Wiese T, Tyl R, Cook J, Klimefelter G, Desaulniers D, Wilson E, Zacharewski T, Waller C, Foster P, Laskey J, Reel J, Giesy J, Laws S, McLachlanJ, Breslin W, Cooper R, DI Giulio R, Johnson R, Purdy R, Mihaich E, Safe S, Sonnenschein C, Welshons W, Miller R, McMaster S, Colborn T, *reprod. toxicol.* 1997;11:719.

Harel M, Aharoni L, Brumshtein B, Khersonsky O, Mayeb R. Structure and evolution of the serum paraoxonase family of detoxifying and antiatherosclerotic enzymes. *Nat. Struct. Mol. Biol.*2004; 11: 412–419.

Hartmann L, Sellers T, Frost M, Lingle W, Degnim A, Ghosh K, Vierkant, Shaun D.

Maloney, Pankratz S, David W. Hillman D, Vera J. Suman V, Johnson J, Blake C, Tlsty T, Vachon C, Melton J, Visscher D. Benign Breast Disease and the Risk of Breast Cancer. *N Engl J Med.* 2005;353:229-37.

Gu D, Wang M. VEGF 936C T polymorphism and breast cancer risk: evidence from 5,729 cases and 5,868 controls. *Breast Cancer Res Treat.* 2010.

Hawk MA, McCallister C, Schafer Z. Antioxidant activity during tumor progression: A necessity for the survival of cancer cells? *Cancers.* 2016; 8(92).

Hemminki D, Markie I, Tomlinson E, Avizienyte S, Roth A, Loukola G, Bignell W, Warren M, Aminoff P, Hoglund H, Jarvinen P, Kristo K, Pelin M, Ridanpaa R, Hendriks YM, Wagner A, Morreau H, Menko F, Stormorken A, Quehenberger F, Sandkuijl L, Moller P, Genuardi M, Van Houwelingen H, Tops C, Van Puijtenbroek M, Verkuijlen P, Kenter G, Van Mil A, Meijers-Heijboer H, Tan GB, Breuning MH, Fodde R, Wijnen JT, BrockerVriends AH, Vasen H. Cancer risk in hereditary nonpolyposis colorectal cancer due to MSH6 mutations: impact on counseling and surveillance. *Gastroenterology.* 2004;127:17–25.

Healy SJ, Osei K, Gaillard T. Comparative study of glucose homeostasis, lipids and lipoproteins, HDL functionality, and cardiometabolic parameters in modestly severely obese African Americans and white Americans with prediabetes: implications for the metabolic paradoxes. *Diabetes Care.* 2015;38:228–35.

Hobert JA, Eng C. PTEN hamartoma tumor syndrome: an overview. *Genitourin Med.* 2009;11(10):687–69479.

Huang SC, Torres-Cruz J, Pack SD, Koch CA, Vortmeyer AO, Mannan P. Amplification and overexpression of mutant RET in multiple endocrine neoplasia type 2-associated medullary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(1):459-63.

Howard BV, Ruotolo G, Robbins DC. Obesity and Dyslipidemia. *Endocrinol Metab. Clin North Am.* 2003. 32(4): 855-67

Humbert R, Adler DA, Disteché CM, Hassett C, Omiecinski CJ, Furlong CE. The molecular basis of the human serum paraoxonase activity polymorphism. *Nat Genet.*

1993; 3(1):73–76.

Hussein YM, Gharib AF, Etewa RL, ElSawy WH. Association of L55M and Q192R polymorphisms in paraoxonase 1 (PON1) gene with breast cancer risk and their clinical significance. *Mol Cell Biochem*. 2011;351:117–23.

INTERNACIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. List of Classifications by cancer sites with sufficient or limited evidence in humans, Volumes 1 to 103. Disponível em: <<http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/Table4.pdf>>. Acesso em: 16 jun. 2016.

IARC. AMERICAN INSTITUTE FOR CANCER RESEARCH. **GLOBOCAN 2012**: Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide. Disponível em: <http://globocan.iarc.fr/Pages/burden_sel.aspx> Acesso em: 14 jan 2016.

Innes KE, Byers TE. Smoking during pregnancy and breast cancer risk in very young women (United States). *Cancer Causes Control*. 2001; 12(2):179-85.

James, R; Wootton, J; Wiseman, M; Copson, R; Cutress, I. Obesity in breast cancer- What is the risk factor? *European Journal of Cancer*. Oxford. 2015; 51(6):705-720.

Jenne DE, Reimann H, Nezu J, Friedel W, Loff, Jeschke R, Muller O, Back W, Zimmer M. Peutz-Jeghers syndrome is caused by mutations in a novel serine thionie kinase. *Nat Genet*. 1998;18:38-43.

Jenkins S, Betancourt AM, Wang J, Lamartiniere CA. Endocrine-active chemicals in mammary cancer causation and prevention. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2012; 129(35):191-200.

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

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.

Kaur G, Jain AK, Singh S. Cyp/PON genetic variations as determinant of organophosphate pesticides toxicity. *J Genet.* 2017; 96(1):187-201.

Kennecke H, Yerushalmi R, Woods R, Cheang MCU, Voduc D, Speers CH. Metastatic Behavior of Breast Cancer Subtypes. *J Clin Oncol.* 2010; 28(20):3271-7.

Klaunig JE, Kamendulis LM. The role of oxidative stress in carcinogenesis. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2004;44:239–267.

Khersonsky O, Tawfik DS. Structure-reactivity studies of serum paraoxonase PON1 suggest that its true native activity is lactonase. *Biochemistry.* 2005; 44:6371–6382.

Kotepui M. Diet and risk of breast cancer. *Contemp Oncol (Pozn).* 2016; 20(1): 13–19.

Kroman N, Jensen M, Wohlfahrt J, Henning T Mouridsen HT, Andersen PK, Melbye M. Factors influencing the effect of age on prognosis in breast cancer: population based study. *BMJ.* 2000;320:474–9.

Kuno T, Hozumi M, Morinobu T, Murata T, Mingci Z, Tamai H. Antioxidant vitamin levels in plasma and low density lipoprotein of obese girls. *Free Radical Res.* 1998; 28:81–86.

La Du BN. Structural and functional diversity of paraoxonases. *Nat Med.* 1996;2(11):1186-7.

Lawrence et al. American Cancer Society Guidelines on Nutrition and Physical Activity for Cancer Prevention. *Cancer Journal for Clinicians.* New York. 2012; 62(1):30-67.

Le, N; Nestler, E; Strauss, F; Wickham, P. Sex hormone-binding globulin and type 2 diabetes mellitus. *Trends in Endocrinology and Metabolism.* New York. 2012; 23(1): 32-40.

Lee CH, Lee KY, Choe KH. Effects of oxidative DNA damage induced by polycyclic aromatic hydrocarbons and genetic polymorphism of the paraoxonase-1 (PON1) gene on lung cancer. *J Prev Med Public Health.* 2005; 38: 345-50.

- Lee JM. The epithelial-mesenchymal transition: new insights in signaling, development, and disease. *J Cell Biol.* 2006; v. 172, n.7,p. 973-81.
- Levieu I, James RW. Promoter polymorphisms of the human paraoxonase PON1 gene and serum paraoxonase activities and concentrations. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:516–21.
- Li HL, Liu DP, Liang CC. Paraoxonase gene polymorphisms, oxidative stress. And diseases. *J Mol Med.* 2003;81(12):766-70.
- Li W, Ray RM, Thomas DB, Yost M, Davis S, Breslow N. Occupational exposure to magnetic fields and breast cancer among women textile workers in Shanghai, China. *Am J Epidemiol.* 2013;178(7):1038-45.
- Liu C, Liu L. Polymorphisms in three obesity-related genes (LEP, LEPR, and PON1) and breast cancer risk: a meta-analysis. *Tumor Biol.* 2011); 32:1233–1240.
- 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.
- Liu Y, Colditz GA, Rosner B. Alcohol intake between menarche and first pregnancy: a prospective study of breast cancer risk. *J Natl Cancer Inst.* 2013.
- Livasy CA, Karaca G, Nanda R, Tretiakova MS, Olopade OI, Moore DT. Phenotypic evaluation of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Mod Pathol.* 2006;19(2):264–271.
- Lodish H, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell J. Análise genética em biologia molecular. In: Nader HB, editor. *Biologia celular e molecular.* Rio de Janeiro: Revinter. 2002;p:255-93.
- Lodha R, Joshi A, Paul D Association between reproductive factors and breast cancer in an urban set up at central India: A case-control study. *Indian J Cancer.* 2011; 48: 303-7.
- 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.

Lynch HT, Snyder C, Casey MJ. Hereditary ovarian and breast cancer: what have we learned? *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol ESMO.* 2013;24 Suppl 8:viii83–95.

Lu H, Zhu J, Zang Y, Ze Y, Qin J. Clonig, purification and refolding of human paraoxonase-3 expressed in *Escherichia coli* and its characterization. *Prot Exper Purif.* 2006;46:92-9.

Macharia M, Kengne AP, Blackhurst DM, Erasmus RT, Hoffmann M, Matsha TE. Indices of paraoxonase and oxidative status do not enhance the prediction of subclinical cardiovascular disease in mixed-ancestry South Africans. *Oxid Med Cell Longev.* 2014:1–10

Mackness B, Durrington PN, Mackness MI. Human serum paraoxonase. *Gen Pharmacol* 1998;31:329–36.

Mackness B, Durrington PN, Mackness M. Polymorphisms of paraoxonase genes and low-density lipoprotein peroxidation. *Lancet* 1999;353:468–9.

Mackness B, Durrington PN, Mackness MI. The paraoxonase gene family and coronary heart disease. *Curr Opin Lipidol.* 2002;13:357-62.

Mackness B, Durrington P, McElduff P, Yarnell J, Azam N, Watt M, Mackness M. Low paraoxonase activity predicts coronary events in the Caerphilly Prospective study. *Circulation.* 2003;107(22):2775-9.

Mackness M, Mackness B. Human paraoxonase-1 (PON1): Gene structure and expression, promiscuous activities and multiple physiological roles. *Gene.* 2015; 1:12–21.

Mackness M, Harty D, Bhatnagar D, Winocour PH, Arrol S, Ishola M, Durrington PN. Serum paraoxonase activity in familial hypercholesterolaemia and insulin-dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis.* 1991; 86:193–199.

Marsillach J, Mackness B, Mackness M, Riu F, Beltran R, Joven J, Camps J. Immunohistochemical analysis of paraoxonases 1, 2 and 3 expression in normal mouse tissues. *Free Radic. Biol. Med.* 2008;45:146–157.

Ministério da Saúde, Instituto Nacional de Câncer. Controle do câncer de mama: documento de consenso. INCA, Rio de Janeiro. 2004.

Meijers-Heijboer H, Van den Ouweland A, Klijn J, Wasielewski M, de Snoo A, Oldenburg R, Hollestelle A, Houben M, Crepin E, Van Veghel M, Elstrodt F, Van Duijn C, Bartels C, Meijers C, Schutte M, McGuffog L, Thompson D, Easton F, Sodha N, Seal S, Barfoot R, Mangion J, Chang J, Eccles D, Eeles R, Evans G, Houlston R, Murday V, Narod S, Peretz T, Peto J, Phelan C, Zhang X, Szabo C, Devilee P, Goldgar D, Futreal A, Nathanson L, Weber L, Rahman N, Stratton R. Low-penetrance susceptibility to breast cancer due to CHEK2*1100delC in noncarriers of BRCA1 or BRCA2 mutations. *Nat. Genet.* 2002;31: 55–59, 2002

Meiste K e Morgan J. Risk factors for breast cancer. New Iork

Mohamed Ali S, Chia SE. Interethnic variability of plasma paraoxonase (PON1) activity towards organophosphates and PON1 polimorphisms among Asian populations: a short reiew. *Ind Health.* 2008; 46(4): 309-17.

Mertens A, Verhamme P, Bielicki JK, Phillips MC, [Quarck R](#), [Verreth W](#), [Stengel D](#), [Ninio E](#), [Navab M](#), [Mackness B](#), [Mackness M](#), [Holvoet P](#). Increased low-density lipoprotein oxidation and impaired high-density lipoprotein antioxidant defense are associated with increased macrophage homing and atherosclerosis in dyslipidemic obese mice: LCAT gene transfer decreases atherosclerosis. *Circulation.* 2003;107(12):1640-6.

Myara I, Alamowitch C, Michel O, Heudes D, Bariety J, Guy-Grand B, Chevalier J. Lipoprotein oxidation and plasma vitamin E in nondiabetic normotensive obese patients. *Obes Res.* 2003; 11:112–120.

Moura-Gallo CV, Mendonça GAS, Moraes E, Olivier M, Hainaut P. TP53 mutations as biomarkers for câncer epidemiology in Latin America: Current Knowledge and perspectives. *Mutation Research.* 2005;v.589, p.192207.

Msolly A, Gharbi O, Slim BA. Impact of menstrual and reproductive factors on breast cancer risk in Tunisia: a case-control study. *Med Oncol*. 2013; 30:480

Naidu R, Har YC, Taib NA. Genetic polymorphisms of paraoxonase 1 (PON1) gene: association between L55M or Q192R with breast cancer risk and clinico-pathological parameters. *Pathol Oncol Res*. 2010.

Nieves DJ, Cnop M, Retzlaff B, Walden CE, Brunzell JD, Knopp RH, Kahn SE. The atherogenic lipoprotein profile associated with obesity and insulin resistance is largely attributable to intra-abdominal fat. *Diabetes*. 2003; 52:172-179.

Ng C, Shih D, Hama S, Villa N, Navab M, Reddy S. The paraoxonase gene family and atherosclerosis. *Free Radic Biol Med*. 2005;38:153-63.

Nixon AJ, Neuberg D, Hayes DF. Relationship of patient age to pathologic features of the tumor and prognosis for patients with stage I or II breast cancer. *J Clin Oncol*. 1994;12:888-94.

Nyante SJ, Gierach GL, Dallal CM, Freedman ND, Park Y, Danforth KN, Hollenbeck AR, Brinton LA. Cigarette smoking and postmenopausal breast cancer risk in a prospective cohort. *Br J Cancer*. 2014; 29;110(9):2339-47.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). State of the science of endocrine disrupting chemicals 2012. Genebra, Suíça. 2013.

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.

Palmer JR, Adamns-Campbell LL, Boggs DA, Wise LA, Rosenberg L. A prospective study of body size and breast cancer in black women. *Cancer Epidemiol Biomarkers*. 2007;16:1795-802.

Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin*.

2005;55:74–108.

Park SY, Kolonel LN, Lim U, White KK, Henderson BE, Wilkens LR. Alcohol consumption and breast cancer risk among women from five ethnic groups with light to moderate intakes: The Multiethnic Cohort Study. *Int. J Cancer*. 2013.

Park, J; Morley, S; Kim, M; Clegg, J; Scherer, E. Obesity and cancer--mechanisms underlying tumour progression and recurrence. *Nature reviews: Endocrinology*. London. 2014; 10(8): 455-465.

Pergola, G; Silvestris, F. Obesity as a Major Risk Factor for Cancer. *Journal of Obesity*. London. 2013; 1-11.

Primo-Parma SL, Sorenson R.C, Teiber J, La Du BN. The human serum paraoxonase/arylesterase gene (PON1) is one member of a multigene family. *Genomics* 1996;33:498–509.

Sripan P, Sriplung H, Pongnikorn D, Virani S, Bilheem S, Chaisaengkhaum U, Maneesai P, Waisri N, Hanpragopsuk C, Tansiri P, Khamsan V, Pounsombat M, Mawoot A, Chitapanarux I. Trends in Female Breast Cancer by Age Group in the Chiang Mai Population. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2017; 18 (5): 1411-1416.

Peizeng HU, Yongchen MA, Lingling ZHANG, Sheng MA. PON1 L55M polymorphism might contribute to the risk of câncer. *Panminerva Med*. 2017; 59(1):107-113.

Percy C, Van H, Muir C. *International Classification of Diseases for Oncology (ICD-0) (Second Edition)*, Geneva, World Health Organization. 1990.

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.

Petrovic M, Eljarrat E, Lopez MJ, Barceló D. *Trends Anal. Chem*. 2001; 20: 637.

Pollán M, Pastor-Barriuso R, Ardanaz E, Argüelles M, Martos C, Galcerán J. Recent

changes in breast cancer incidence in Spain, 1980-2004. *J Natl Cancer Inst.* 2009; 101:1584-91.

Prat A, Parker J, Karginova O, Fan C, Livasy C, Herschkowitz J. Phenotypic and molecular characterization of the claudin-low intrinsic subtype of breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2010;12(5):R68.

President's Cancer Panel. 2008–2009 Annual report: reducing environmental cancer risk: what we can do now. Washington, DC: Department of Health and Human Services, 2010.

Punales MK, Graf H, Gross JL, Maia AL. RET codon 634 mutations in multiple endocrine neoplasia type 2: variable clinical features and clinical outcome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(6):2644-9.

Ray G, Batra S, Shukla NK, Deo S, Raina V, Ashor S, Husain AS. Lipid peroxidation, free radical, and antioxidant status in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2005;59:163–170 7.

Renwick D, Thompson S, Seal P, Kelly T, Chagtai M, Ahmed B, North H, Jayatilake R, Barfoot K, Spanova L, McGuffog DG, Evans D, Eccles DF, Easton MR, Stratton N, Rahman ATM. Mutations that cause ataxia-telangiectasia are breast cancer susceptibility alleles. *Nat. Genet.* 2006;38, 873–875.

Richter RJ, Jarvik GP, FFurlong CE. Paraoxonase 1 (PON1) status and substrate hydrolysis. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2009;2533(1):1-9.

Ripperger T, Gadzicki D, Meindl A, Schlegelberger B. Breast cancer susceptibility: current knowledge and implications for genetic counselling. *Eur. J. Hum. Genet.* 2008.

Ritte R, Tikk K, Lukanova A, Tjønneland A, Olsen A, Overvad K, Dossus L, Fournier A, Clavel-Chapelon F, Grote V, Boeing H, Aleksandrova K, Trichopoulou A, *et al.* Reproductive factors and risk of hormone receptor positive and negative breast cancer: a cohort study. *BMC Cancer.* 2013; 13:584.

Rohan, E; Heo, M; Choi, L; Datta, M; Freudenheim, J; Kamensky, V; Ochs-Balcom; Qi, L; Thomson, A; Vitolins, Z; Wassertheil-Smoller, S; Kabat, C. Body Fat and Breast Cancer Risk in Postmenopausal Women: A longitudinal Study. *Journal of Cancer Epidemiology*. Amsterdam. 2013; 1-13.

Rocheffordiere A, Asselain B, Campana F, Scholl SM, Fenton J, Vilcoq JR, Durand JC, Pouillart P, Magdolenat H and Forquet A. Age as prognostic factor in premenopausal breast carcinoma. *Lancet*. 1993; 341: 1039-1043.

Rosenberg L, Boggs DA, Bethea TN, Wise LA, Adams-Campbell LL, Palmer JR. A prospective study of smoking and breast cancer risk among african-american women. *Cancer Causes Control*. 2013.

Saadat M. Paraoxonase 1 genetic polymorphisms and susceptibility to breast cancer: A meta-analysis. *Cancer Epidemiology*. 2012; 36:e101–e103.

Salovaara T, Toro W, Bodmer S, Olschwang A.S, Olsen MR, Stratton A, Chapelle LA, Altonen A, serine/threonine kinase gene defective in Peutz-Jeghers syndrome. *Nature*.1998;391:184–187.

Salazar MF, Damianys AL, Sara GJ, Miguel AS, Alina JU, Camilo R, Antonio MN. Relationship between the paraoxonase (PON1) L55M and Q192R polymorphisms and obesity in a Mexican population: a pilot study. *Genes Nutr*. 2011; 6:361–368

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.

Santos SS, Melo LR, Koifman RJ, Koifman S. Breast cancer incidence and mortality in women under 50 years of age in Brazil. *Cad. Saúde Pública* 2013; 29(11):2230-2240.^a

Santos SS. Câncer de mama em mulheres jovens: incidência, mortalidade e associação com os polimorfismos dos genes NQO1, CYP17 e CYP19. [Tese de Doutorado]. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública-Fundação Oswaldo Cruz. 2013.^b

Savitsky K, Bar-Shira A, Gilad S, Rotman G, Ziv Y, Vanagaite L, Tagle DA, Smith S, Uziel T, Sfez S, Ashkenazi M, Pecker I, Frydman M, Harnik R, Patanjali SR, Simmons A, Clines GA, Sartiel A, Gatti RA, Chessa L, Sanal O, Lavin MF, Jaspers NG, Taylor AM, Arlett CF, Miki T, Weissman SM, Lovett M, Sepahvand FS, Rahimi-Moghaddam P, Shafiei M, Ghaffari SM, Rostam-Shirazi M, Mahmoudian M. Frequency of paraoxonase 192/55 polymorphism in Iranian population. *J toxicol Env Heal A*. 2007;70:1129-2007.

Shanley S, Fung C, Milliken J, Leary J, Barnetson R, Schnitzler M, Kirk J. Breast cancer immunohistochemistry can be useful in triage of some HNPCC families. *Fam. Cancer*. 2009.

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 Pacific J Cancer Prev*. 2013;14 (1):183-188.

Shih DM, Gu L, Xia YR, Navab M, Li WF, Hama S, Castellani LW, Furlong CE, Costa LG, Fogelman AM, Lusis AJ. Mice lacking serum paraoxonase are susceptible to organophosphate toxicity and atherosclerosis. *Nature*. 1998;394(6690):284-287.

Singletary KW, Gapstur SM. Alcohol and breast cancer: review of epidemiologic and experimental evidence and potential mechanisms. *JAMA*. 2001; 286(17):2143-2151

Shrivastava SR, Shrivastava PS, Ramasamy J. Exploring the role of dietary factors in the development of breast cancer. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*. 2017; 12(2).

Stevens VL, Rodriguez C, Pavluck AL. Association of polymorphisms in the paraoxonase 1 gene with breast cancer incidence in the CPS-II Nutrition Cohort. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2006;15:1226-1228.

Song, M; Sung, J; HA, M. Obesity and risk of cancer in postmenopausal Korean women. *Journal of Clinical Oncology*. New York. 2008; 26(20):3395-3402.

Sorenson RC, Bisgaier CL, Aviram M, Hsu C, Billecke S, La Du BN. Human serum

paraoxonase/arylesterase's retained hydrophobic N-terminal leader sequence associates with HDLs by binding phospholipids: apolipoprotein A-I stabilizes activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999. 19:2214 –2225.

Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2001;98:10869-74.

Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, Hastie T, Marron JS, Nobel A. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003;100(14):8418-23.

Sorlie T. Molecular portraits of breast cancer: tumour subtypes as distinct disease entities. *Eur J Cancer.* 2004;40(18):2667-75.

Sotiriou C, Neo SY, McShane LM, Korn EL, Long PM, Jazaeri A. Breast cancer classification and prognosis based on gene expression profiles from a population-based study. *Proc Natl Acad Sci. USA.* 2003;100(18):10393-8.

Soto AM and Sonnenschein C. DDT, endocrine disruption and breast cancer. *Nat Rev Endocrinol.* USA. 2015; 11(9): 507–508.

Sparks DL, Davidson WS, Lund-Katz S, Phillips MC. Effects of the neutral lipid content of high density lipoprotein on apolipoprotein A-I structure and particle stability. *J Biol Chem.* 1995; 270:26910–26917.

Szpirer C, Szpirer 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. Increased trend of breast cancer mortality in Iran. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2012; 13:367-70.

Tchernof A, Lamarche B, Prud'Homme D, Nadeau A, Moorjani S, Labrie F, Lupien PJ, Despres JP. The dense LDL phenotype. Association with plasma lipoprotein levels,

visceral obesity, and hyperinsulinemia in men. *Diabetes Care*. 1996; 19:629–637.

The Cancer Genome Atlas Network Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2012;490:61-70.

Tice JA, O’Meara ES, Weaver DL. Bening breast disease, mammographic breast density, and the risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2013;105(14):10439.

Travis LB, Hill DA, Dores GM, Gospodarowicz M, van Leeuwen FE, Holowaty E. Breast Cancer Following Radiotherapy and Chemotherapy Among Young Women with Hodgkin Disease. *American Medical Association*. 2003;290(4):465-76.

Thompson D, Duedal S, Kirner J, McGuffog L, Last J, Reiman A, Byrd P, Taylor M, Easton DF. Cancer risks and mortality in heterozygous ATM mutation carriers. *J. Natl. Cancer Inst*. 2005;97:813–822.

Urban M, Banks E, Egger S, Canfell K, O’Connell D. 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.

U.S. EPA. “Reponse to Comments on the Draft List of Initial Pesticide Active Ingredients and Pesticide Inert Ingredients to be Screened under the Federal Food, Drug, and Cosmetic Act.” August 2008. Available at: <http://www.epa.gov/scipoly/oscpendo/pubs/prioritysetting/>. (Docket ID No.EPA–HQ– OPPT–2004–0109).

Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact*. 2006:160;1–40

Voduc KD, Cheang MCU, Tyldesley S, Gelmon K, Nielsen TO, Kennecke H. Breast cancer subtypes and the risk of local and regional relapse. *J Clin Oncol*. 2010;28(10):1684-91.

Xia H, Ma S, Wang S, Sun G. Meta-analysis of saturated fatty acid intake and breast cancer risk. *Medicine (Baltimore)*. 2015;94(52):2391.

Wang X, Jiang X. Post-translational regulation of PTEN. *Oncogene*. 2008;27:5454–5463.

WCRF. WORLD CANCER RESEARCH FUND. AICR. AMERICAN INSTITUTE FOR CANCER RESEARCH. **Breast Cancer 2010-** Report: Food, Nutrition, Physical Activity, and Prevention of Breast cancer. Washington DC: American Institute for Cancer Research, 2010. 33 p.

Wen Y, Huang Z, Zhang X, Gao B, He Y. Correlation between PON1 gene polymorphisms and breast cancer risk a Meta- analysis. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8(11):20343-20348.

Weigel MT, Dowsett M. Current and emerging biomarkers in breast cancer: prognosis and prediction. *Endocr Relat Cancer*. 2010;17(4):245-62.

Wiench M, Wygoda Z, Gubala E, Wloch J, Oczko M, Jarzab B. The genetic background of medullary thyroid carcinoma in young patients. *Folia Histochem Cytobiol*. 2001;39(suppl 2):163-4.

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

Wolf MS, Anderson HA. Environmental contaminants and body fat distribution. *Cancer Epidemiol Biomarkers*. 1999;8:179-83.

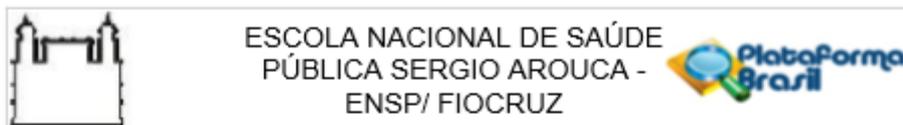
World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research. Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. Washington DC: American Institute for Cancer Research; 2007.

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

Yager JD. Chapter 3: endogenous estrogens as carcinogens through metabolic activation. *J Natl Cancer.* 2000; 27: 67 – 73

Zhang M, Xiong H, Fang L, Lu W, Wu X , Z Huang Z ,Wang Y, Cai Z, Wu S. Paraoxonase 1 (PON1) Q192R Gene Polymorphism and Cancer Risk: A Meta-Analysis Based on 30 Publications. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2016; 16 (10), 4457-4463.

ANEXO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Polimorfismos Leu55Met e Gln192Arg do gene PON1 e câncer de mama em mulheres jovens

Pesquisador: Nara de Almeida Souza

Área Temática: Genética Humana:

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

Versão: 2

CAAE: 58888216.3.0000.5240

Instituição Proponente: Fundação Oswaldo Cruz

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.880.197

Apresentação do Projeto:

Este parecer refere-se a análise de resposta às pendências, emitidas pelo CEP/ENSP no parecer número 1.722.994, em 13/09/2016.

Projeto de mestrado no Programa de Pós-graduação em Saúde Pública e Meio Ambiente da aluna Nara de Almeida Souza, orientada por Carmen Freire Warden e coorientada por Sabrina da Silva Santos, qualificado em 28/06/2016 e a ser realizado com financiamento próprio.

Resumo:

Introdução: O câncer de mama é a neoplasia mundialmente mais incidente entre as mulheres e a principal causa de morte por câncer nessa população. Apesar de esta neoplasia ser mais comum em mulheres a partir dos 50 anos de idade, tem sido relatado um aumento no número de casos de câncer de mama em mulheres jovens em vários países, inclusive no Brasil. 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, as inúmeras variantes dos genes de baixa penetrância, atuando em conjunto com fatores de risco ambientais, são, provavelmente,

Endereço: Rua Leopoldo Bulhões, 1480 - Térreo
Bairro: Manguinhos **CEP:** 21.041-210
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2598-2863 **Fax:** (21)2598-2863 **E-mail:** cep@ensp.fiocruz.br